

# UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS



# ELISAMA DA SILVA ALMEIDA

Pradosia Liais (Sapotaceae) do Nordeste: Uma abordagem micromorfológica

# ELISAMA DA SILVA ALMEIDA

# Pradosia Liais (Sapotaceae) do Nordeste: Uma abordagem micromorfológica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Profa Dra. Cláudia Elena Carneiro

# Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

#### A446

Almeida, Elisama da Silva

Pradosia Liais (Sapotaceae) do Nordeste : uma abordagem micromorfológica / Elisama da Silva Almeida. — 2019. 77 f.: il.

Orientadora: Cláudia Elena Carneiro.

Dissertação (mestrado) — Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Feira de Santana, 2019.

1. *Pradosia* Liais (Sapotaceae). 2. Chrysophylloideae. 3. Micromorfologia vegetal. 4. Anatomia foliar. 5. Metabólitos. 6. Xeromorfia. 7. Adaptação — Região Nordeste, Brasil. I. Carneiro, Cláudia Elena, orient. II. Universidade Estadual de Feira de Santana. III. Título.

CDU: 582.687.41:581.4(812/813)

# **BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Kelly Regina Batista Leite (Universidade Federal da Bahia - UFBA)

Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos (Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)

Profa. Dra. Claudia Elena Carneiro (Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS) Orientadora e Presidente da Banca



#### **AGRADECIMENTOS**

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

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por Seu imenso e contínuo amor e cuidado para comigo.

À minha família, em especial aos meus pais, que são minha fundação, pelo apoio incondicional às minhas escolhas, pela força e incentivo a sempre seguir em frente. Não tenho palavras para agradecer!

À Pró Cláudia por ser (como sempre) mais que uma orientadora, mas uma amiga, conselheira e sempre paciente. Não consigo contar quantas vezes ouvi: "Vai dar tudo certo, vai dar tempo!", e deu. Obrigada, pró, por ser a melhor orientadora!

A Vinícius pelo companheirismo, por me dar suporte, pela compreensão e consolo nos momentos difíceis e por me ensinar a jogar videogame. Obrigada amore, "é nóiz que pah!"!

Aos amigos e colegas do LAMIV, em especial a Rísia, companheira de guerra desde a graduação, e Monick, mascote do laboratório, saibam que cultivo com carinho todos os momentos que passamos juntas dentro e fora do laboratório, vocês são muito especiais!

Aos herbários ALCB, ASE, CEPEC, HUEFS, PEUFR e UFP, por disponibilizar o material utilizado nesta pesquisa.

À Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), na pessoa do Márcio, sempre tão solícito e gentil.

À Universidade Estadual de Feira de Santana por proporcionar o suporte necessário.

Enfim, a todos que contribuíram, de forma direta ou indireta, para a realização deste trabalho, minha gratidão e carinho. Deus abençoe a todos!

"Ebenézer. Até aqui nos ajudou o Senhor" I Samuel 7:12

# **RESUMO**

O Nordeste brasileiro compreende uma enorme variação vegetacional composta por diversos grupos, dentre os quais está a família Sapotaceae, que detém uma importância econômica e ecológica bem estabelecida. Dentre os gêneros da família registrados para o Nordeste, o presente estudo objetivou analisar, através de técnicas de micromorfologia vegetal e histoquímica, as folhas das espécies de Pradosia Liais citadas para a região, visando contribuir com informações para a sua estrutura interna, indicar os metabólitos presentes nas folhas bem como ampliar os dados sobre o gênero e a família. A superfície foliar foi analisada através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Para a análise da estrutura interna e metabólitos foram realizadas seções transversais do pecíolo e da lâmina foliar à mão livre e com micrótomo de congelamento seguindo a literatura usual da micromorfologia vegetal. A análise da superfície foliar, realizada para o primeiro capítulo, oferece dados para distinção das espécies e denota algumas adaptações a ambientes extremos como ornamentação cuticular, posição dos estômatos nas folhas e presença de inclusões nas células epidérmicas. O segundo capítulo aponta que o contorno do pecíolo e o arranjo do feixe vascular e da nervura central da lâmina foliar constituem os principais caracteres diagnósticos para delimitação das espécies estudadas e apontam para estratos subepidérmicos e colunas no mesofilo como principais caracteres adaptativos. A análise histoquímica indica a necessidade de estudos mais acurados incluindo, também, outros órgãos. Ressalta-se que o presente trabalho forneceu dados inéditos que servirão de subsídio para estudos posteriores.

Palavras-chave: Adaptação. Anatomia foliar. Chrysophylloideae. Metabólitos. Xeromorfia.

#### **ABSTRACT**

The Brazilian Northeast comprises a huge vegetation variation composed of several groups, among which is the family Sapotaceae, that has a well established economic and ecological importance. The present study aimed to analyze, through techniques of plant micromorphology and histochemistry, the leaves of the species of *Pradosia* Liais cited for the region, aiming to contribute with information to its internal structure, to indicate the present metabolites as well as expanding data on gender and family. The leaf surface was analyzed by light microscopy and scanning electron microscopy. For the analysis of the internal structure and metabolites, cross sections of the petiole and leaf blade were performed freehand and with freezing microtome following the usual literature of the plant micromorphology. The analysis of the leaf surface, performed for the first chapter, offers data to distinguish the species and denotes some adaptations to extreme environments such as cuticular ornamentation, the position of the stomata on the leaves and presence of inclusions in the epidermal cells. The second chapter indicates that the contour of the petiole and the arrangement of the vascular cylinder and the midrib are the main diagnostic characters for the delimitation of the studied species and point to subepidermal layers and girders in the mesophyll as main adaptive characters. Histochemical analysis points to the need for more accurate studies including, also, other organs. It should be emphasized that the present work provided unpublished data that will serve as a subsidy for later studies.

**Keywords**: Adaptation. Leaf anatomy. Chrysophylloideae. Metabolites. Xeromorphism.

#### LISTA DE FIGURAS

# **CAPÍTULO 1**

- Figura 1. Epiderme foliar de *Pradosia* Liais em microscopia de luz: a. Tricoma malpighiáceo em vista frontal. b. Face abaxial de *Pradosia brevipes*. c-d. *Pradosia glaziovii* em vista frontal. c. Face abaxial evidenciando a alta densidade de tricomas. d. Face abaxial. e-f. *Pradosia longipedicellata* em vista frontal. e. Detalhes: estômatos paracíticos, cicatrizes de tricomas e contorno celular. f. Detalhes: cristais prismáticos na nervura central. g. Face abaxial de *Pradosia restingae*. h-i. *Pradosia kuhlmannii* em vista frontal. h. Face abaxial. i. Detalhes: estômatos e contorno celular. j. Face abaxial de *Pradosia lactescens*. Legenda: cr = cristal; ct = cicatriz de tricom; es = estômatos; t = tricoma. Barras = 50 μm; Figs. c, h = 200 μm
- Figura 2. Epiderme foliar de *Pradosia* Liais em microscopia de luz: **a-b.** *Pradosia brevipes* em vista frontal. **a.** Detalhes: cicatriz de tricoma e contorno celular. **b.** Detalhes: estômatos anisocíticos e contorno celular. **c.** Face adaxial de *Pradosia glaziovii* evidenciando o contorno celular. **d.** Face adaxial de *Pradosia longipedicellata*. **e.** Face adaxial de *Pradosia restingae*. **f.** Face adaxial de *Pradosia kuhlmannii*. **g-h.** *Pradosia lactescens* em vista frontal. **g.** Face adaxial. **h.** Detalhes: cicatrizes de tricomas na região da nervura central. **Legenda: ct** = cicatriz de tricom; **es** = estômatos. **Barras:** = 50 μm. 37
- Figura 3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície foliar de *Pradosia* Liais.
  a. Face abaxial de *Pradosia brevipes*.
  b. Face abaxial de *Pradosia glaziovii*.
  c. Face abaxial de *Pradosia kuhlmannii*.
  d. Face abaxial de *Pradosia lactescens*.
  e. Face abaxial de *Pradosia longipedicellata*.
  f. Face abaxial de *Pradosia restingae*.
  g. Face adaxial de *Pradosia restingae*.
  g. Face adaxial de *Pradosia kuhlmannii*.
  i. Face adaxial de *Pradosia lactescens*.
  j. Detalhe: estrias epicuticulares observadas em *P. kuhlmanii* e *P. lactescens*.
  Legenda: es = estômato; et = estrias; h = hifas de fungos; t = tricoma.

# **CAPÍTULO 2**

**Figura 1**. Seção transversal do pecíolo das espécies de *Pradosia* Liais analisadas, destacando as principais modificações na morfologia e na organização do feixe vascular. **a-b.** Detalhe: cristais prismáticos, laticíferos e medula vascular presentes em todas as espécies

analisadas. **c-d.** *Pradosia brevipes* **c.** Região proximal. **d.** Região mediana-distal. **e-f.** *Pradosia glaziovii*. **e.** Região proximal-mediana. **f.** Região distal. **g-h.** *Pradosia kuhlmannii*. **g.** Região proximal. **h.** Região mediana-distal. **i-k.** *Pradosia lactescens*. **i.** Região proximal. **j.** Região mediana. **k.** Região distal. **l-m.** *Pradosia longipedicellata*. **l.** Região proximal. **m.** Região mediana-distal. **n-o.** *Pradosia restingae*. **n.** Região proximal-mediana. **o.** Região distal. **Legenda: co** = colênquima; **e** = esclerênquima; **fa** = feixes acessórios; **fl** = floema; **fm** = feixes medulares; **l** = laticíferos; **m** = medula; **t** = tricoma; **x** = xilema. **Barras** = 500 μm; **Figs. a, b** = 200 μm.

- Figura 2. Seção transversal da nervura central das folhas das espécies de *Pradosia* Liais estudadas. a. *Pradosia glaziovii*. b. *Pradosia restingae*. c. *Pradosia brevipes*. d. *Pradosia longipedicellata*. e. *Pradosia kuhlmannii*. f. *Pradosia lactescens*. Legenda: co = colênquima; e = esclerênquima; fa = feixes acessórios; fl = floema; fm = feixe medular; m = medula; pa = parênquima aquífero; t = tricoma; x = xilema. Barras = 200 μm.
- Figura 3. Seção transversal do mesofilo foliar das espécies de *Pradosia* Liais estudadas. a. *Pradosia longipedicellata*. b. *Pradosia brevipes*. c. *Pradosia glaziovii*. d. Detalhe: idioblasto contendo cristal prismático no parênquima paliçádico de *P. glaziovii*. e. *Pradosia kuhlmannii*. f. *Pradosia lactescens*. g. Detalhe: idioblastos contendo cristais prismáticos no parênquima paliçádico de *P. lactescens* e parênquima aquífero. h. *Pradosia restingae*. Legenda: c = cuticula; ce = coluna de esclerênquima; cs = estrato subepidérmico; ep = epiderme; fv = feixe vascular; pa = parênquima aquífero; pe = parênquima esponjoso; pp = parênquima paliçádico. Barras = 200 μm; Figs. d, g = 50 μm
- Figura 4. Seção transversal do bordo foliar das espécies de *Pradosia* Liais estudadas. a. *Pradosia kuhlmannii*. b. *Pradosia lactescens*. c. *Pradosia glaziovii*. d. *Pradosia longipedicellata*. e. *Pradosia brevipes*. f. *Pradosia restingae*. Legenda: ce = coluna de esclerênquima; co = colênquima; e = esclerênquima; pa = parênquima aquífero; pe = parênquima esponjoso; pp = parênquima paliçádico. Barras = 200 μm
- Figura 5. Testes histoquímicos em seções transversais da região mediana foliar e do pecíolo de *Pradosia* Liais. a-d. Reação com Azul de Alcian evidenciando os polissacarídeos ácidos no floema (em azul escuro). a-b. *Pradosia glaziovii*. c-d. *Pradosia lactescens*. e-f. Reação com Lugol evidenciando os grãos de amido (em azul escuro). e. *Pradosia glaziovii*. f. *Pradosia lactescens*. g. Reação em *Pradosia lactescens* com Cloreto de Zinco iodado evidenciando os grãos de amido (em preto), lignina (em amarelo) e celulose (em cinza). h-k. Reação com Floroglucinol e Ácido clorídrico evidenciando lignina no xilema

(em vermelho). **h-i.** *Pradosia glaziovii.* **j-k.** *Pradosia lactescens.* Seção transversal da região mediana da folha. **l.** Reação em *Pradosia glaziovii* com Ácido tânico e Cloreto de ferro III evidenciando as mucilagens no tecido vascular (em preto).

Figura 6. Testes histoquímicos em seções transversais da região mediana foliar e do pecíolo de *Pradosia* Liais. a. Reação em *Pradosia glaziovii* com Ácido tânico e Cloreto de ferro III evidenciando as mucilagens no tecido vascular (em preto). b-d. Reação com Cloreto de ferro III e Carbonato de sódio evidenciando os taninos no tecido vascular (em preto ou verde escuro). b-c. *Pradosia glaziovii*. d. *Pradosia lactescens*. e. Reação em *Pradosia lactescens* com Dicromato de potássio também evidenciando os taninos no tecido vascular e no mesofilo (em castanho escuro). f-g. Reação em *Pradosia glaziovii* com Sudan IV evidenciando os compostos lipofílicos na cutícula e nos laticíferos (em vermelho). h-i. Reação em *Pradosia lactescens* com Sudan III evidenciando os compostos lipofílicos na cutícula e nos laticíferos (em amarelo).

Figura 7. Testes histoquímicos em seções transversais da região mediana foliar e do pecíolo de *Pradosia* Liais. a. Reação em *Pradosia lactescens* com Sudan III evidenciando os compostos lipofílicos na cutícula e nos laticíferos (em amarelo). b-e. Reação com Vermelho de Rutênio evidenciando as substâncias pécticas na lamela média inclusive no tecido esclerenquimático (em rosa). b-c. *Pradosia glaziovii*. d-e. *Pradosia lactescens*. f-i. Reação com Azul de Comassie evidenciando as proteínas estruturais. f-g. *Pradosia glaziovii*. h-i. *Pradosia lactescens*.

#### LISTA DE TABELAS

# **CAPÍTULO 1**

- **Tabela 1.** Lista dos espécimes de *Pradosia* Liais analisados no presente estudo.
- **Tabela 2.** Medidas das áreas das células ordinárias e complexo estomático (ACE) em micrômetros quadrados, número de células da base dos tricomas (CBT) e grau de sinuosidade das paredes anticlinais das células ordinárias, com seus respectivos desvios padrão (SD).
- **Tabela 3.** Densidade de células ordinárias, estômatos e tricomas por milímetro quadrado e índice estomático (SI), com seus respectivos desvios padrão (SD). (-) ausência do caráter.

# **CAPÍTULO 2**

Tabela 1. Lista dos espécimes de Pradosia Liais (Sapotaceae) analisados no presente estudo.

57

35

- **Tabela 2.** Medidas da espessura da cutícula, mesofilo e dimensões do parênquima paliçádico das espécies de *Pradosia* Liais estudadas com seus respectivos desvios padrão. 58
- **Tabela 3.** Análise histoquímica de *Pradosia glaziovii* (Pierre) T.D.Penn. **Legenda:** Co = colênquima; **BA** = bainha amilífera; **Xi** = xilema; **Fl** = floema; **Es** = esclerênquima; **Me** = medula; **La** = latíferos; **Cu** = cutícula; **Cr** = cristais; **PP** = parênquima paliçádico; **PE** = parênquima esponjoso; **PA** = parênquima aquífero; **Ep** = epiderme; **Tr** = tricomas. (-) = ausência de metabólito; (+) = presença de metabólito.
- **Tabela 4.** Análise histoquímica de *Pradosia lactescens* (Vell.) Radlk. **Legenda:** Co = colênquima; **BA** = bainha amilífera; **Xi** = xilema; **Fl** = floema; **Es** = esclerênquima; **Me** = medula; **La** = latíferos; **Cu** = cutícula; **Cr** = cristais; **PP** = parênquima paliçádico; **PE** = parênquima esponjoso; **PA** = parênquima aquífero; **Ep** = epiderme; **Tr** = tricomas. (-) = ausência de metabólito; (+) = presença de metabólito.

# LISTA DE ABREVIATURAS

- ALCB Herbário Alexandre Leal Costa da Universidade Federal da Bahia
- ASE Herbário da Universidade Federal de Sergipe
- c Cutícula
- CAPES Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CEPEC Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau da Comissão Executiva de Plano da Lavoura Cacaueira
- ce Coluna de esclerênquima
- co Colênquima
- cr Cristal
- cs Estrato subepidérmico
- ct Cicatriz de tricoma
- e Esclerênquima
- ep Epiderme
- es Estômato
- et Estrias
- **fa** Feixes acessórios
- Fiocruz Fundação Oswaldo Cruz
- fl Floema
- fm Feixe medular
- **fv** Feixe vascular
- HUEFS Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana
- l Laticíferos
- LAMIV Laboratório de Micromorfologia Vegetal
- m Medula
- pa Parênquima aquífero
- **pe** Parênquima esponjoso
- PEUFR Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho da Universidade Federal Rural de Pernambuco
- pp Parênquima paliçádico
- t Tricoma
- UEFS Universidade Estadual de Feira de Santana
- UFP Herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco
- x Xilema

# SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO 1: CARACTERIZAÇÃO DA EPIDERME FOLIAR DE <i>PRADOSIA</i> LI (SAPOTACEAE) OCORRENTE NO NORDESTE BRASILEIRO	AIS 23
1 INTRODUÇÃO	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Coleta e armazenamento	28
2.2 Processamento e montagem	28
2.3 Análise qualitativa	29
2.4 Análise quantitativa e estatística	29
3 RESULTADOS	30
4 DISCUSSÃO	39
5 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 2: ESTUDO MICROMORFOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DAS FOLHAS DE <i>PRADOSIA</i> LIAIS (SAPOTACEAE) OCORRENTE NO NORDESTE BRASILEIRO	46
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 Coleta e armazenamento	50
2.2 Processamento	50
2.3 Montagem e análise qualitativa	51
2.4 Análise quantitativa e estatística	51

3 RESULTADOS	52
3.1 Pecíolo	52
3.2 Lâmina foliar	52
3.3 Histoquímica	56
4 DISCUSSÃO	68
5 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
CONSIDERAÇÕES FINAIS	77

# INTRODUÇÃO GERAL

A família Sapotaceae pertence à ordem Ericales e compreende aproximadamente 1.250 espécies, distribuídas em 53 gêneros (GOVAERTS et al., 2001) e três subfamílias, Sarcospematoideae; Sapotoideae e Chrysophylloideae com distribuição pantropical (TERRA-ARAÚJO et al., 2015). No Neotrópico, Sapotaceae é um dos grupos de maior abundância e diversidade, com 482 espécies descritas (GOVAERTS et al., 2018), sendo a subfamília Chrysophylloideae mais bem representada na região (TERRA-ARAÚJO et al., 2015).

Seus componentes são, principalmente, arbustos e árvores de pequeno porte, que ocupam lugar de destaque em ambientes florestais (GENTRY, 1993), mas também há representantes entre as árvores de dossel e em savanas. No Brasil, os grandes centros de diversidade da família são a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica e há espécies registradas para o Cerrado e a Caatinga, em sua maioria pertencentes aos gêneros *Chrysophyllum* L. e *Pouteria* Aubl. (PENNINGTON, 1990; CARNEIRO et al., 2015).

Pradosia Liais está incluso na família Sapotaceae, subfamília Chrysophylloideae e compreende ao todo 26 espécies (TERRA-ARAÚJO et al., 2016). O gênero é endêmico da região Neotropical, sendo 80% das espécies encontradas na Floresta Amazônica e na Mata Atlântica (PENNINGTON, 1990; ALVES-ARAÚJO; ALVES, 2012; TERRA-ARAÚJO et at., 2015) com uma única espécie se estendendo até o Panamá e Costa Rica (TERRA-ARAÚJO et al., 2015). Para o Brasil são registradas 17 espécies pertencentes ao gênero (CARNEIRO et al., 2015).

A família Sapotaceae, como um todo, representa um desafio aos estudiosos pela grande semelhança que os *taxa* da família apresentam entre si e com plantas pertencentes a distintos grupos e também pela sua importância econômica por fornecer matéria-prima para produção de óleos, cola, balata, goma de mascar, "gutta-percha", borracha (MONTEIRO et al., 2007), para construção civil e de embarcações, os seus frutos compõem a alimentação humana e, principalmente, de animais silvestres, muitos deles em perigo de extinção (PENNINGTON, 1990), além de produzirem compostos que apresentam atividades biológicas de interesse para a indústria farmacêutica (ALMEIDA et al., 2015; BAKY et al., 2016) e cosmética (SOUZA et al., 2012).

Algumas espécies de *Pradosia* Liais não fogem à regra e detém potencial de reabilitação de solos (MONTAGNINI et al., 1995) e a madeira é utilizada na construção civil (CASTRO et al., 2012). Além disso, há registros de utilização da casca e folhas de algumas espécies do gênero no tratamento de doenças do trato intestinal (KUSHIMA et al., 2005;

SOBRINHO et al., 2011) e malária (BOTSARIS, 2007).

A circunscrição das espécies e gêneros da família Sapotaceae tem sido problemática desde o primeiro momento devido à homoplasia morfológica apresentada pelos *taxa*. As divergências entre as descrições tornam a classificação taxonômica insustentável e, com as recentes descrições para a família, a deficiência na delimitação de espécies se tornou uma grande preocupação para os especialistas (FARIA et al., 2017). Além disso, a correta delimitação das espécies é imprescindível para estabelecer o status de conservação das mesmas (MARTINELLI; MORAES, 2013; IUCN, 2018) e é o ponto de partida de estudos voltados à bioprospecção (REGINATTO, 2017). Portanto faz-se necessária a realização de estudos complementares que contribuam com informações importantes para a correta delimitação dos *taxa*.

Recentemente dados filogenéticos e morfológicos de *Pradosia* sustentaram as espécies dentro do gênero, com base em caracteres morfológicos, geográficos e ecológicos, sendo *Pradosia longipedicellata* Alves-Araújo & M.Alves grupo irmão das demais espécies e estas agrupadas em três clados: Montana, Flores-vermelhas e Casca-doce (TERRA-ARAÚJO et al., 2015). Segundo Faria et al. (2017), o gênero tem fortes relações com *Chromolucuma* Ducke e *Sarcaulus* Radlk., porém pode ser classificado como subgênero de *Pouteria* Aubl., se os dados morfológicos não fornecerem evidências compatíveis com os conceitos genéricos e ainda recomenda que estudos micromorfológicos sejam realizados a fim de garantir informações mais detalhadas acerca das espécies, assim como a anatomia foliar de *Pouteria* spp. tem tido sucesso na taxonomia do gênero (POPOVKIN; FARIA; SWENSON, 2016).

Historicamente os estudos anatômicos vêm sendo empregados como subsídio para diversas áreas como a filogenia, fisiologia, ecologia e ontogenia dos organismos vegetais (DICKISON, 2000), sendo a sistemática a área de maior aplicação da anatomia, seja para fins de identificação, determinação das relações filogenéticas (JUDD et al., 2009), resolução de problemas taxonômicos ou estudos comparativos e ecológicos (METCALFE; CHALK, 1983). Von Poser (2017) afirma que determinados compostos do metabolismo das plantas podem acrescentar informações importantes aos sistemas de classificação vegetal, entretanto o conhecimento da concentração dos metabólitos em cada órgão do vegetal é importante para uma classificação mais precisa e estudos histoquímicos tem se mostrado eficientes na histolocalização de metabólitos primários e secundários que elucidam a fisiologia vegetal, evolução e são fundamentais para estudos farmacognósticos (COSTA, 2001).

A folha, por ser o órgão vegetal mais exposto às variações ambientais, é um importante instrumento de análise ecológica de uma espécie ou comunidade vegetal

(BOEGER et al., 1997), entretanto, ainda apresenta características que possam ser utilizadas como caracteres taxonômicos (FAHN, 1990). Desta maneira este órgão foi analisado sob dois aspectos diferentes ao longo deste estudo.

Aqui foram estudadas seis espécies do gênero *Pradosia* Liais com registro para a região do Nordeste brasileiro segundo Carneiro et al. (2015) - *Pradosia brevipes* (Pierre) T.D.Penn.; *Pradosia glaziovii* (Pierre) T.D.Penn.; *Pradosia kuhlmannii* Toledo; *Pradosia lactescens* (Vell.) Radlk.; *Pradosia longipedicellata* Alves-Araújo & M.Alves e *Pradosia restingae* Terra-Araújo.

O primeiro capítulo mostra o resultado da análise da superfície foliar através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura e sua contribuição para a taxonomia das espécies estudadas. Por sua vez, o segundo capítulo complementa o primeiro com o estudo da estrutura interna das folhas de *Pradosia* e destaca quais os possíveis metabólitos de interesse encontrados nas folhas.

A região nordestina abrange nove estados e apresenta ampla diversidade de topografias, climas, solos e fitofisionomias compreendendo cerca de 19,5% do território nacional (GARCIA, 1999), ainda assim há carência de estudos botânicos para a região (CARNEIRO et al., 2015). Dentre os três domínios fitogeográficos inseridos no Nordeste (ROMA, 2007), a Caatinga, que representa quase todo o Semiárido brasileiro, ocupa destaque territorial (BRASILEIRO, 2009), entretanto, mais de 80% das espécies de Sapotaceae são registradas para a zona da Mata Atlântica (CARNEIRO et al., 2015).

Dentre as 17 espécies de *Pradosia*, citadas para o Brasil, cinco ocorrem nos domínios da Mata Atlântica, uma delas é endêmica da floresta costeira (ALVES-ARAÚJO; ALVES, 2012; OSTROSKI et al., 2018) e todas as cinco espécies ocorrem no Nordeste (CARNEIRO et al., 2015).

Sabe-se que a Mata Atlântica ocupa, atualmente, apenas 29% de sua cobertura original e que cerca de 35% das espécies vegetais brasileiras estão inseridas no domínio, muitas delas endêmicas e ameaçadas de extinção (BRASIL, 2018), o que a elege como um dos grandes *hotspots* mundiais prioritários para estratégias de manejo e conservação (MYERS et al., 2000; TABARELLI et al., 2005).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo descrever a anatomia foliar, verificando se a organização dos tecidos contribui para a distinção das espécies e, ainda, utilizar procedimentos histoquímicos a fim de caracterizar histoquímicamente compostos do metabolismo primário e secundário e detectar os metabólitos de uso comercial e/ou medicinal.

# REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F.B. et al. Secondary metabolites from leaves of *Manilkara subsericeae* (Mart.) Dubard. **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, n. Suppl 4, p. S533, 2015.

ALVES-ARAÚJO, A.; ALVES, M. Two new species and a new combination of Neotropical Sapotaceae. **Brittonia**, v. 64, n. 1, p. 23-29. 2012.

BAKY, M. H. et al. A review on phenolic compounds from family Sapotaceae. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 5, n. 2, p. 280, 2016.

BOEGER, M. R. T.; ALVES DE BRITO, C. J. F.; NEGRELLE, R. R. B. Relação entre características morfoanatômicas foliares e esclerofilia em oito espécies arbóreas de um trecho de floresta pluvial atlantica. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 40, n. 2, p. 493-503, 1997.

BOTSARIS, A. S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, n. 1, p. 18, 2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Mata Atlântica. In: **Florestas**. (http://www.mma.gov.br/component/k2/item/273.html?Itemid=348). Acesso: 09 set 2018.

BRASILEIRO, R. S. Alternativas de desenvolvimento sustentável no semiárido nordestino: da degradação à conservação. **Scientia Plena**, v. 5, n. 5, p. 1-12, 2009.

CARNEIRO, C.E.; ALVES-ARAUJO, A.; ALMEIDA JR., E.B. Sapotaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. (http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217). 2015. Último acesso: 16 mai 2019.

CASTRO, J. P. et al. Caracterização das madeiras denominadas de pau-de-escora comercializadas na cidade de Manaus, Amazonas. **CERNE**, v. 18, n. 4, 2012.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 3.ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001. v. 3. 1032p.

DICKISON, W.C. **Integrative Plant Annatomy**. San Diego: Harcourt academic press. 2000. 533p.

FAHN, A. Plant Anatomy. 4. ed. Oxford: Pergamon Press, 1990. 588p.

FARIA, A. D. de et al. Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 185, n. 1, p. 27-55, 2017.

GARCIA, C. **O que é Nordeste brasileiro**. Coleção Primeiros Passos, n. 119 9. Ed. São Paulo: Brasiliense. 1999.

GENTRY, A.H. A field guide to the families and genera of woody plants of northeast South America (Colombia, Ecuador, Peru). Washington, D.C.: The University of Chicago Press, 1993. 895p.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; PENNINGTON, T. D. World checklist and bibliography of Sapotaceae. 1. ed. Royal Botanic Gardens, Kew: CPI Group, 2001. 361p.

GOVAERTS, R.; HARVEY, Y.; JESSUP, L.; PENNINGTON, T. D. **World Checklist of Sapotaceae**. Kew, Royal Botanic Gardens. Disponível em: <a href="http://wcsp.science.kew.org/">http://wcsp.science.kew.org/</a>> Acesso em: 3 setembro 2018.

IUCN 2018. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2018-2. <a href="http://www.iucnredlist.org">http://www.iucnredlist.org</a> ISSN 2307-8235. Acesso em: 13 junho 2019.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2009. 612p.

KUSHIMA, H. et al. Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulphydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1-3, p. 61-67, 2005.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (Organizador). **Livro Vermelho da Flora do Brasil.** Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**: vol. 2. Wood structure and conclusion of the general introduction. Oxford, Clarendon Press, 1983. 308p.

MONTAGNINI, F.; FANZERES, A.; DA VINHA, S. G. The potentials of 20 indigenous tree species for soil rehabilitation in the Atlantic forest region of Bahia, Brazil. **Journal of Applied Ecology**, v. 32, n. 1, p. 841-856, 1995.

MONTEIRO, M. H. D. A.; ANDREATA, R. H. P.; NEVES, L. J. Estruturas secretoras em Sapotaceae. **Pesquisas, botânica**, v. 58, n. 1, p. 253-262. 2007.

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

OSTROSKI, Piera et al. Endemic angiosperms in Bahia Coastal Forests, Brazil: an update using a newly delimited area. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 4, p. 1-14, 2018.

PENNINGTON, T. D. Sapotaceae. In: **Flora Neotropica**: Monograph 52. New York: The New York Botanical Garden, v. 771, 1990. 770p.

POPOVKIN, A. V.; FARIA, A. D. de; SWENSON, U. *Pouteria synsepala* (Sapotaceae: Chrysophylloideae): a new species from the northern littoral of Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v. 286, n. 1, p. 39-46, 2016.

REGINATTO, F. H. Introdução à análise fitoquímica In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. p. 69-82.

ROMA, J. C. **Mapa de cobertura vegetal dos biomas brasileiros**. Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 2007.

SOBRINHO, F. de A. P.; GUEDES-BRUNI, R. R.; CHRISTO, A. G. Uso de plantas medicinais no entorno da Reserva Biológica de Tinguá, Nova Iguaçu, RJ. **Revista** Acadêmica: Ciência Animal, v. 9, n. 2, p. 195-206, 2011.

SOUZA, P. M. et al. Plants from Brazilian Cerrado with potent tyrosinase inhibitory activity. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e48589, 2012.

TABARELLI, M. et al. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 132–138, 2005.

TERRA-ARAUJO, M. H. et al. Species tree phylogeny and biogeography of the Neotropical genus Pradosia (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 87, p. 1–13, 2015.

TERRA-ARAUJO, Mário H.; FARIA, A. D. de; SWENSON, U. A Taxonomic Update of Neotropical Pradosia (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Systematic Botany**, v. 41, n. 3, p. 634-650, 2016.

VON POSER, G.L. A Quimiotaxonomia dos seres vivos. In: SIMÕES et al. (Org.). **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. p. 23-28.

# CAPÍTULO 1: CARACTERIZAÇÃO DA EPIDERME FOLIAR DE *Pradosia* LIAIS (SAPOTACEAE) OCORRENTE NO NORDESTE BRASILEIRO

24

**RESUMO** 

O presente estudo analisou através de microscopia de luz e microscopia eletrônica de

varredura (MEV) a epiderme foliar de seis espécies do gênero Pradosia Liais (Sapotaceae,

Chrysophylloideae) com ocorrência registrada para o Nordeste brasileiro. As folhas

apresentam características de adaptação a ambientes com solos pobres que variam entre as

espécies estudadas e os resultados encontrados ajudam a explicar a migração do gênero da

Floresta Amazônica para a Mata Atlântica através da barreira seca Caatinga-Cerrado.

Palavras-chave: Adaptação. Chrysophylloideae. Cutícula. MEV. Xeromorfia.

# **ABSTRACT**

The present study analyzed, through light microscopy and scanning electron microscopy (SEM), the leaf epidermis of six species of the genus *Pradosia* Liais (Sapotaceae, Chrysophylloideae) with occurrence recorded for the Northeast of Brazil. The leaves show characteristics of adaptation to harsh edaphic conditions that vary between the analyzed species and the results may explain the migration of the genus from the Amazon Forest to the Atlantic Forest through the Caatinga-Cerrado dry climatic barrier.

Key-words: Adaptation. Chrysophylloideae. Cuticle. SEM. Xeromorphism.

# 1 INTRODUÇÃO

A família Sapotaceae Juss. é um importante componente de diversos estratos florestais (GENTRY, 1993) com grande valor econômico principalmente na área de construção civil e de embarcações, oferece, também, matéria-prima para a produção de óleos, preservativos, borracha e outros derivados de látex (MONTEIRO et al., 2007b).

Pradosia L. pertence à família Sapotaceae, subfamília Chrysophylloideae e compreende cerca de 26 espécies, sua distribuição geográfica é restrita à América do Sul, com uma única espécie se estendendo até o Panamá e Costa Rica (TERRA-ARAUJO et al., 2015; 2016). O gênero tem sua monofilia sustentada por uma única sinapomorfia, o fruto do tipo drupáceo (PENNINGTON, 1990). É encontrado em diversos ambientes, desde florestas estacionais decíduas e semidecíduas a vegetações mais secas como restingas, campinas e campinaranas, entretanto seu maior centro de diversidade são a Floresta Amazônica e a Mata Atlântica (PENNINGTON, 1990; TERRA-ARAÚO et al., 2016).

Para o Brasil são registradas 17 espécies, dentre as quais citam-se sete para o Nordeste brasileiro: *Pradosia brevipes* Ducke, *Pradosia glaziovii* (Pierre) T.D.Penn., *Pradosia granulosa* Pires & T.D.Penn., *Pradosia kuhlmannii* Toledo, *Pradosia lactescens* (Vell.) Radlk., *Pradosia longipedicellata* Alves-Araújo & M.Alves e *Pradosia restingae* Terra-Araújo, cinco dessa possuem registro de ocorrência para a Mata Atlântica (CARNEIRO et al., 2015), sendo *P. longipedicellata* endêmica da floresta costeira brasileira (ALVES-ARAÚJO; ALVES, 2012; OSTROSKI et al., 2018). *P. granulosa* ocorre na floresta Amazônica e *P. brevipes*, no cerrado *stricto sensu*.

Recentemente estudos de filogenia e morfologia sustentaram as espécies dentro do gênero, com *Pradosia longipedicellata* como grupo irmão das demais espécies e estas agrupadas em três clados: Montana, Flores-vermelhas e Casca-doce (TERRA-ARAUJO et al., 2015). Segundo Faria et al., (2017), o gênero tem fortes relações com *Chromolucuma* Ducke e *Sarcaulus* Radlk., porém pode ser classificado como subgênero de *Pouteria* Aubl., se os dados morfológicos não fornecerem evidências compatíveis com os conceitos genéricos.

A análise da superfície foliar tem se mostrado importante na descrição e distinção de espécies de Sapotaceae, Popovkin et al. (2016) utilizaram a ornamentação cuticular como um dos caracteres essenciais para a descrição de uma nova espécie de *Pouteria*, o grau de sinuosidade das paredes celulares e a ornamentação cuticular foram utilizados como caracteres diagnósticos para distinção de espécies do mesmo gênero (MONTEIRO et al.,

2007a), de *Manilkara* Adans (ALMEIDA JR. et al., 2012) e *Diploon* Cronquist (LIMA et al., 2019).

Assim, objetivo do presente estudo consistiu em caracterizar anatomicamente a epiderme das folhas de seis espécies de *Pradosia* Liais que ocorrem no Nordeste brasileiro visando contribuir com informações para o grupo sobre sua micromorfologia, selecionar caracteres importantes para sua identificação, bem como ampliar os estudos sobre a flora nordestina.

# 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Coleta e armazenamento

Primeiramente foi realizado o levantamento e identificação dos *taxa* através de consulta à monografia da família (PENNINGTON, 1990), publicações atuais acerca do gênero (ALVES-ARAÚJO; ALVES, 2012; TERRA-ARAÚJO et al., 2013, 2016) e consulta aos bancos de dados disponíveis online (CARNEIRO et al., 2015; CRIA, 2017).

A obtenção do material analisado foi realizada por meio de expedições de campo e nos seguintes herbários: Herbário Alexandre Leal Costa (ALCB); Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho (PEUFR), Herbário da Universidade Federal de Sergipe (ASE), Herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFP). Foi utilizado material identificado por especialistas e parte do material fresco foi inserida no acervo do HUEFS. A lista de todos os espécimes utilizados consta na tabela 1.

O material coletado fresco foi armazenado em Formaldeído + Ácido Acético Glacial + Etanol 70% (FAA) nas proporções 1:1:18 e em Formalina Neutra Tamponada (FNT) (KRAUS; ARDUIN, 1997). O material herborizado foi reidratado por meio de fervura em água destilada e gotas de glicerina 50% por dois minutos, em seguida foram submetidas à uma solução de hidróxido de potássio 2% por 24 horas como pré-tratamento para garantir a total expansão dos tecidos vegetais e evitar colapso das paredes celulares (SMITH; SMITH, 1942) e, posteriormente armazenadas em etanol 70% (KRAUS; ARDUIN, 1997).

#### 2.2 Processamento e montagem

Para obtenção da epiderme foliar, a técnica de diafanização de Foster (MACEDO, 1997) foi utilizada, adaptando-se apenas o final do processo, no qual após a total clarificação, as folhas foram seccionadas com lâmina de aço e o conteúdo do mesofilo foi removido com auxílio de pincel. O método de Jeffrey (MACEDO, 1997) foi utilizado para as espécies cujas epidermes não puderam ser obtidas com a técnica anterior. A coloração foi feita com safranina alcoólica 1% (JOHANSEN, 1940).

Logo após o processamento das amostras, lâminas semipermanentes foram montadas utilizando como meio de montagem glicerina 50% e esmalte incolor para selar. (KRAUS; ARDUIN, 1997).

Seções do terço médio das amostras foram secas em estufa a 60°C por três horas,

montadas em stubs com fita de carbono, metalizadas com ouro em metalizador Denton Vacuum DESK IV e levadas para a microscopia eletrônica de varredura (MEV).

#### 2.3 Análise qualitativa

Todas as lâminas foram analisadas e fotografadas em fotomicroscópio Leica DM500 acoplado com câmera Leica ICC550W. As amostras montadas nos stubs foram fotografadas e analisadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV.

A terminologia empregada nas descrições segue Metcalfe e Chalk (1979).

A sinuosidade das paredes anticlinais foi classificada em quatro formas de acordo com Gomes-Bezerra et al. (2018): reto, reto a curvo, ondulado (quando a parede anticlinal apresenta curvas suaves) e sinuoso (quando as curvas das paredes anticlinais são mais pronunciadas formando sinos ou lóbulos). Uma chave de identificação foi elaborada com os caracteres anatômicos mais significativos para identificação das espécies.

# 2.4 Análise quantitativa e estatística

Para as medidas das células epidérmicas foi utilizada uma ocular micrométrica devidamente aferida, sendo as medidas e a contagem de células feitas em cinco campos de cada lâmina analisada, totalizando 25 medidas por amostra. O índice estomático foi calculado de acordo com Salisbury (1928), seguindo a fórmula SI = [S / (E + S)] \* 100, onde SI é o índice estomático, S é o número de estômatos por unidade de área e E é o número de células epidérmicas.

Para a obtenção do número de estômatos, tricomas e células epidérmicas ordinárias, foram contados 25 campos por amostra, o resultado foi dividido por 0.196, que corresponde à área observada em milímetros quadrados. Foi calculada a área das células epidérmicas e dos estômatos. Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas através do teste de Tukey e do teste de Welch, para variâncias desiguais entre as amostras, ao intervalo de 5% de confiança.

#### **3 RESULTADOS**

Pradosia granulosa Pires & T.D.Penn. não foi incluída no estudo devido à indisponibilidade do material.

Todas as espécies apresentam tricomas tectores unicelulares do tipo malpighiáceo, tricomas com dois braços, em forma de T, com um dos braços mais longo e base geralmente curta, com quatro a sete células na base (Figura 1a) sendo que, para a maioria das espécies, seis é o número médio de células na base dos tricomas (Tabela 2).

Na face abaxial, *Pradosia brevipes* (Figuras 1b) apresenta cicatrizes de tricomas distribuídos por toda a superfície foliar. *Pradosia glaziovii* (Figuras 1c, d), *Pradosia longipedicellata* (Figuras 1e-f) e *Pradosia restingae* (Figuras 1g) apresentam tricomas apenas sobre as regiões de nervura. Em *Pradosia kuhlmannii* (Figuras 1lh, i) e *Pradosia lactescens* (Figuras j) quase não se observam cicatrizes de tricomas.

Na face adaxial, *Pradosia brevipes* (Figura 2a, b), *Pradosia glaziovii* (Figura 2c), *Pradosia longipedicellata* (Figura 2d) e *Pradosia restingae* (Figura 2e) apresentam cicatrizes de tricomas dispersas pela superfície. Em *Pradosia kuhlmannii* (Figura 2f) e *Pradosia lactescens* (Figuras 2g, h) as cicatrizes de tricomas restringem-se às regiões de nervura, assim como na face abaxial.

Espécimes de *Pradosia longipedicellata* (Queiroz, E.P. 1200; Santos, T.S. dos 4554) apresentaram idioblastos contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio na região da nervura central e nervuras secundárias da face abaxial (Figura 1f).

Pradosia brevipes foi a única espécie que apresentou folha anfiestomática com maior concentração de estômatos na face abaxial, cerca de quatro vezes maior que na face adaxial (Figuras 1 b; 2a, b; tabela 3), as demais espécies possuem folhas hipoestomáticas, Todas as espécies estudadas apresentaram predominância de estômatos anisocíticos, mas também houve ocorrência de estômatos paracíticos em P. longipedicellata (Figura 1e). Pradosia brevipes e P. restingae apresentaram os menores índices estomáticos e P. glaziovii, o maior (Tabela 3).

Pradosia kuhlmannii e P. glaziovii apresentam a menor e a maior densidade de tricomas, respectivamente, ambas as espécies tanto na face abaxial quanto na face adaxial, (Tabela 3).

Quase todas as espécies apresentam células epidérmicas com formato retangular predominando na face adaxial e células poligonais irregulares na face abaxial. As células situadas sobre as nervuras (células costais) diferem-se das demais (células intercostais) em

relação ao tamanho, as células costais são mais alongadas e orientam-se paralelamente umas às outras e as paredes anticlinais são onduladas a retas, exceto em *P. kuhlmannii* (Figura 1h), que não apresenta distinção entre as células costais e intercostais com relação ao grau de sinuosidade das paredes anticlinais, distinguem-se apenas na orientação do eixo maior das células costais, que, assim como nas outras espécies, seguem o sentido das nervuras.

A sinuosidade das paredes anticlinais varia entre as espécies (Tabela 2). Na face abaxial, o contorno celular varia de reto a ondulado em *P. brevipes* (Figura 1b) e *P. glaziovii* (Figura 1c), sinuoso em *P. kuhlmannii* (Figura 1i) e *P. lactescens* (Figura 1j), reto a sinuoso em *P. longipedicellata* (Figuras 1e, f) e *P. restingae* (Figura 1g).

Não há diferenciação entre células costais e intercostais na face adaxial de todas as espécies, a não ser pela região da nervura central em que todas apresentam células retangulares com contorno variando entre reto e curvo (Tabela 2). *P. brevipes* (Figuras 2a, b) e *P. longipedicellata* (Figura 2c) apresentam células com contorno ondulado na face adaxial, *P. glaziovii* apresenta células com contorno reto (Figura 2d), *P. restingae* apresenta células com contorno reto a curvo (Figuras 2e). *P. kuhlmannii* (Figura 2f) e *P. lactescens* (Figura 2g) apresentam células com contorno sinuoso, em *P. lactescens* foram observadas cicatrizes de tricomas na região da nervura central (Figura 2h)

A microscopia eletrônica de varredura mostrou que, na face abaxial, *Pradosia brevipes* (Figura 3a), *P. glaziovii* (Figura 3b), *P. kuhlmannii* (Figura 3c) e *P. lactescens* (Figura 3d) apresentam estrias epicuticulares ladeando os estômatos, as estrias orientam-se perpendicularmente ao comprimento dos estômatos, exceto em *P. glaziovii*, em que as estrias orientam-se paralelamente ao comprimento dos estômatos. *P. longipedicellata* (Figura 3e) e *P. restingae* (Figura 3f) não apresentam qualquer ornamentação, a cutícula apenas forma ondulações na superfície.

Na face adaxial, apenas em *P. kuhlmannii* (Figura 3g) e *P. lactescens* (Figura 3h) foram observadas estrias epicuticulares, sendo estas, o único tipo de ornamentação observado nas espécies analisadas. As estrias não apresentam padrões diferentes (Figura 3i) sendo difícil distinguir uma da outra.

Pradosia kuhlmannii e P. lactescens diferem uma da outra apenas no tamanho dos estômatos e área das células ordinárias da epiderme abaxial embora tais dados não sejam estatisticamente importantes (Tabela 2).

As células da face adaxial são menores que na face abaxial, exceto em *P. brevipes e P. longipedicellata*, que apresentam as células da face abaxial maiores que na face adaxial (Tabela 2), entretanto as dimensões celulares não interferem no número de células por área,

ou seja, as espécies com maior número de células não necessariamente possuem células menores com relação à outra face na mesma folha ou as outras espécies e o mesmo acontece com a relação tamanho x densidade dos estômatos (Tabelas 2 e 3). *Pradosia lactescens* possui os menores estômatos entre as seis espécies (Tabela 3), entretanto *P. glaziovii* tem o maior índice estomático (Tabela 2).

A análise de variância e o teste de Tukey foram realizados excluindo *P. brevipes* devido ao número amostral insuficiente da espécie. O número de células comuns por área e o tamanho das mesmas não apresentou diferença significativa entre as espécies (p>0,05) O índice estomático variou significativamente entre as espécies (p<0,05), sendo o resultado da análise de variância confirmado pelo teste F de Welch para variâncias desiguais entre as amostras (p<0,05). *Pradosia glaziovii* difere significativamente de *P. kuhlmannii* e *P. lactescens*, porém não difere de *P. longipedicellata* e *P. restingae* (Tabela 3), não houve diferença estatística entre *P. kuhlmannii*, *P. lactescens*, *P. longipedicellata* e *P. restingae* (Tabela 3).

A análise de variância para a densidade de tricomas apontou diferenças estatística entre as espécies (p<0,05), entretanto o teste de Welch não corrobora com o resultado para variâncias desiguais entre as amostras analisadas (p>0,05). De acordo com o teste de Tukey, *P. glaziovii* difere de *P. kuhlmannii*, *P. lactescens* e *P. restingae* e *P. lactescens* difere, também, de *P. longipedicellata* (Tabela 3).

Tabela 1. Lista dos espécimes de *Pradosia* Liais analisados no presente estudo.

Espécie	Coletor	Voucher	Município	Domínio	
Pradosia brevipes Ducke	Yoshida-Arns, K. 302	UFP 60312	Formosa do Rio Preto, BA	Cerrado	
Pradosia glaziovii (Pierre) T.D.Penn.	Santos, F.S. 487	CEPEC 45756	Santa Cruz Cabrália, BA	Mata Atlântica	
	Daneu, L.H. 714	HUEFS 248191	Uruçuca, BA	Mata Atlântica	
	Heringer, E.P. 1007	PEUFR 5554	Recife, PE	Mata Atlântica	
<i>Pradosia kuhlmannii</i> Toledo	Almeida, E.S. 45	HUEFS 239533	Uruçuca, BA	Mata Atlântica	
	Santos, F.S. 656	CEPEC 42489	Santa Cruz Cabrália, BA	Mata Atlântica	
	Pacheco, L.M. 117	ALCB 049740	Santa Cruz Cabrália, BA	Mata Atlântica	
	Oliveira, M. 1171	UFP 36101	Ibateguara, AL	Mata Atlântica	
Pradosia lactescens (Vell.) Radlk.	Popovkin, A.V. 1564	HUEFS 182492	Entre Rios, BA	Mata Atlântica	
	Almeida, E.S. 35	HUEFS 239526	Uruçuça, BA	Mata Atlântica	
	Cardoso, D. 1610	HUEFS 116445	Amargosa, BA	Mata Atlântica	
	Daneu, L.H. 715	HUEFS 248192	Maraú, BA	Restinga	
	Oliveira, M. 1484	UFP 38561	Ibateguara, AL	Mata Atlântica	
	Silva, H.C.H. 205	PEUFR 42061	Igarassu, PE	Mata Atlântica	
	Landim, M. 1212	ASE 7780	Santa Luzia do Itanhy, SE	Mata Atlântica	
Pradosia longipedicellata Alvea-Araújo & M.Alves	Jardim, J.G. 92	HUEFS 114101	Una, BA	Mata Atlântica	
	Queiróz, E.P. 1200	HUEFS 150688	Salvador, BA	Mata Atlântica	
	Queiróz, L.P. 13816	HUEFS 142032	Maraú, BA	Restinga	
	Santos, T.S. dos 4554	CEPEC 47499	Maraú, BA	Restinga	
<i>Pradosia restingae</i> Terra-Araújo	Amaral, C. 41	ASE 6999 Barra dos Coqueiros, SE		Restinga	
ŭ	Alves-Araújo, A. 694	UFP 63230 Tibau do Sul, RN		Restinga	
	Landim, M. 1188	ASE 7430	Santo Amaro das Brotas, SE	Restinga	

**Tabela 2.** Medidas das áreas das células ordinárias e complexo estomático (ACE) em micrômetros quadrados, número de células da base dos tricomas (CBT) e grau de sinuosidade das paredes anticlinais das células ordinárias, com seus respectivos desvios padrão (SD).

Espécie	Células ordinárias (µm²)±SD		ACE (μm²)±SD		СВТ		Contorno celular	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
Pradosia brevipes Ducke	$363,9\pm0$	$318,3\pm0$	$95,3\pm0$	$224,4\pm0$	4(-5)-6	5(-6)-7	Ondulado	Ondulado
<i>Pradosia glaziovii</i> (Pierre) T.D.Penn.	364±165a	424±96a*		252,8±9a	4(-6)-7	4(-5)-6	Reto	Ondulado
<i>Pradosia kuhlmannii</i> Toledo	669,2±250a	815,6±309b*		193,4±40a	4(-6)-7	4(-6)-7	Sinuoso	Sinuoso
Pradosia lactescens (Vell.) Radlk.	650,5±91a	713,3±146a*		221±27a	4(-5)-6	4(-5)-6	Sinuoso	Sinuoso
Pradosia longipedicellata Alves-Araújo & M.Alves	824,2±115b	700,4±261a*		305,1±55a	4(-5)-7	4(-5)-7	Ondulado	Sinuoso
<i>Pradosia restingae</i> Terra- Araújo	489±68a	509,3±140a*		338±137a	5(-5)-6	4(-5)7	Reto/Curvo	Sinuoso

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (\*) Resultado não confirmado pelo teste F de Welch.

**Tabela 3.** Densidade de células ordinárias, estômatos e tricomas por milímetro quadrado e índice estomático (SI), com seus respectivos desvios padrão (SD). (-) ausência do caráter.

Espécie —	Células ordinárias ±SD (mm²)		Estômato	Estômatos/mm <sup>2</sup> ±SD		Tricomas/mm <sup>2</sup> ±SD		SI	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	
Pradosia brevipes Ducke	6388±0	5278±0	130±0	505±0	2±0	129±0	4,8±0	8,9±0	
Pradosia glaziovii (Pierre) T.D.Penn.	6357±543a	2941±14a	-	760±93a	33±3a*	142±50a*	-	18,1±8a	
<i>Pradosia kuhlmannii</i> Toledo	3526±265a	2592±159a	-	423±251b	8±7a*	13±1bc*	-	13,9b	
Pradosia lactescens (Vell.) Radlk.	4765±52a	3711±177a	-	386±97b	12±7a*	15±3c*	-	9,3b	
Pradosia longipedicellata Alves-Araújo & m.Alves	3893±133a	3310±152a	-	502±92c	26±15a*	102±56ab*	-	13,4c	
<i>Pradosia restingae</i> Terra- Araújo	4189±333a	4170±289a	-	474±113c	11±10a*	43±15bc*	-	8,7c	

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (\*) Resultado não confirmado pelo teste F de Welch.

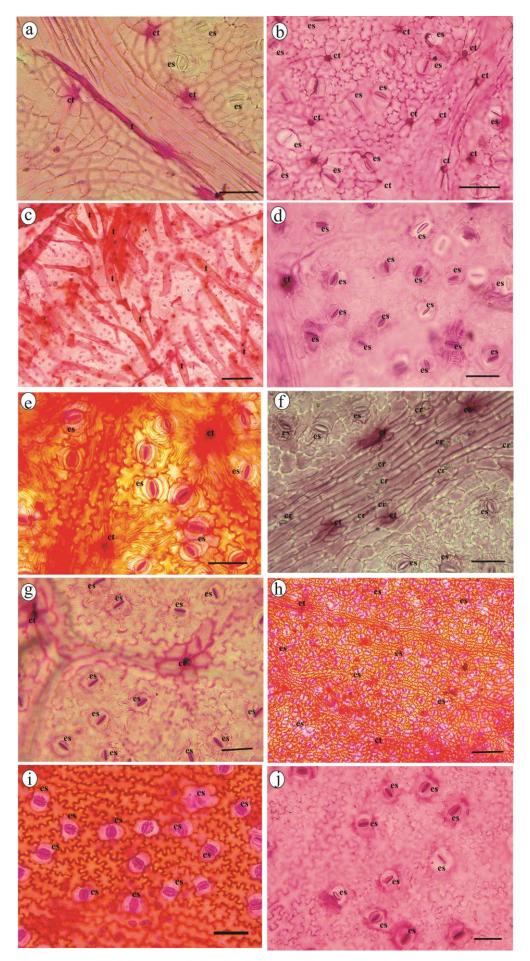


Figura 1. Epiderme foliar de *Pradosia* Liais em microscopia de luz: a. Tricoma malpighiáceo em vista frontal. b. Face abaxial de *Pradosia brevipes*. c-d. *Pradosia glaziovii* em vista frontal. c. Face abaxial evidenciando a alta densidade de tricomas. d. Face abaxial. e-f. *Pradosia longipedicellata* em vista frontal. e. Detalhes: estômatos paracíticos, cicatrizes de tricomas e contorno celular. f. Detalhes: cristais prismáticos na nervura central. g. Face abaxial de *Pradosia restingae*. h-i. *Pradosia kuhlmannii* em vista frontal. h. Face abaxial. i. Detalhes: estômatos e contorno celular. j. Face abaxial de *Pradosia lactescens*. Legenda: cr = cristal; ct = cicatriz de tricom; es = estômatos; t = tricoma. Barras = 50 μm; Figs. c, h = 200 μm

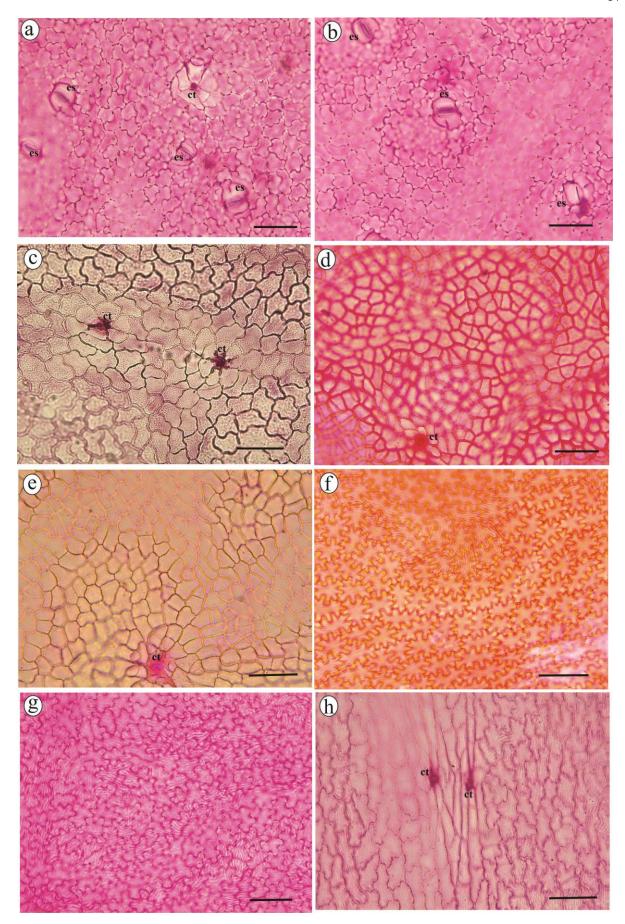
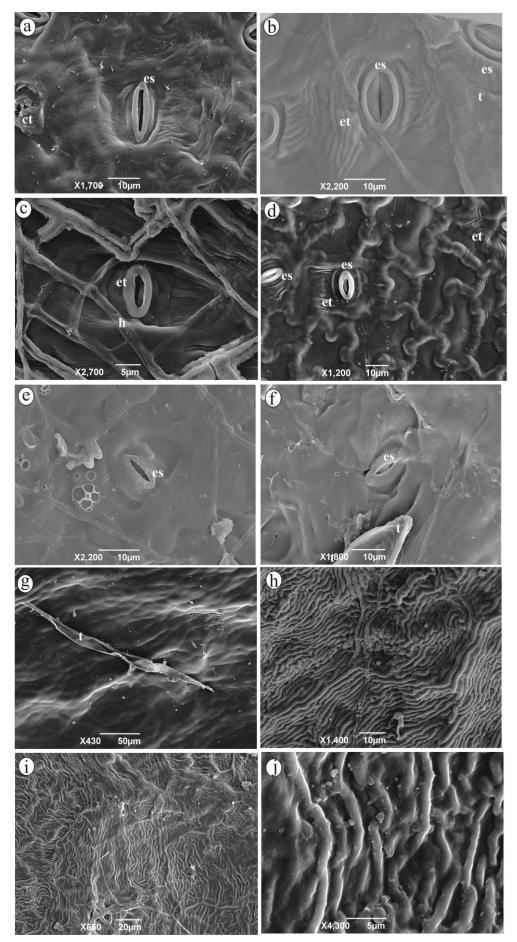


Figura 2. Epiderme foliar de *Pradosia* Liais em microscopia de luz: **a-b.** *Pradosia brevipes* em vista frontal. **a.** Detalhes: cicatriz de tricoma e contorno celular. **b.** Detalhes: estômatos anisocíticos e contorno celular. **c.** Face adaxial de *Pradosia glaziovii* evidenciando o contorno celular. **d.** Face adaxial de *Pradosia longipedicellata*. **e.** Face adaxial de *Pradosia restingae*. **f.** Face adaxial de *Pradosia kuhlmannii*. **g-h.** *Pradosia lactescens* em vista frontal. **g.** Face adaxial. **h.** Detalhes: cicatrizes de tricomas na região da nervura central. **Legenda: ct** = cicatriz de tricom; **es** = estômatos. **Barras:** = 50 μm.



**Figura 3.** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da superfície foliar de *Pradosia* Liais. **a.** Face abaxial de *Pradosia brevipes.* **b.** Face abaxial de *Pradosia glaziovii.* **c.** Face abaxial de *Pradosia kuhlmannii.* **d.** Face abaxial de *Pradosia lactescens.* **e.** Face abaxial de *Pradosia longipedicellata.* **f.** Face abaxial de *Pradosia restingae.* **g.** Face adaxial de *Pradosia restingae* evidenciando tricoma malpighiáceo. **h.** Face adaxial de *Pradosia kuhlmannii.* **i.** Face adaxial de *Pradosia lactescens.* **j.** Detalhe: estrias epicuticulares observadas em *P. kuhlmanii* e *P. lactescens.* **Legenda: es** = estômato; **et** = estrias; **h** = hifas de fungos; **t** = tricoma.

## 4 DISCUSSÃO

Metcalfe e Chalk (1979) e Solereder (1908) citam a presença de cristais prismáticos, tricomas malpighiáceos e células epidérmicas com contorno sinuoso como caracteres diagnósticos para a identificação da família Sapotaceae, o presente estudo corrobora com esses autores e ressalta que *Pradosia glaziovii* e *P. restingae* apresentam exceções quanto à sinuosidade das paredes anticlinais nas células ordinárias da face adaxial. Os mesmos autores apontam apenas para a presença de estômatos anisocíticos para a família e, no presente trabalho, também foram detectados estômatos paracíticos em *P. longipedicellata*.

Fahn (1990) afirmou que, na maioria das dicotiledôneas, as folhas de sombra apresentam paredes anticlinais sinuosas. Segundo Gomes e Neves (1993), a sinuosidade das paredes anticlinais da epiderme é atribuída a grupos ocorrentes em ambientes úmidos e, de acordo com Arruda e Neves (2005) e Corrêa et al. (2007), também pode conferir resistência mecânica à epiderme em épocas de escassez hídrica, o que evita o colapso da estrutura foliar. Santiago et al. (2001) observou que folhas expostas ao sol apresentam células epidérmicas com paredes anticlinais retas, como encontrado em *P. restingae*, que ocorre em zonas de restinga da costa atlântica.

Como observado no presente estudo, *Pradosia glaziovii* também apresenta células ordinárias com contorno reto, apesar de ser essencialmente encontrada em florestas úmidas, de acordo com a literatura (PENNINGTON, 1990; TERRA-ARAÚJO et al, 2016). É válido ressaltar que a altura da planta influencia na exposição das folhas ao sol, e *P. glaziovii* alcança até 30 metros de altura, sendo que tal fato pode explicar, também as densidades estomáticas, apesar de não ser estatisticamente importante, e de tricomas da espécie. Dentre os estudos anatômicos para outros gêneros da família, apenas Monteiro et al. (2007a) citam o grau de sinuosidade das paredes anticlinais como caráter importante para as espécies de *Pouteria* Aublt., segundo esses autores, células epidérmicas sinuosas são um caráter comum às espécies do gênero.

Pradosia brevipes parece ser uma exceção à tal explicação, sendo a única espécie do gênero ocorrente em cerrado stricto senso e apresenta certo grau de sinuosidade nas paredes anticlinais das células ordinárias da epiderme, como citado para a família por Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1979), o que significa que essa espécie apresenta outros mecanismos de adaptação a ambientes secos, como o hábito arbustivo geoxílico (PENNINGTON, 1990; TERRA-ARAÚJO et al., 2016) e a presença de estômatos na face

adaxial, que está comumente associada a grupos de climas secos e relacionados ao aumento da condutância máxima da folha em relação ao CO<sub>2</sub> (MOTT et al., 1982).

Segundo Boeger et al. (1997) e Dickison (2000), plantas cujos habitats são áreas sujeitas a períodos de seca, ou predominantemente secos, tendem a desenvolver alto índice estomático e ornamentações cuticulares, pois o número de estômatos por área está diretamente relacionado com a capacidade de trocas gasosas. Entretanto não é o que se observa nas espécies estudadas que ocorrem em ambientes secos, *P. brevipes* (face abaxial) e *P. restingae* cujos índices estomáticos não diferiram de nenhuma das demais espécies.

A presença de cera epicuticular e de tricomas pode ser interpretada como melhor forma de evitar perda de água e retê-la dentro destas condições, não prejudicando o metabolismo do corpo vegetal além de apresentar propriedades reflexivas evitando a redução da absorbância da radiação fotossinteticamente ativa (FAHN, 1990; DICKISON, 2000; CUTLER et al., 2011), Theobald et al. (1979) defenderam que a presença de tricomas, além de ter valor taxonômico, é uma estratégia de defesa contra insetos fitófagos, pois segundo estes autores, há uma correlação negativa entre a densidade de tricomas e insetivoria e ovoposição.

Pennington (1990) e Terra-Araújo et al. (2016) descrevem *P. glaziovii*, *P. kuhlmannii*, *P. lactescens* e *P. restingae* como glabras, entretanto foram observadas cicatrizes de tricomas nos espécimes analisados no presente estudo. Metcalfe e Chalk (1950) sugeriram a presença de mais de um tipo de tricoma para a família, porém, assim como Monteiro et al. (2007a), Almeida Jr. et al. (2012) e Lima et al. (2019), apenas tricomas do tipo malpighiáceo foram observados nos espécimes analisados. Em *Pradosia* foram observados tricomas em forma de T, Lima et al. (2019) descreveu tricomas malpighiáceos em forma de Y para *Diploon cuspidatum* e Monteiro et al. (2007a) também descreveu tricomas com a mesma forma para espécies de *Pouteria*.

Metcalfe e Chalk (1979) definem estrias como elevações ou dobras na cutícula. Além de ter função fisiológica bem estabelecida, a ornamentação cuticular tem valor taxonômico (SOLEREDER, 1908). As estrias são citadas como um dos principais caracteres diagnósticos para a identificação de *Pouteria synsepala* Popovkin & A.D.Faria (POPOVKIN et al., 2016), ondulações e estrias são citadas por Monteiro et al. (2007a) para caracterizar as espécies de *Pouteria* ocorrentes no estado do Rio de Janeiro. Comparando os resultados obtidos por esses autores com os aqui apresentados é possível definir distinções quanto à ornamentação cuticular dos dois gêneros, uma vez que as estrias presentes em *Pouteria* restringem-se à face abaxial e organizam-se em forma de labirinto (MONTEIRO et al., 2007a; POPOVKIN et al.,

2016) e as observadas em *Pradosia*, além de ocorrerem exclusivamente em torno dos estômatos na face abaxial, estão presentes na face adaxial de *P. lactescens* e *P. kuhlmannii* e são orientadas paralelas umas às outras.

A presença de cristais na epiderme de espécimes de *Pradosia longipedicellata*, pode ter relação com o habitat da espécie (zonas de restinga) segundo Alves-Araújo e Alves (2012) e Terra-Araújo et al (2016). De acordo com Franceschi (2001) e Franceschi e Nakata (2005), a presença de cristais prismáticos no tecido de revestimento pode representar vantagens adaptativas à ambientes muito luminosos, como as restingas, devido às suas propriedades reflexivas, bem como pode ser uma estratégia contra herbivoria. Cristais prismáticos também foram observados nas epidermes de espécies de *Pouteria* (MONTEIRO et al., 2007a).

Os resultados aqui apresentados podem elucidar a presença de algumas espécies arbóreas em ambientes com solos arenosos claros e pobres em nutrientes (*P. longipedicellata* e *P. restingae*), bem como caracteres xeromórficos em árvores de grande porte como *P. glaziovii*, *P. kuhlmannii* e *P. lactescens*. Segundo Pillon et al. (2010), ambientes como cerrado e restingas oferecem condições extremas e requerem uma pré-adaptação para serem colonizados.

Terra-Araújo et al. (2015) verificou tal pré-adaptação em *P. longipedicellata*. Segundo o autor, em sua reconstrução biogeográfica para o gênero, um ancestral de *Pradosia* estabeleceu-se principalmente na Floresta Amazônica por volta de 47.5 Ma com eventos de dispersão para a região central do Brasil e alcançou a costa atlântica pela primeira vez há cerca de 34.4 Ma. Assim sendo é possível explicar a presença de características adaptativas a ambientes secos em plantas como *P. glaziovii*, *P. kuhlmannii* e *P. lactescens*.

## **5 CONCLUSÕES**

O presente trabalho trouxe dados inéditos para o gênero *Pradosia* e, por conseguinte, para a família Sapotaceae, que podem corroborar com os estudos taxonômicos e filogenéticos e, ainda, subsidiar estudos ecológicos. Pode-se verificar que a epiderme de todas as espécies estudadas apresentam algum mecanismo de adaptação à ambientes secos, solos pobres em nutrientes e com baixa taxa de retenção de água e alta luminosidade, tais como cutícula ornamentada, alta densidade estomática, células contendo drusas e alto número de tricomas por área. Essas características tem valor taxonômico dentro do gênero e podem explicar os fenômenos de dispersão e colonização das espécies ao longo da sua história evolutiva.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA-JR, E. B. de et al. Leaf morphology and anatomy of Manilkara Adans.(Sapotaceae) from northeastern Brazil. **Plant systematics and evolution**, v. 299, n. 1, p. 1-9, 2012.

ALVES-ARAÚJO, A.; ALVES, M. Two new species and a new combination of Neotropical Sapotaceae. Brittonia, v. 64, n. 1, p. 23-29. 2012.

ARRUDA, R. do C. de O.; NEVES, L. de J. Leaf anatomy of Trilepis lhotzkiana Nees and Trilepis ciliatifolia T. Koyama (Cyperaceae) Juss. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 4, p. 889-897, 2005.

BOEGER, M. R. T.; ALVES DE BRITO, C. J. F.; NEGRELLE, R. R. B. Relação entre características morfoanatômicas foliares e esclerofilia em oito espécies arbóreas de um trecho de floresta pluvial atlântica. **Brazilian Archives os Biology and Technology**, v. 40, n. 2, p. 493-503, 1997.

CARNEIRO, C.E.; ALVES-ARAUJO, A.; ALMEIDA JR., E.B. Sapotaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. (<a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217</a>). 2015. Último acesso: 16 mai 2019.

CORRÊA, P. G.; CHAGAS, M. das G. S. das; PIMENTEL, R. M. de M. Caracterização morfoantômica foliar de Annona crassiflora Mart. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. 816-818, 2007.

CRIA (Centro de Referência e Informação Ambiental). **Specieslink - simple search**. (http://www.splink.org.br/index). Acesso: 18 jul 2017.

CUTLER, D. F.; BOTHA. T.; STEVENSON, D. W. Anatomia vegetal - uma abordagem aplicada. Porto Alegre: Artmed, 2011. 304p.

DICKISON, W.C. **Integrative plant anatomy**. Harcourt academic press, San Diego. 2000. 533p.

FAHN, A. Plant anatomy. 4.ed. Oxford: Pergamon Press, 1990. 588p.

FARIA, A. D. de et al. Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 185, n. 1, p. 27-55, 2017.

FRANCESCHI, V. R. Calcium oxalate in plants. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 7, p. 331, 2001.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Oxalato de cálcio em plantas: formação e função. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, p. 41-71, 2005.

GENTRY, A.H. A field guide to the families and genera of woody plants of northeast South America (Colombia, Ecuador, Peru). Washington, D.C.: The University of Chicago Press, 1993. 895p.

GOMES, D. M. S.; NEVES, L. de J. Leaf anatomy of Gomidesia spectabiLIs (DC) Berg, and Gomidesia nitida (VeLl) LeGr.(Myrtaceae). **Rodriguésia**, v. 45, n. 71-75, p. 51-70, 1993.

GOMES-BEZERRA et al. Leaf epidermal descriptors applied to the taxonomy of Lauraceae, including new anatomical characters. **Phytotaxa**, v. 358, n. 1, p. 49-66, 2018.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. London: McGraw-Hill Book Company, 1940. 194p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Soropédica: EDUR, 1997. 198p.

LIMA, R.G. V. N.; LIMA, L.F.; FERREIRA, A. C.; ARAÚJO, J. S.; ZICKEL, C. S. Leaf Morphoanatomy of *Diploon* Cronquist (Sapotaceae Juss.) **Biota Neotropica**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2019.

MACÊDO, N. A. de. **Manual de Técnicas em histologia vegetal**. 1. ed. Feira de Santana: Editora UEFS, 1997. 45p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons:** leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses, v. 2. Oxford: Claredon Press, 1950. 1500p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons:** systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject, v. 1. Oxford: Clarendon Press, 1979. 775p.

MONTEIRO, M. H. D. A.; ANDREATA, R. H. P.; NEVES, L. J. Taxonomia e anatomia das espécies de *Pouteria* Aublet (Sapotaceae) do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas, Botânica,** V. 58, n. 7, p. 7-118, 2007a.

MONTEIRO, M. H. D. A.; ANDREATA, R. H. P.; NEVES, L. J. Estruturas secretoras em Sapotaceae. **Pesquisas, Botânica**, v. 58, n. 1, p. 253-262, 2007b.

MOTT, K. A.; GIBSON, A. C.; O'LEARY, J. W. The adaptive significance of amphistomatic leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 5, n. 6, p. 455-460, 1982.

OSTROSKI, Piera et al. Endemic angiosperms in Bahia Coastal Forests, Brazil: an update using a newly delimited area. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 4, p. 1-14, 2018.

PENNINGTON, T. D. Sapotaceae. In: **Flora Neotropica**: Monograph 52. New York: The New York Botanical Garden, v. 771, 1990. 770p.

PILLON, Y. et al. Ultramafic soils and species sorting in the flora of New Caledonia. **Journal of Ecology**, v. 98, n. 5, p. 1108-1116, 2010.

POPOVKIN, A. V.; FARIA, A. D. de; SWENSON, U. *Pouteria synsepala* (Sapotaceae: Chrysophylloideae): a new species from the northern littoral of Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v.

286, n. 1, p. 39-46, 2016.

SALISBURY, E. J. et al. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 216, n. 431-439, p. 1-65, 1928.

SANTIAGO, E. J. A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 05, p. 1035-1042, 2001.

SMITH, F. H.; SMITH, E. C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **American Journal of Botany**, v. 29, n. 6, p. 464-471, 1942.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons.** Oxford, Clarendom Press. 1908, 1182p.

TERRA-ARAUJO, M. H. et al. *Pradosia restingae* sp. nov. from the Atlantic forest, Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v. 31, n. 4, p. 437-441, 2013.

TERRA-ARAUJO, M. H. et al. Species tree phylogeny and biogeography of the Neotropical genus Pradosia (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 87, p. 1–13, 2015.

TERRA-ARAUJO, Mário H.; FARIA, A. D. de; SWENSON, U. A Taxonomic Update of Neotropical Pradosia (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Systematic Botany**, v. 41, n. 3, p. 634-650, 2016.

THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L.; ROLLINS, R. C. Trichome description and classification. In: METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons:** systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject, v. 1. Oxford: Clarendon Press, p. 40-54, 1979.

CAPÍTULO 2: ESTUDO MICROMORFOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DAS FOLHAS DE *Pradosia* LIAIS (SAPOTACEAE) OCORRENTE NO NORDESTE BRASILEIRO

#### **RESUMO**

Sabendo-se dos problemas de identificação comuns dentro da família Sapotaceae bem como do potencial econômico e medicinal detido pelo grupo, o presente estudo teve como objetivo analisar anatômica e histoquimicamente espécies do gênero *Pradosia* Liais a fim de fornecer dados de valor taxonômico e importância química para o gênero. Foram realizadas seções transversais do pecíolo e da lâmina foliar à mão livre e com auxílio de criostato e seguidas as técnicas usuais em anatomia e histoquímica. Os resultados se mostraram importantes para a distinção entre as espécies do gênero e embasará estudos mais aprofundados a cerca da sua sistemática e fitoquímica.

**Palavras-chave:** Adaptação. Anatomia foliar. Chrysophylloideae. Metabólitos. Plantas medicinais.

#### **ABSTRACT**

Knowing the common identification problems within the Sapotaceae family as well as the economic and medicinal potential held by the group, the present study aimed to analyze anatomically and histochemically species of the genus *Pradosia* Liais in order to provide data of taxonomic value and chemical importance for the gender. Cross sections of the petiole and leaf blade were performed freehand and with the aid of a cryostat, followed by usual techniques in anatomy and histochemistry. The results proved to be important for the distinction between the species of the genus and will support more detailed studies about its systematics and phytochemistry.

**Key-words:** Adaptation. Leaf anatomy. Chrysophylloideae. Metabolites. Medicinal plants.

## 1 INTRODUÇÃO

Pradosia L. está incluso na família Sapotaceae, subfamília Chrysophylloideae e compreende cerca de 26 espécies (TERRA-ARAUJO; FARIA; SWENSON, 2016) distribuídas em diversos ambientes, desde florestas estacionais decíduas e semidecíduas a vegetações mais secas como restingas, campinas e campinaranas, entretanto seu maior centro de diversidade são a Mata Atlântica e a Floresta Amazônica (PENNINGTON, 1990; TERRA-ARAÚJO et al., 2015).

Recentes estudos taxonômicos e filogenéticos sustentaram as posições inter e infragenéricas das espécies neotropicais de Chrysophylloideae, incluindo todas as espécies de *Pradosia*, entretanto não elucidaram totalmente os problemas de distinção das espécies destacando a necessidade de estudos complementares, tais como a micromorfologia (TERRA-ARAUJO et al., 2015; FARIA et al. 2017). Além disso, sabe-se que as espécies da família detêm grande potencial econômico, tanto pela madeira de lei e látex (MONTEIRO et al., 2007b) quanto pelos compostos que já foram registrados para a família e que são de interesse medicinal, principalmente (KUSHIMA et al., 2005; BAKY et al., 2016) e que a correta identificação é imprescindível para estudos voltados à bioprospecção (REGINATTO, 2017).

Das 17 espécies registradas para o Brasil, foram analisadas no presente estudo através de técnicas anatômicas e histoquímicas *Pradosia brevipes* Ducke; *Pradosia glaziovii* (Pierre) T.D.Penn.; *Pradosia kuhlmannii* Toledo; *Pradosia lactescens* (Vell.) Radlk.; *Pradosia longipedicellata* Alves-Araújo & M.Alves e *Pradosia restingae* Terra-Araújo, todas citadas para o Nordeste brasileiro, com o objetivo de levantar caracteres de valor taxonômico, identificar metabólitos de interesse comercial e/ou medicinal e, ainda, fornecer informações acerca da flora nordestina, a qual carece de estudos (MARIN; SANTOS, 2014).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Coleta e armazenamento

O material analisado no presente trabalho foi coletado em campo e em herbários após consulta à bibliografia disponível (PENNINGTON, 1990; ALVES-ARAÚJO; ALVES, 2012; TERRA-ARAÚJO et al., 2013, 2016) e aos bancos de dados online (CARNEIRO et al., 2015; CRIA, 2017). O material herborizado utilizado foi coletado nos estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe e devidamente identificado por especialistas, parte do material fresco foi inserida no acervo do HUEFS. A lista de todos os espécimes utilizados consta na tabela 1.

O material coletado fresco foi dividido em duas partes, uma parte para os estudos anatômicos e a outra para a análise histoquímica. O material destinado à anatomia foi armazenado em Formaldeído + Ácido Acético Glacial + Etanol 70% (FAA) nas proporções 1:1:18 e em Formalina Neutra Tamponada (FNT) (KRAUS; ARDUIN, 1997). O material destinado à histoquímica foi armazenado em sacos herméticos submetidos a refrigeração, sendo estas amostras processadas prioritariamente.

### 2.2 Processamento

Foram utilizadas folhas adultas, totalmente expandidas coletadas a partir do terceiro nó dos ramos de indivíduos estudados. Todas as amostras herborizadas foram submetidas à uma solução de hidróxido de potássio 2% por 24 horas como pré-tratamento para garantir a total expansão dos tecidos vegetais e evitar colapso das paredes celulares durante o processamento (SMITH; SMITH, 1942).

Foram realizadas seções transversais do pecíolo e da lâmina foliar à mão livre, com auxílio de lâminas de aço, e com criostato (micrótomo de congelamento). As amostras secionadas à mão livre foram diafanizadas com hipoclorito de sódio comercial e coradas com azul de astra 1% e safranina 1% aquosos (9:1) (JOHANSEN, 1940; KRAUS; ARDUIN, 1997).

Para as seções com auxílio do criostato, as amostras foram submetidas à inclusão em Polietilenoglicol 1500 (PEG) seguindo Barbosa et al. (2010). As seções foram realizadas com 40 μm de espessura utilizando o criostato Leica CM1860 a -5°C, o material não foi diafanizado e a coloração foi feita com azul de alcian 1% e safranina 1% aquosos (9:1) (LUQUE et al., 1996).

Para os testes histoquímicos, foram feitas seções transversais à mão livre do pecíolo e da região mediana das folhas de *Pradosia glaziovii* e *Pradosia lactescens*. Os testes realizados

de acordo com Kraus e Arduin (1997) foram: sudan III e IV, para identificação de lipídios; vermelho de Rutênio 0,02%, para identificação de substâncias pécticas; floroglucinol em etanol 95% e ácido clorídrico 37%, para identificação de lignina; reagente de Fehling, para identificação de açúcares redutores; e cloreto de zinco iodado, para identificação de amido, lignina e celulose. Os testes feitos de acordo com Macedo (1997) foram: cloreto de ferro III e carbonato de sódio 10%; para identificação de taninos; lugol, para identificação de amido; e ácido clorídrico 10% para determinação da composição química dos cristais. Os testes feitos de acordo com Figueiredo (2007) foram: dicromato de potássio, para identificação de taninos; azul de Comassie, para identificação de proteínas; azul de Alcian, para identificação de polissacarídeos ácidos; e ácido tânico e cloreto de ferro III, para identificação de mucilagens.

### 2.3 Montagem e análise qualitativa

As lâminas de anatomia foram confeccionadas utilizando gelatina glicerinada como meio de montagem e parafina como selante. As lâminas de histoquímica foram confeccionadas utilizando glicerina 50% como meio de montagem e esmalte incolor, como selante (KRAUS; ARDUIN, 1997).

Todas as lâminas foram analisadas e fotografadas em microscópio de luz Leica DM500 com captura de imagem acoplada Leica ICC550W e estereomicroscópio Leica EZ4W com captura acoplada Leica ICC550W.

A terminologia utilizada nas descrições segue Radford (1974), para a descrição do pecíolo, e Metcalfe e Chalk (1950, 1983) para a descrição da lâmina foliar.

### 2.4 Análise quantitativa e estatística

O grau de espessura da cutícula foi determinado da seguinte forma: utilizando ocular devidamente aferida, no aumento de 100X, foram medidos 20 campos de cinco das lâminas confeccionadas com as seções transversais do limbo foliar e do pecíolo, dos quais dez campos foram medidos na face abaxial das folhas e dez campos na face adaxial e, de acordo com o observado, a cutícula foi classificada como fina (1,0  $\mu$ m < 2,0  $\mu$ m), média (> 2,0  $\mu$ m < 4,0  $\mu$ m) e espessa ( $\geq$  4,0  $\mu$ m). Foi medido também a largura e o comprimento das células do parênquima paliçádico, a espessura total do mesofilo e a porcentagem ocupada pelo parênquima paliçádico no mesofilo.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas através do teste de Tukey e ao teste de Welch, para variâncias desiguais entre as amostras, ao intervalo de 5% de confiança.

#### **3 RESULTADOS**

#### 3.1 Pecíolo

Todas as espécies estudadas apresentam pecíolo com a epiderme uniestratificada, feixe vascular medulado circundado por uma bainha descontínua de fibras esclerenquimáticas, laticíferos distribuídos pela região cortical e feixe vascular, cristais prismáticos de oxalato de cálcio e colênquima do tipo angular no córtex (Figuras 1a, b).

Todas as espécies apresentam variação no contorno do pecíolo e na organização do feixe vascular entre a região distal e proximal, considerando como proximal, a porção do pecíolo que se conecta com o ramo e distal, a porção que se conecta com a lâmina foliar. Em *Pradosia brevipes*, o pecíolo é plano-convexo, apresenta sete estratos de colênquima do tipo angular na região cortical e o feixe vascular tem forma de arco fechado com medula parenquimática, na região proximal é mais achata dorsoventralmente que na região distal (Figuras 1c, d).

Na região proximal, *Pradosia glaziovii* (Figura 1e), *Pradosia kuhlmannii* (Figura 1f), *P. longipedicellata* (Figura 1g) e *P. restingae* (Figura 1h) apresentam pecíolo com contorno circular e feixe vascular em arco fechado, *P. glaziovii* e *P. restingae* apresentam feixes medulares (Figuras 1 e, h). O pecíolo de *Pradosia lactescens* é plano-convexo na região proximal e o feixe vascular é em arco aberto com as extremidades invaginadas (Figura 1i).

Na região mediana, *P. lactescens* (Figura 1j) e *P. glaziovii* (Figura 1e) apresentam pecíolo com contorno côncavo-convexo com prolongamentos na face adaxial e feixe vascular em arco fechado, *P. kuhlmannii* (Figura 1k) e *P. longipedicellata* (Figura 1l) apresentam pecíolos com contorno elíptico. Na região distal, *P. restingae* (Figura 1m), *P. lactescens* (Figura 1n) e *P. glaziovii* (Figura 1o) apresentam pecíolo com contorno côncavo-convexo, *P. glaziovii* e *P. restingae* apresentam feixes acessórios.

Pradosia glaziovii e Pradosia restingae apresentam tricomas malpighiáceos, tricomas com dois braços, em forma de T ou de Y, com um dos braços mais longo e base geralmente curta, no pecíolo (Figuras 1e, h, m, o).

A cutícula é fina nos pecíolos de *Pradosia brevipes*, *Pradosia glaziovii* e *Pradosia lactescens*, tem espessura mediada em *Pradosia longipedicellata* e *Pradosia restingae* e é espessa em *Pradosia kuhlmannii* (Tabela 2).

### 3.2 Lâmina foliar

Em seção transversal, todas as espécies estudadas apresentam folhas com epiderme uniestratificada, mesofilo dorsiventral, nervura central colateral medulada e circundada por

bainha esclerenquimática, a região cortical apresenta três a quatro estratos de colênquima do tipo angular, idioblastos contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio e laticíferos. Os laticíferos também estão presentes na medula da nervura central. Os estômatos encontram-se no mesmo nível da camada epidérmica.

Pradosia glaziovii e Pradosia restingae apresentam feixes medulares na nervura central (Figura 2a, b). Pradosia brevipes (Figura 2c), Pradosia longipedicellata (Figura 2d), Pradosia kuhlmannii (Figura 2e) e Pradosia lactescens (Figura 2f) apresentam medula parenquimática com laticíferos inseridos no centro e ao redor da nervura central. Tricomas são encontrados na face abaxial da região da nervura central de P. glaziovii e de P. restingae (Figuras 2a, b). Em todas as espécies analisadas, o parênquima paliçádico é interrompido por tecido de sustentação na região da nervura central (Figuras 2a-f).

Pradosia longipedicellata apresenta dois estratos de parênquima paliçádico (Figura 3a), P. brevipes (Figura 3b), P. glaziovii (Figura 3c, d), P. kuhlmannii (Figura 3e), P. lactescens (Figuras 3f, g) e P. restingae (Figura 3h) apresentam apenas um estrato de parênquima paliçádico. Pradosia glaziovii e P. lactescens apresentam idioblastos contendo cristais prismáticos na região do parênquima paliçádico (Figuras 3d, g).

Em *P. brevipes*, *P. glaziovii* e *P. restingae*, as células do parênquima esponjoso são alongadas, levemente ramificadas e orientadas com o maior eixo paralelo às células do parênquima paliçádico, ocorrem espaços intercelulares nesta região do mesofilo (Figuras 3b, c, h).

Já em *Pradosia longipedicellata* e *P. kuhlmannii*, o parênquima esponjoso é composto por células também alongadas, porém orientadas com o eixo maior perpendicular ao parênquima paliçádico e de modo que os espaços intercelulares no mesofilo destas espécies sejam reduzidos em relação às demais (Figuras 3a, e).

Em *Pradosia lactescens*, foi observada a presença de células com características de parênquima aquífero – células volumosas, com grandes vacúolos, paredes delgadas e, geralmente, sem cloroplastos – localizadas no mesofilo, junto ao parênquima esponjoso, e ladeando a nervura central (Figuras 2f; 3f, g).

O parênquima paliçádico é organizado de forma justaposta em todas as espécies e o parênquima esponjoso possui espaços intercelulares em *P. brevipes*, *P. glaziovii* e *P. restingae* (Figuras 3b, c, h). As células do parênquima paliçádico são mais estreitas e alongadas em *P. brevipes*, *P. glaziovii* e *P. restingae* (Figuras 3b, c, h; Tabela 2) e mais curtas e largas em *P. kuhlmannii* e *P. lactescens* (Figuras 3e, f, g; Tabela 2). Em *P. glaziovii* e *P.* 

*lactescens* também foi observada a presença de idioblastos contendo cristais prismáticos de oxalato de cálcio no tecido clorofiliano (Figuras 3d, g).

Pradosia brevipes (Figura 3b), P. glaziovii (Figura 3c), P. longipedicellata (Figura 3a) e P. restingae (Figura 3h) apresentam estratos subepidérmicos que variam em número e composição tecidual. P. longipedicellata possui um estrato subepidérmico de tecido colenquimático, já P. brevipes, P. glaziovii e P. restingae possuem até três estratos subepidérmicos de tecido parenquimático.

Fibras esclerenquimáticas dispõem-se em feixes que atravessam o mesofilo desde a epiderme adaxial, ou partindo dos estratos subepidérmicos, até os últimos estratos do parênquima esponjoso formando colunas de sustentação, tais estruturas foram observadas em todas as espécies (Figuras 3b-d, f-h), exceto *P. longipedicellata* e *P. kuhlmannii* (Figuras 3a, e), e podem ou não estar associadas às nervuras secundárias. Em *P. restingae*, além das colunas, foram observados fibras de esclerênquima intercaladas com as células parenquimáticas do estrato subepidérmico (Figura 3h).

O bordo é levemente fletido em *P. lactescens* (Figura 4a) e *P. kuhlmannii* (Figura 4b), fletido em *P. glaziovii* e *P. longipedicellata* (Figuras 4c, d) e não-fletido em *P. brevipes* e *P. restingae* (Figuras 4e, f). Os bordos de todas as espécies também apresentam tecidos de sustentação na região distal bordo, sendo esclerênquima, seguido de três estratos de colênquima em *P. brevipes* e *P. restingae* (Figuras 4e, f), *P. kuhlmannii* e *P. glaziovii* (Figuras 4b, c) apresentam poucas fibras de esclerênquima próximas à região distal do bordo e *P. lactescens* e *P. longipedicellata* (Figuras 4a, d) apresentam apenas colênquima nesta região. Apenas *P. brevipes* (Figura 4e) apresenta laticíferos na extremidade do bordo.

Das espécies estudadas, *P. kuhlmannii* apresenta o mesofilo com menor espessura total e *P. restingae*, o maior. Denota-se uma diferença significativa (p<0,05) entre as espessuras dos mesofilos destas espécies, *P. kuhlmannii* não difere estatisticamente de *P. lactescens* e *P. glaziovii* (p>0,05), entretanto *P. glaziovii* também não difere de *P. longipedicellata* e *P. longipedicellata* é semelhante a *P. restingae* (Tabela 2). *Pradosia brevipes* não foi incluída nas análises estatísticas devido ao número amostral insuficiente. Quanto às dimensões do parênquima paliçádico, não há uma proporcionalidade estatística entre os diâmetros maior e menor das espécies, a exemplo, *P. lactescens* difere de *P. restingae* em relação ao diâmetro maior da paliçada, porém não são diferentes quanto ao diâmetro menor das mesmas células (Tabela 2).

A cutícula forma flanges na região da nervura central e do bordo de todas as espécies (Figuras 2a-f; 4a-f). A espessura varia na face adaxial das espécies estudadas, *P. kuhlmannii* e

P. lactescens apresentam cutícula fina em ambas as faces, P. longipedicellata apresenta cutícula com espessura mediana na face adaxial e fina na face abaxial, P. glaziovii apresenta cutícula espessa na face adaxial e fina na face abaxial e P. brevipes e P. restingae apresentam cutícula espessa na face adaxial e cutícula com espessura mediana na face abaxial. Estatisticamente, é possível observar distinção na espessura da cutícula na face adaxial e no pecíolo (p<0,05). Na face abaxial, apenas P. restingae distingue-se das demais espécies. Pradosia kuhlmannii e P. lactescens são semelhantes na face adaxial (p>0,05) e diferem das demais espécies, P. longipedicellata difere de P. restingae, porém P. glaziovii é semelhante a P. longipedicellata e P. restingae. Quanto ao pecíolo, apenas P. longipedicellata e P. restingae não diferem entre si. (Tabela 2).

A seguinte chave de identificação foi elaborada com os caracteres qualitativos e quantitativos mais importantes para identificar as espécies de *Pradosia* analisadas no presente trabalho, incluindo os resultados analisados no primeiro capítulo.

1 Folha anfiestomática
1' Folha hipoestomática
2 Presença de estrato subepidérmico, ausência de estrias epicuticulares da face adaxial e
cutícula mediana/espessa
2' Ausência de estrato subepidérmico, presença de estrias epicuticulares da face adaxial e
cutícula fina5
3 Cutícula de espessura mediana, estrato subepidérmico colenquimático e dois estratos de
parênquima paliçádico
3' Cutícula espessa, estrato subepidérmico parenquimático e um estrato de parênquima
paliçádico4
4 Bordo fletido, células epidérmicas adaxiais com contorno reto e alta densidade estomática
(≥760/mm²)
4' Bordo não fletido, células epidérmicas adaxiais com contorno curvo e baixa densidade
estomática (<760/mm²)
5 Presença de parênquima aquífero no mesofilo
5' Ausência de parênquima aquífero no mesofilo

### 3.3 Histoquímica

Os testes histoquímicos foram realizados apenas para *Pradosia glaziovii* e *Pradosia lactescens*, devido à falta de disponibilidade de material fresco das demais espécies analisadas no presente estudo.

Foram observados resultados similares nas espécies analisadas. Os polissacarídeos ácidos foram detectados apenas no tecido floemático de *P. glaziovii* (Figuras 5a, b) e de *P. lactescens* (Figuras 5c, d). Grãos de amido foram detectados em células de parênquima da região perivascular formando uma bainha amilífera ao redor dos pecíolos das duas espécies (Figuras 5e, f) e no parênquima paliçádico de *P. lactescens* (Figura 5g). Lignina foi detectada apenas nos tecidos xilemático e esclerenquimático de ambas as espécies (Figuras 5g-k).

Mucilagens foram evidenciadas apenas no tecido vascular de *P. glaziovii* (Figural 51; 6a). Taninos foram evidenciados nos cilindros vasculares e nos mesofilos de ambas espécies (Figuras 6b-e). Lipídios estavam presentes apenas na cutícula e nos laticíferos (Figuras 6f-i; 7a) e o teste de solubilidade em ácido clorídrico determinou que os cristais prismáticos são compostos por oxalato de cálcio.

Substâncias pécticas (Figuras 7b-e) e proteínas (Figuras 7f-i) foram evidenciadas em toda a estrutura foliar, exceto pela ausência ou pouca concentração das substâncias pécticas no xilema, parênquimas paliçádico e esponjoso, cutícula e cristais das espécies analisadas. Foi observada, também, maior concentração das substâncias pécticas na lamela média entre a epiderme e as células subjacentes. Não houve identificação de açúcares redutores em nenhuma das espécies.

Em *Pradosia lactescens*, não houve qualquer reação nas células com características de parênquima aquífero, exceto os testes realizados com azul de Alcian e azul de Comassie devido as já citadas proteínas estruturais e à celulose presente nas paredes celulares que também é corada pelo primeiro corante, o que pode confirmar a natureza de armazenamento de água destas células.

As tabelas 3 e 4 foram elaboradas para melhor visualização dos resultados obtidos.

Tabela 1. Lista dos espécimes de *Pradosia* Liais (Sapotaceae) analisados no presente estudo.

Espécie	Coletor	Voucher	Localidade	Domínio
<i>Pradosia brevipes</i> Ducke	Yoshida-Arns, K. 302	UFP 60312	Formosa do Rio Preto, BA	Cerrado
Pradosia glaziovii (Pierre) T.D.Penn.	Santos, F.S. 487	CEPEC 45756	Santa Cruz Cabrália, BA	Mata Atlântica
	Daneu, L. H. 714*	HUEFS 248191	Uruçuca, BA	Mata Atlântica
	Heringer, E.P. 1007	PEUFR 5554	Recife, PE	Mata Atlântica
Pradosia kuhlmannii Toledo	Almeida, E.S. 45	HUEFS 239533	Uruçuca, BA	Mata Atlântica
	Santos, F.S. 656	CEPEC 42489	Santa Cruz Cabrália, BA	Mata Atlântica
	Pacheco, L. M. 117	ALCB 049740	Santa Cruz Cabrália, BA	Mata Atlântica
	Oliveira, M. 1117	UFP 36101	Ibateguara, AL	Mata Atlântica
Pradosia lactescens (Vell.) Radlk.	Almeida, E.S. 35	HUEFS 239526	Uruçuca, BA	Mata Atlântica
`	Popovkin, A.V. 1564	HUEFS 182492	Entre Rios, BA	Mata Atlântica
	Cardoso, D. 1610	HUEFS 116445	Amargosa, BA	Mata Atlântica
	Daneu, L.H. 715*	HUEFS 248192	Maraú, BA	Restinga
	Oliveira, M. 1484	UFP 38561	Ibateguara, AL	Mata Atlântica
	Silva, H.C.H. 205	PEUFR 42061	Igarassu, PE	Mata Atlântica
	Landim, M. 1212	ASE 7780	Santa Luzia do Itanhy, SE	Mata Atlântica
Pradosia longipedicellata Alves-Araújo & M.Alves	Jardim, J.G. 92	HUEFS 114101	Una, BA	Mata Atlântica
	Queiróz, E.P. 1200	HUEFS 150688	Salvador, BA	Mata Atlântica
	Queiróz, L.P. 13816	HUEFS 142032	Maraú, BA	Restinga
	Santos, T.S. dos 4554	CEPEC 47499	Maraú, BA	Restinga
<i>Pradosia restingae</i> Terra-Araújo	Amaral, C. 41	ASE 6999	Barra dos Coqueiros, SE	Restinga
···· <b>y</b> -	Landim, M. 1188	ASE 7430	Santo Amaro das Brotas, SE	Restinga
	Alves-Araújo, A. 694	UFP 63230	Tibau do Sul, RN	Restinga

<sup>\*</sup>Material utilizado para histoquímica.

**Tabela 2.** Medidas da espessura da cutícula, mesofilo e dimensões do parênquima paliçádico das espécies de *Pradosia* Liais estudadas com seus respectivos desvios padrão.

Egnésis	Cu	tícula ±SD (	(µm)	Mesofilo ±SD	Parênquima paliçádico ±SD (μm)						
Espécie	Adaxial	Abaxial	Pecíolo	(µm)	Diâmetro menor	Diâmetro maior					
Pradosia brevipes Ducke	4,2±0	2,6±0	4,6±0	139,3±0	8,8±0	68±0					
Pradosia glaziovii (Pierre) T.D.Penn.	5,3±2ac	1,4±1a	2,3±1a	$107,1\pm15ab$	8±1a	77,7±12a					
Pradosia kuhlmannii Toledo	1,6±1b	1,2±1a	1,4±1b	74,8±1a	16±1b	$28,1\pm1b$					
Pradosia lactescens (Vell.) Radlk.	1,2±1b	1±0a	1,1±1c	82±6a	9,4±1ad	37,5±1bc					
Pradosia longipedicellata Alves-Araújo & M.Alves	3,7±1a	1,8±1a	3,5±0d	154,1±28bc	13,3±c	50,4±2c					
Pradosia restingae Terra-Araújo	6,2±1c	3,5±1b	3,8±1d	199±24c	9,6±1d	73,8±1a					

Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**Tabela 3.** Análise histoquímica de *Pradosia glaziovii* (Pierre) T.D.Penn. Legenda: **Co** = colênquima; **BA** = bainha amilífera; **Xi** = xilema; **Fl** = floema; **Es** = esclerênquima; **Me** = medula; **La** = latíferos; **Cu** = cutícula; **Cr** = cristais; **PP** = parênquima paliçádico; **PE** = parênquima esponjoso; **PA** = parênquima aquífero; **Ep** = epiderme; **Tr** = tricomas. (-) = ausência de metabólito; (+) = presença de metabólito.

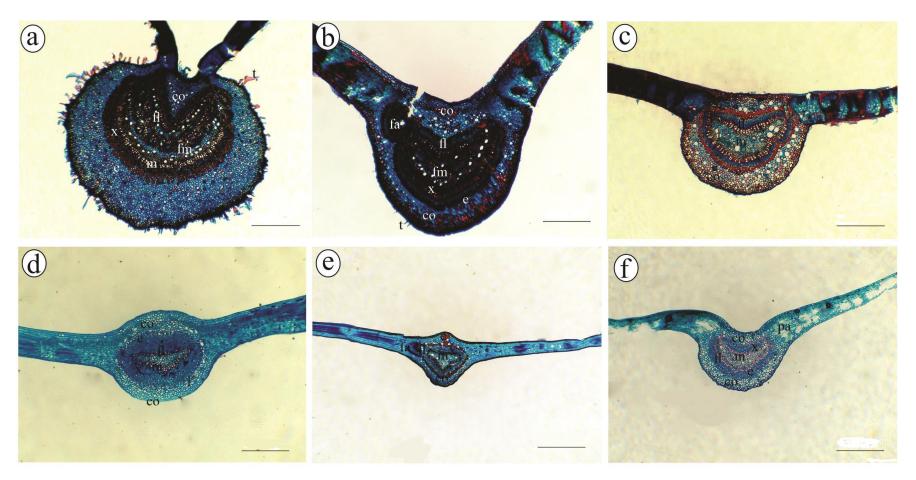
C	Para santa	Pecíolo											Lâmina foliar												
Composto	Reagente	Co	BA	Xi	Fl	Es	Me	Ер	La	Cu	Tr	Cr	PP	PE	Ер	Xi	Fl	Es	Me	La	BA	Co	Cr	Tr	Cu
Açúcares redutores	Reagente de Fehling	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	_
Amido	Lugol	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Alliuo	Cloreto de zinco iodado	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucilagens	Ácido tânico + Cloreto férrico	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
Substâncias pécticas	Vermelho de Rutênio	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Proteínas	Azul de Comassie	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
T	Floroglucinol + Ácido clorídrico	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Lignina	Cloreto de zinco iodado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polissacarídeos ácidos	Azul de Alcian	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninas	Cloreto férrico + Carbonato de sódio	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	Dicromato de Potássio	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Commente o lima filiana	Sudan III	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Compostos lipofílicos	Sudan IV	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Oxalato de cálcio	Ácido clorídrico	_	_	-	-	-	-	-	-	-	-	+	_	_	-	-	-	-	-	-	_	_	-	-	+

**Tabela 4.** Análise histoquímica de *Pradosia lactescens* (Vell.) Radlk. Legenda: **Co** = colênquima; **BA** = bainha amilífera; **Xi** = xilema; **Fl** = floema; **Es** = esclerênquima; **Me** = medula; **La** = latíferos; **Cu** = cutícula; **Cr** = cristais; **PP** = parênquima paliçádico; **PE** = parênquima esponjoso; **PA** = parênquima aquífero; **Ep** = epiderme; **Tr** = tricomas. (-) = ausência de metabólito; (+) = presença de metabólito.

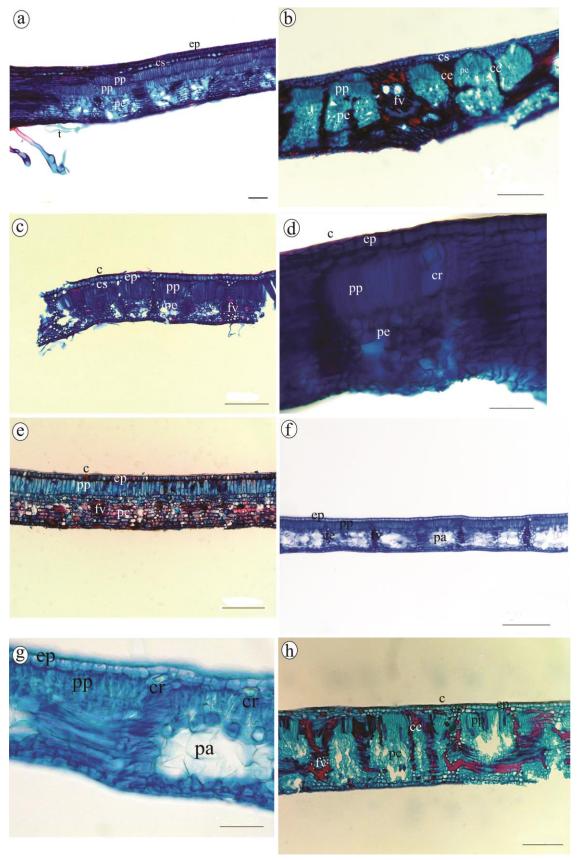
<b>C</b> 4	D 4	Pecíolo											Lâmina foliar												
Composto	Reagente	Co	BA	Xi	Fl	Es	Me	Ep	La	Cu	Tr	Cr	PP	PE	Ep	Xi	Fl	Es	Me	La	BA	Co	Cr	Pa	Cu
Açúcares redutores	Fehling	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	_
Amido	Lugol	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aiiiido	Cloreto de zinco iodado	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mucilagens	Ácido tânico + Cloreto férrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substâncias pécticas	Vermelho de Rutênio	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Proteínas	Azul de Comassie	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-
Lionino	Floroglucinol + Ácido clorídrico	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Lignina	Cloreto de zinco iodado	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Polissacarídeos ácidos	Azul de Alcian	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninas	Cloreto férrico + Carbonato de sódio	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	Dicromato de Potássio	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Limídica	Sudan III	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Lipídios	Sudan IV	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Oxalato de cálcio	Ácido clorídrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-



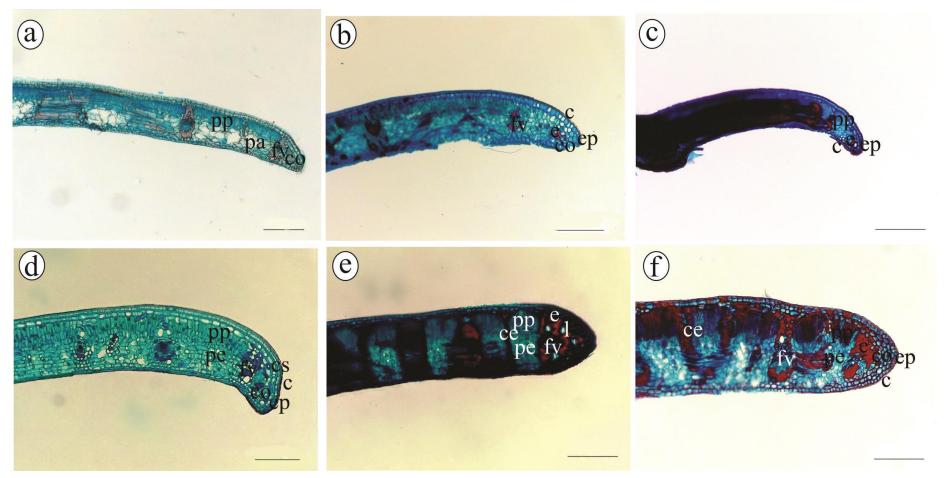
**Figura 1.** Seção transversal do pecíolo das espécies de *Pradosia* Liais analisadas, destacando as principais modificações na morfologia e na organização do feixe vascular. **a-b.** Detalhe: cristais prismáticos, laticíferos e medula vascular presentes em todas as espécies analisadas. **c-d.** *Pradosia brevipes* **c.** Região proximal. **d.** Região mediana-distal. **e-f.** *Pradosia glaziovii.* **e.** Região proximal-mediana. **f.** Região distal. **g-h.** *Pradosia kuhlmannii.* **g.** Região proximal. **h.** Região mediana-distal. **i-k.** *Pradosia lactescens.* **i.** Região proximal. **j.** Região mediana. **k.** Região distal. **l-m.** *Pradosia longipedicellata.* **l.** Região proximal. **m.** Região mediana-distal. **n-o.** *Pradosia restingae.* **n.** Região proximal-mediana. **o.** Região distal. **Legenda: co** = colênquima; **e** = esclerênquima; **fa** = feixes acessórios; **fl** = floema; **fm** = feixes medulares; **l** = laticíferos; **m** = medula; **t** = tricoma; **x** = xilema.



**Figura 2.** Seção transversal da nervura central das folhas das espécies de *Pradosia* Liais estudadas. **a.** *Pradosia glaziovii*. **b.** *Pradosia restingae*. **c.** *Pradosia brevipes*. **d.** *Pradosia longipedicellata*. **e.** *Pradosia kuhlmannii*. **f.** *Pradosia lactescens*. **Legenda: co** = colênquima; **e** = esclerênquima; **fa** = feixes acessórios; **fl** = floema; **fm** = feixe medular; **m** = medula; **pa** = parênquima aquífero; **t** = tricoma; **x** = xilema.



**Figura 3.** Seção transversal do mesofilo foliar das espécies de *Pradosia* Liais estudadas. **a.** *Pradosia longipedicellata.* **b.** *Pradosia brevipes.* **c.** *Pradosia glaziovii.* **d.** Detalhe: idioblasto contendo cristal prismático no parênquima paliçádico de *P. glaziovii.* **e.** *Pradosia kuhlmannii.* **f.** *Pradosia lactescens.* **g.** Detalhe: idioblastos contendo cristais prismáticos no parênquima paliçádico de *P. lactescens* e parênquima aquífero. **h.** *Pradosia restingae.* **Legenda: c** = cuticula; **ce** = coluna de esclerênquima; **cs** = estrato subepidérmico; **ep** = epiderme; **fv** = feixe vascular; **pa** = parênquima aquífero; **pe** = parênquima esponjoso; **pp** = parênquima paliçádico. **Barras:** 200 μm; **Figs. d, g** = 50 μm



**Figura 4.** Seção transversal do bordo foliar das espécies de *Pradosia* Liais estudadas. **a.** *Pradosia kuhlmannii*. **b.** *Pradosia lactescens*. **c.** *Pradosia glaziovii*. **d.** *Pradosia longipedicellata*. **e.** *Pradosia brevipes*. **f.** *Pradosia restingae*. **Legenda: ce** = coluna de esclerênquima; **co** = colênquima; **e** = esclerênquima; **pa** = parênquima aquífero; **pe** = parênquima esponjoso; **pp** = parênquima paliçádico. **Barras** = 200 μm

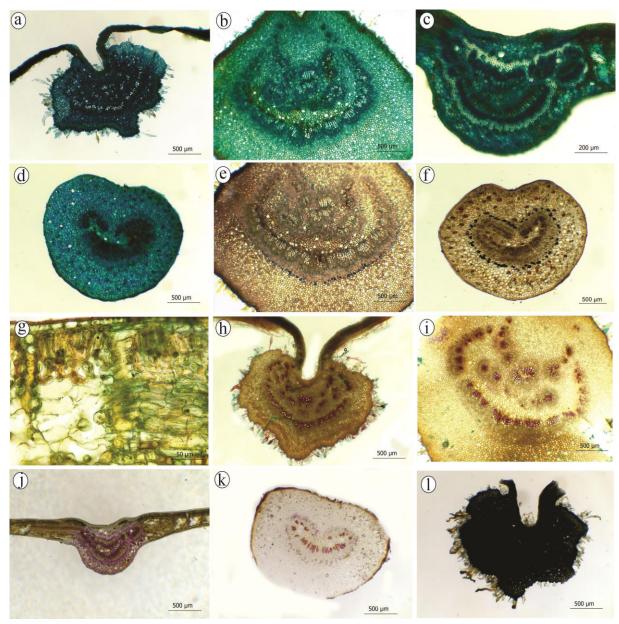
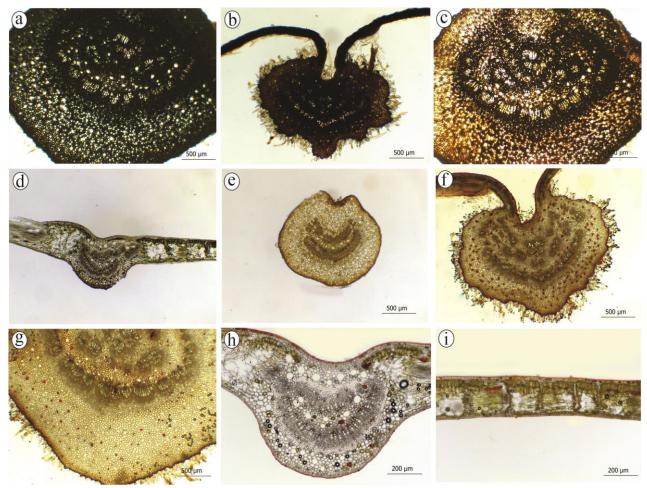
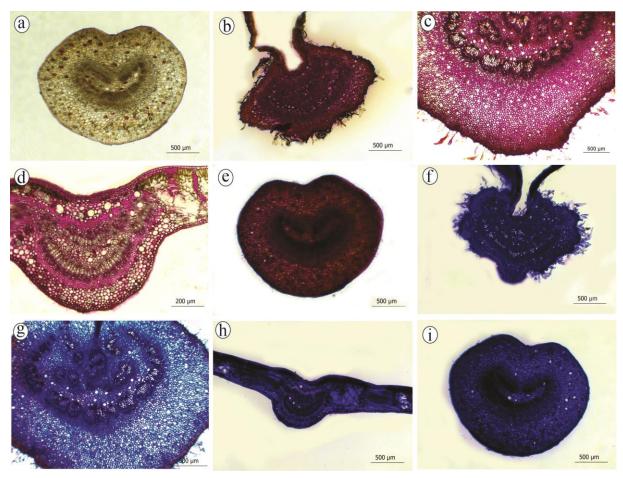


Figura 5. Testes histoquímicos em seções transversais do pecíolo e região mediana foliar de *Pradosia* Liais. a-d. Reação com Azul de Alcian evidenciando os polissacarídeos ácidos no floema (em azul escuro). a-b. *Pradosia glaziovii*. c-d. *Pradosia lactescens*. e-f. Reação com Lugol evidenciando os grãos de amido (em azul escuro). e. *Pradosia glaziovii*. f. *Pradosia lactescens*. g. Reação em *Pradosia lactescens* com Cloreto de Zinco iodado evidenciando os grãos de amido (em preto), lignina (em amarelo) e celulose (em cinza). h-k. Reação com Floroglucinol e Ácido clorídrico evidenciando lignina no xilema (em vermelho). h-i. *Pradosia glaziovii*. j-k. *Pradosia lactescens*. Seção transversal da região mediana da folha. l. Reação em *Pradosia glaziovii* com Ácido tânico e Cloreto de ferro III evidenciando as mucilagens no tecido vascular (em preto).



**Figura 6.** Testes histoquímicos em seções transversais da região mediana foliar e do pecíolo de *Pradosia* Liais. **a.** Reação em *Pradosia glaziovii* com Ácido tânico e Cloreto de ferro III evidenciando as mucilagens no tecido vascular (em preto). **b-d.** Reação com Cloreto de ferro III e Carbonato de sódio evidenciando os taninos no tecido vascular (em preto ou verde escuro). **b-c.** *Pradosia glaziovii*. **d.** *Pradosia lactescens*. **e.** Reação em *Pradosia lactescens* com Dicromato de potássio também evidenciando os taninos no tecido vascular e no mesofilo (em castanho escuro). **f-g.** Reação em *Pradosia glaziovii* com Sudan IV evidenciando os compostos lipofílicos na cutícula e nos laticíferos (em vermelho). **h-i.** Reação em *Pradosia lactescens* com Sudan III evidenciando os compostos lipofílicos na cutícula e nos laticíferos (em amarelo).



**Figura 7.** Testes histoquímicos em seções transversais da região mediana foliar e do pecíolo de *Pradosia* Liais. **a.** Reação em *Pradosia lactescens* com Sudan III evidenciando os compostos lipofílicos na cutícula e nos laticíferos (em amarelo). **b-e.** Reação com Vermelho de Rutênio evidenciando as substâncias pécticas na lamela média inclusive no tecido esclerenquimático (em rosa). **b-c.** *Pradosia glaziovii.* **d-e.** *Pradosia lactescens.* **f-i.** Reação com Azul de Comassie evidenciando as proteínas estruturais. **f-g.** *Pradosia glaziovii.* **h-i.** *Pradosia lactescens.* 

## 4 DISCUSSÃO

Solereder (1908), Metcalfe e Chalk (1950) citam presença de laticíferos e presença de cristais prismáticos para os pecíolos das espécies de Sapotaceae. Os tricomas malpighiáceos também são característicos da família (THEOBALD et al., 1979), portanto o presente estudo corrobora com esses autores ao identificar tais caracteres nas espécies analisadas.

Esau (1974) afirma que os pecíolos das folhas das dicotiledôneas apresentam grande variedade na organização do sistema vascular. Tal variação somada ao formato do contorno do pecíolo forneceram subsídios para a caracterização e taxonomia de gêneros de Melastomataceae (REIS et al., 2004) e de espécies de Euphorbiaceae (TADAVI; BHADANI, 2014). Para os gêneros da família Sapotaceae, o arranjo do cilindro vascular e o contorno, bem como as variações observadas em um mesmo pecíolo, também constituíram importantes caracteres que suportam a taxonomia de *Pouteria* Aublet., *Manilkara* Adans e *Diploon* Cronquist (MONTEIRO et al., 2007a; ALMEIDA JR. et al., 2012; LIMA et al., 2019). Portanto, como demonstrado no presente estudo, a estrutura anatômica do pecíolo também pode ser utilizada como caráter de diferenciação interespecífica para o gênero *Pradosia* Liais, auxiliando na sua taxonomia.

Características como mesofilo dorsiventral, presença de bainha de esclerênquima e de laticíferos no mesofilo e associados à nervura central e aos feixes vasculares foram descritas para as folhas das espécies de Sapotaceae por Solereder (1908), Metcalfe e Chalk (1950), Monteiro et al. (2007a), Almeida Jr. et al. (2012) e Lima et al. (2019).

Quase todas as espécies estudadas apresentam alguma estrutura com função de sustentação foliar. *Pradosia brevipes*, *P. glaziovii*, *P. longipedicellata* e *P. restingae* apresentam os estratos subepidérmicos como caráter xeromórfico (CUTLER et al., 2011), Metcalfe e Chalk (1950) também citam a presença de hipoderme como um caráter frequentemente presente nas folhas de Sapotaceae e que, sua ocorrência possui valor taxonômico para a família, estudos de ontogenia podem confirmar se este é o caso para as folhas de *Pradosia*.

As colunas de esclerênquima inseridas no mesofilo de *Pradosia brevipes*, *P. lactescens e P. restingae* podem ser interpretadas como esclerofilia de acordo com Edwards et al. (2000). Tais características juntamente com uma cutícula espessa podem ser uma resposta a regiões que são expostas a grandes períodos de seca, forte luminosidade e solos pobres em nutrientes (DICKISON, 2000; CUTLER et al., 2011), como restingas e savanas, o que

também pode explicar características xeromórficas em plantas de floresta (BOEGER et al., 1997), como *P. lactescens*.

Segundo Rao (1959), as fibras esclerenquimáticas são amplamente distribuídas na família Sapotaceae e estas fibras são comumente encontradas próximos aos feixes vasculares devido à sua origem nas células procambiais inseridas no parênquima esponjosos. As colunas de esclerênquima, são comumente encontradas em gramíneas (WILSON et al., 1989; BAUER et al., 2008), entretanto poucos são os registros de tais estruturas em dicotiledôneas, Wilkinson (1978) encontrou colunas de esclerênquima em folhas de espécies da tribo *Coscinieae* Hook. f. & Thomas (Menispermaceae) e Hussin et al. (1996) encontrou colunas constituídas de parênquima em folhas do gênero *Mallotus* Lour (Euphorbiaceae). Para a família Sapotaceae, apenas Monteiro et al. (2007a) observou que, em algumas espécies de *Pouteria*, há ocorrência de extensões colenquimáticas das bainhas dos feixes transcorrentes e destacou que tais extensões contribuem para a sustentação foliar.

Segundo Cutler et al. (2011), o padrão de organização do sistema vascular no mesofilo é definido geneticamente e não sofre intervenções da variação ambiental, podendo então ser utilizado como caráter diagnóstico na distinção das espécies de *Pradosia*, assim como utilizado para caracterizar e distinguir espécies de *Pouteria*, *Manilkara* e *Diploon* (MONTEIRO et al., 2007a; ALMEIDA JR. et al., 2012; LIMA et al., 2019).

Não foi encontrado, em literatura, o registro da presença de células de parênquima aquífero em plantas não suculentas (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2012), como foi observado em *Pradosia lactescens* no presente trabalho. Estudos mais aprofundados poderão elucidar esta questão e confirmar o conteúdo de tais células. Entretanto esta característica apresenta valor taxonômico para a espécie, uma vez que não foi observada nos demais táxons estudados.

Segundo Monteiro et al. (2007b), as estruturas secretoras encontradas na família Sapotaceae são tricomas, idioblastos secretores, idioblastos cristalíferos, idioblastos oleíferos e laticíferos do tipo articulado. Dessas, apenas os laticíferos foram identificadas nas folhas de *Pradosia*. Os laticíferos são considerados um importante canal de secreção interno uma vez que neles podem conter diversos tipos de metabólitos (CUTLER et al., 2011) e são as estruturas secretoras mais comumente encontradas nos representantes da família (SOLEREDER, 1908; METCALFE; CHALK, 1950; MONTEIRO et al., 2007a, b; ALMEIDA JR. et al., 2012; LIMA et al., 2019). Sua presença nas plantas também pode estar relacionada à defesa contra a predação (DICKISON, 2000, MONTEIRO et al., 2007b).

O colênquima funciona como tecido mecânico e garante a sustentação da estrutura (FAHN, 1990; CUTLER et al., 2011), a presença do tecido na região adaxial da nervura central e na região distal do bordo em todas as espécies estudadas, chama atenção para mecanismos desenvolvidos por estas espécies para suportarem períodos de escassez hídrica.

O número de estratos de parênquima paliçádico, como encontrado em *Pradosia longipedicellata*, pode incrementar a eficiência fotossintética das plantas (FAHN, 1990) e a organização dos parênquimas clorofilianos resultante nos espaços intercelulares (DICKISON, 2000), facilita um rápido intercâmbio gasoso e aumenta a superfície de contato das células com o ar e, também, pode estar relacionado com a eficiência fotossintética da planta (FAHN, 1990), o que explica a disposição do parênquima esponjoso em *P. brevipes*, *P. glaziovii* e *P. restingae*. A presença de estômatos na superfície adaxial da folha, além de aumentar a eficiência fotossintética (FAHN, 1990), pode ainda facilitar a aeração das folhas e aumentar a condutância máxima de CO<sub>2</sub> (MOTT et al., 1982).

Os caracteres xeromórficos aqui apontados, como estrato subepidérmico, parênquima aquífero, colunas de esclerênquima, cutícula espessa e estômatos na face adaxial, demonstram as pré-adaptações à ambientes secos e de solos pobres sugeridas por Pillon et al. (2010) e destacadas para *Pradosia* por Terra-Araújo et al. (2015). Entretanto alguns desses caracteres também podem ser encontrados em plantas mesófitas, como dois estratos de parênquima paliçádico e bainha de esclerênquima em torno dos feixes vasculares (CUTLER et al., 2011), o que torna difícil a definição de *P. glaziovii*, *P. kuhlmannii*, *P. lactescens* e *P. longipedicellata*, apesar desta última ocorrer predominantemente em zonas de restinga (TERRA-ARAÚJO et al., 2016). Entretanto pode-se confirmar os caracteres xeromórficos de *P. brevipes* e *P. restingae* quando levado em consideração, além da anatomia foliar, os ambientes em que ocorrem, a morfologia externa e os recentes estudos biogeográficos realizados por Terra-Araújo et al. (2015).

Os testes histoquímicos realizados identificaram metabólitos primários e secundários. Segundo Kreis et al. (2017), os metabólitos primários que são sintetizados por vias comuns, desde bactérias até o homem, e são essenciais para o crescimento e desenvolvimento do organismo, tratam-se, portanto, de compostos destinados à manutenção da vida e à reprodução. Já os metabólitos secundários não exercem função vital para o organismo, tem vias biossintéticas específicas e podem ser originados a partir de mutações ou novas organizações dos genes do metabolismo primário (KREIS et al., 2017).

Os metabólitos primários identificados nas espécies estudadas foram: polissacarídeos (amido, substâncias pécticas, mucilagens e polissacarídeos ácidos), compostos lipofílicos e

proteínas. O metabólitos secundários identificados foram os cristais, taninos e lignina (FAHN, 1988).

Ainda segundo Fahn (1988), dentre os compostos lipofílicos exsudados pelas plantas, estão os terpenos, lipídios, ceras e flavonoides, visto que os laticíferos são as únicas estruturas secretoras da família (MONTEIRO et al., 2007b), como mencionado no item anterior, e onde houve evidência de compostos lipofílicos, além da cutícula. Torna-se interessante aprofundar os estudos específicos sobre a composição do látex dos representantes não só de *Pradosia* como da família como um todo, dado o seu potencial medicinal e cosmético, já comprovado por estudos fitoquímicos (CHARROUF; GUILLAUME, 2002; KUSHIMA et al., 2005; BOTSARIS, 2007; BAKY et al., 2016), além da importância econômica já conhecida (MONTEIRO et al., 2007b).

Os compostos fenólicos são encontrados em todas as partes das plantas (HASSAAN et al, 2014) e apresentam diversas atividades biológicas e farmacológicas conhecidas tais como atividade bactericida, fungicida, antioxidante, anticarcinogênica, anti-inflamatória, entre outras (BAKY et al., 2016). Os taninos não fogem à regra, para as plantas, tais compostos são frequentemente encontrados em plantas xerófitas (PYYKKÖ, 1966) e é um importante aliado contra a herbivoria promovendo uma alteração no sabor da planta (MELLO; SANTOS, 2017). Pyykkö (1966), Esau (1974) e Fahn (1988) ressaltaram que a presença de tais substâncias pode estar relacionada à proteção contra a dessecação, apodrecimento e ataques por fungos e bactérias. Plantas ricas em taninos são utilizadas, na medicina popular para o tratamento de diversas doenças como problemas gástricos, renais, reumatismos e hipertensão (MELLO; SANTOS, 2017).

A presença de taninos nas espécies estudadas pode ser considerada mais uma característica xeromórfica dada a sua função para o vegetal e adicionado às demais características já discutidas anteriormente.

Os resultados encontrados para a composição química dos cristais das espécies estudadas corroboram com Metcalfe e Chalk (1950).

Quanto à ausência de reação nas células com características de parênquima aquífero, em *Pradosia lactescens*, pode-se confirmar o conteúdo celular, uma vez que água e sais inorgânicos comuns como sódio e cálcio, que são comumente encontrados no fluido vacuolar (DICKISON, 2000), não reagiriam com as substâncias utilizadas no presente estudo.

### **5 CONCLUSÕES**

Os resultados aqui encontrados apresentam grande importância para o grupo, podendo solucionar os problemas de identificação, auxiliar na compreensão da evolução do grupo, bem como servir como subsídio para estudos para o gênero e para a família. Os dados coletados a partir das técnicas de anatomia vegetal complementam o primeiro capítulo deste trabalho. Apesar das análises histoquímicas terem mostrado poucos indícios de potencial para exploração econômica das folhas de *Pradosia*, ainda pode ser um pontapé para a retomada de estudos de bioprospecção de outros órgãos como caule e frutos, uma vez que trabalhos com este foco são realizados em outros países.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA-JR, E. B. de et al. Leaf morphology and anatomy of Manilkara Adans.(Sapotaceae) from northeastern Brazil. **Plant systematics and evolution**, v. 299, n. 1, p. 1-9, 2012.

ALVES-ARAÚJO, A.; ALVES, M. Two new species and a new combination of Neotropical Sapotaceae. Brittonia, v. 64, n. 1, p. 23-29. 2012.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal.** 3. ed. rev. e ampl. Viçosa: UFV, 2012. 404 p.

BAKY, M. H. et al. A review on phenolic compounds from family Sapotaceae. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 5, n. 2, p. 280, 2016.

BARBOSA, A. C. F. et al. A new method to obtain good anatomical slides of heterogeneous plant parts. **IAWA Journal**, v. 31, n. 4, p. 373-383, 2010.

BAUER, M de O. et al. Características anatômicas e valor nutritivo de quatro gramíneas predominantes em pastagem natural de Viçosa, MG. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 1, p. 9-17, 2008.

BOEGER, M. R. T.; ALVES DE BRITO, C. J. F.; NEGRELLE, R. R. B. Relação entre características morfoanatômicas foliares e esclerofilia em oito espécies arbóreas de um trecho de floresta pluvial atlântica. **Brazilian Archives os Biology and Technology**, v. 40, n. 2, p. 493-503, 1997.

BOTSARIS, A. S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, n. 1, p. 18, 2007.

CARNEIRO, C.E.; ALVES-ARAUJO, A.; ALMEIDA JR., E.B. Sapotaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. (<a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217</a>). 2015. Último acesso: 16 mai 2019.

CHARROUF, Z.; GUILLAUME, D. Secondary metabolites from *Argania spinosa* (L.) Skeels. **Phytochemistry Reviews**, v. 1, n. 3, p. 345-354, 2002.

CRIA (Centro de Referência e Informação Ambiental). **Specieslink - simple search**. Disponível em <a href="http://www.splink.org.br/index">http://www.splink.org.br/index</a> (Acesso em 18/07/2017).

CUTLER, D. F.; BOTHA. T.; STEVENSON, D. W. Anatomia vegetal - uma abordagem aplicada. Porto Alegre: Artmed, 2011. 304p.

DICKISON, W.C. **Integrative plant anatomy**. San Diego: Harcourt Academic Press, 2000. 533p.

EDWARDS, C.; READ, J.; SANSON, G. Characterising sclerophylly: some mechanical properties of leaves from heath and forest. **Oecologia**, v. 123, n. 2, p. 158-167, 2000.

ESAU, K; MORRETES, B. L de. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher, 1974. 293 p.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New phytologist**, v. 108, n. 3, p. 229-257, 1988.

FAHN, A. Plant Anatomy. 4th ed. Oxford: Pergamon Press, 1990. 588p.

FARIA, A. D. et al. Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 185, n. 1, p. 27-55, 2017.

FIGUEIREDO, A. C. S. et al. **Histoquímica e citoquímica em plantas**: princípios e protocolos. 1ª ed. Lisboa: Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007.

HASSAAN, Y. et al. Evaluation of plant phenolic metabolites as a source of Alzheimer's drug leads. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 843263, 2014.

HUSSIN, K. H. et al. Comparative leaf anatomical studies of some *Mallotus* Lour.(Euphorbiaceae) species. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 122, n. 2, p. 137-153, 1996.

JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. New York: Mc Graw Hill Book, 1940. 194p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Soropédica: EDUR, 1997. 198p.

KREIS, W.; MUNKET, J.; PÁDUA, R. M. de. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. IN: SIMÕES et al. (Org). **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 147-166.

KUSHIMA, H. et al. Gastroprotective activity of Pradosia huberi on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulphydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 1-3, p. 61-67, 2005.

LIMA, R.G. V. N.; LIMA, L.F.; FERREIRA, A. C.; ARAÚJO, J. S.; ZICKEL, C. S. Leaf Morphoanatomy of *Diploon* Cronquist (Sapotaceae Juss.) **Biota Neotropica**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2019.

LUQUE, R.; SOUSA, H. C. de; KRAUS, J. E. Métodos de coloração de Roeser (1972): modificado - e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. **Acta Botanica Brasilica.** v. 10, n. 2, p. 199-212, 1996.

MACÊDO, N. A. de. **Manual de Técnicas em histologia vegetal**. 1. ed. Feira de Santana: Editora UEFS, 1997. 45p.

MARIN, A. M. P.; SANTOS, A. P. S. dos. **O Semiárido Brasileiro**: riquezas, diversidades e saberes. 2. Ed. Campina Grande: INSA/MCTI, 2014.

MELLO, J. C. P de; SANTOS, S da C. Taninos. In: SIMÕES et al. (Org.). **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. p. 235-248.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons:** leaves, stem, and wood in relation with notes on economic uses, v. II. Oxford: Clarendon Press, 1950. 775p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**: vol. 2. Wood structure and conclusion of the general introduction. Oxford, Clarendon Press, 1983. 308p.

MONTEIRO, M. H. D. A.; ANDREATA, R. H. P.; NEVES, L. J. Taxonomia e anatomia das espécies de *Pouteria* Aublet (Sapotaceae) do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas, Botânica,** V. 58, n. 7, p. 7-118. 2007a.

MONTEIRO, M. H. D. A.; ANDREATA, R. H. P.; NEVES, L. J. Estruturas secretoras em Sapotaceae. **Pesquisas, Botânica**, v. 58, n. 1, p. 253-262. 2007b.

MOTT, K. A.; GIBSON, A. C.; O'LEARY, J. W. The adaptive significance of amphistomatic leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 5, n. 6, p. 455-460, 1982.

PENNINGTON, T. D. Sapotaceae. In: **Flora Neotropica**: Monograph 52. New York: The New York Botanical Garden, v. 771, 1990. 770p.

PILLON, Y. et al. Ultramafic soils and species sorting in the flora of New Caledonia. **Journal of Ecology**, v. 98, n. 5, p. 1108-1116, 2010.

PYYKKÖ, M. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. In: **Annales Botanici Fennici**. Societas zoologica botanica fennica vanamo, 1966. p. 453-622.

RADFORD, A. E.; DICKINSON, W. C.; MASSEY, J. R. & BELL, C. R. Vascular plant systematics. Harper and Row, New York. 1974.

RAO, T. A. Origin and Development of Sclerechymatous Idioblasts in the Leaf of *Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard. **Botanical Survey of India**, v. 7, p. 27-31, 1959.

REGINATTO, F. H. Introdução à análise fitoquímica In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia:** do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. p. 69-82.

REIS, C. dos; PROENÇA, S. L.; SAJO, M. das G. Vascularização foliar e anatomia do pecíolo de Melastomataceae do cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 4, p. 987-999, 2004.

SMITH, F. H.; SMITH, E. C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **American Journal of Botany**, v. 29, n. 6, p. 464-471, 1942.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons.** Oxford, Clarendom Press. 1908, 1182p.

TADAVI, S. C.; BHADANE, V. V. Taxonomic significance of the rachis, petiole and petiolule anatomy in some Euphorbiaceae. **Biolife**, v. 2, n. 3, p. 850-857, 2014.

TERRA-ARAUJO, M. H. et al. *Pradosia restingae* sp. nov. from the Atlantic forest, Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v. 31, n. 4, p. 437-441, 2013.

TERRA-ARAUJO, M. H. et al. Species tree phylogeny and biogeography of the Neotropical genus Pradosia (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 87, p. 1–13, 2015.

TERRA-ARAUJO, M. H.; FARIA, A. D. de; SWENSON, U. A Taxonomic Update of Neotropical Pradosia (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Systematic Botany**, v. 41, n. 3, p. 634-650, 2016.

THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L.; ROLLINS, R. C. Trichome description and classification. In: METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons:** systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject, v. 1. Oxford: Clarendon Press, p. 40-54, 1979.

WILKINSON, H. P. Leaf anatomy of the tribe *Coscinieae* Hook. f. & Thoms. (Menispermaceae). **Boletim de Kew**, v. 32, n. 2, p. 347-360, 1978.

WILSON, J. R. et al. Particle size reduction of leaves of a tropical and temperate grass by cattle. I. Effect of chewinf during eating and varying times of digestion, **Grass and Forage Science**, v. 44, n. 1, p. 55-63, 1989.

# **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os dados apresentados no presente estudo demonstram a importância da anatomia vegetal na identificação e classificação de táxons pertencentes à família Sapotaceae, grupo este que, frequentemente, gera confusões para delimitação de suas espécies e gêneros devido às homoplasias morfológicas.

Além disso, os resultados obtidos através das análises de superfície foliar e seções transversais mostram as características adaptativas micromorfológicas que permitiram a migração de espécies do gênero, cuja maioria dos representantes são árvores encontradas no interior de matas ombrófilas, através da barreira seca Caatinga-Cerrado desde a Floresta Amazônica até à Mata Atlântica.

O exame da epiderme apontou para a ornamentação epicuticular, posição e densidade dos tricomas e estômatos, tipo de estômatos encontrados e a presença de cristais prismáticos como os caracteres mais significativos para a diagnose das espécies estudadas. Já a análise da estrutura interna mostrou que o número de estratos do parênquima paliçádico, a presença de estrato subepidérmico, colunas de sustentação no mesofilo, a organização do tecido vascular na nervura central e no pecíolo e o contorno deste último compõem dados essenciais, não só para a distinção das espécies, como para uma maior compreensão do processo evolutivo do gênero.

A partir das análises histoquímicas e com base bibliográfica, recomenda-se estudos complementares de cunho de histoquímica quantitativa e fitoquímica para melhor determinação de teores de compostos fenólicos e lipofílicos não só das folhas, mas também de outros órgãos como caule e frutos.