

ANATOMIA FOLIAR DE *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae)¹

Alisson Rodrigo Souza Reis¹, Raimunda Conceição de Vilhena Potiguara², Luciane Pereira Reis³

1. Professor Doutor da Faculdade de Engenharia Florestal Universidade Federal do Pará/ Campus Altamira.
2. (In Memoriam) Doutora da Instituição Museu Paraense Emílio Goeldi
3. Graduando do Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Pará - UFPA/Campus Altamira
e-mail de contato: alissonreis@ufpa.br

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

Na Região Amazônica o gênero *Aspidosperma* Mart. & Zucc. é amplamente utilizado para diversos fins: madeireiro, fitoterápicos, entre outros. Porém este gênero apresenta problemas taxonômicos, devido suas semelhanças morfológicas, ocasionando erros na identificação, como é o caso de *Aspidosperma carapanauba*, *A. desmanthum*, *A. excelsum* e *A. spruceanum*. Com isso, o presente trabalho tem por objetivo descrever as estruturas anatômicas das folhas das espécies citadas, corroborando para distinção correta dos taxa. Para isso, as folhas adultas foram fixadas em F. A. A. 70% e acondicionadas em álcool 70%. Seccionadas transversalmente a mão livre e em micrótomo, coradas em azul de astra e fucsina básica, além da diafanização e dissociação das epidermes. Utilizando-se a microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura para as ilustrações. As espécies apresentam folhas dorsiventrais, com células epidérmicas poligonais e heterodimensionais; Feixes vasculares bicolaterais com presença de laticíferos articulados anostomosados e esclereídeos ramificados dispersos pelo mesofilo, ocorrendo desde a face adaxial até a abaxial, tendo como principal estrutura de diferenciação a organização dos feixes vasculares no pecíolo e o padrão de nervura, no campo. Diante disso, os caracteres anatômicos das espécies estudadas podem ser utilizados com sucesso para distinção das mesmas.

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia foliar, *Aspidosperma*, Amazônia.

LEAF ANATOMY OF *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae)

ABSTRACT

In the Brazilian Amazon the genus *Aspidosperma* is used in regional plant-based medicine, even though this genus presents taxonomic problems, as in the case of *Aspidosperma carapanauba*, *A. desmanthum*, *A. excelsum*, and *A. spruceanum*, because of morphological similarities that could lead to accidental misidentification. Leaf anatomy could contribute to the taxonomic resolution of this genus. This study aimed to describe the leaf anatomy of the four above-cited species, as a contribution to the taxonomy of the genus. Leaves were fixed in 70% FAA, sectioned, stained with astra blue and fucine, as well as diaphanizing and dissasociation of the epidermis.

¹ Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor

Both light and scanning electron microscopy were used. All species have dorso-ventral leaves with variable-sized polygonal epithelial cells, bicollateral vascular bundles with articulated anastomized and sclerified lactiphores in the mesophyll, from the adaxial to the abaxial faces, where the principal differentiating structure is the organization of the vascular bundles in the petiole. The studied leaf anatomical characters are sufficient for the correct distinguishing of the study species.

KEYWORDS: Leaf anatomy, *Aspidosperma*, Amazon

INTRODUÇÃO

A família Apocynaceae possui distribuição tropical e subtropical, com poucos representantes em clima temperado, totalizando cerca de 200 gêneros e 2000 espécies, nos neotrópicos são encontrados aproximadamente 66 gêneros e mais de 700 espécies, sendo 400 espécies e 41 gêneros registrados na flora brasileira, possuindo grande importância econômica, principalmente no que se referem ao metabolismo secundário, os alcalóides, que são utilizados na elaboração de medicamentos. Na região Amazônica, esta família é comumente utilizada pelas populações locais, indígenas e caboclas, onde utilizam a *Aspidosperma nitidum* e a *A. marcgravianum* no tratamento de malária, em inflamação do útero e do ovário, em problemas de diabetes e entre outras utilidades, a *A. nitidum* é usada para cura da lepra pelos índios da Colômbia e a *Aspidosperma excelsum* é usada contra dor de dente na Guiana (RIBEIRO et al., 1999).

A família e as espécies de *Aspidosperma* não são bem delimitadas taxonomicamente, havendo controvérsias. Neste sentido, vários estudos têm sido desenvolvidos sob o ponto de vista morfológico, separando a família Apocynaceae da Asclepiadaceae, enquanto que utilizando a classificação molecular, a Asclepiadaceae torna-se subfamília de Apocynaceae, porém ainda não há um consenso sobre qual classificação utilizar (ENDRESS & BRUYNS, 2000).

O gênero *Aspidosperma* foi revisado duas vezes: uma por WOODSON (1951) e outro por MARCONDES-FERREIRA (1988). Na primeira revisão o autor cita que as espécies ocorrentes principalmente na região amazônica, apresentam hibridação, a qual é contestada por DUARTE (1977) que revalida algumas espécies. Enquanto que na segunda revisão é proposta uma divisão infragênerica, tendo como objeto de estudos características florais e, principalmente, a morfologia dos frutos e das sementes.

Apesar da sua importância econômica, tanto na produção de madeira, quanto na medicina popular, os trabalhos com enfoque anatômico são poucos. A anatomia pode facilitar a compreensão de suas estruturas, principalmente secretoras, auxiliando estudos taxonômicos, químicos e farmacológicos. Nesse contexto, os trabalhos mais importantes, porém incompletos, são de SOLEREDER (1908) e METCALFE & CHALK (1950), que citam informações sobre a organização dos tecidos nas folhas e caule de espécies da família, com poucas informações sobre *Aspidosperma* e raras sobre as espécies em estudo e WOODSON & MOORE (1938), que estudaram anatomia sistemática das flores da família, entretanto não incluíram nenhuma espécie do gênero *Aspidosperma*.

FALCÃO (1960/1961) estudou a anatomia foliar de *Allamanda schottii* Pohl; GONÇALVES (1960/1961) discorreu sobre clorênquima de *Rauvolfia graniflora* Mart. PACHECO (1979) realizou estudos anatômicos e farmacognósticos em *Aspidosperma pyrifolium* Mart. A família foi objeto de pesquisa para DERMARCO (2005), que estudou estruturas secretoras florais e coléteres foliares de

Aspidosperma australe Mull. Arg. e *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. DEMARCO et al (2006) estudaram os laticíferos articulados anastomosados como novos registros para a família Apocynaceae, contrapondo os trabalhos de FOSTER (1949), FAHN (1979), METCALFE & CHALK (1979), que classificaram tais laticíferos como não articulados para a família.

Diante disso, o presente trabalho tem por objetivo descrever as estruturas anatômicas da folha de *Aspidosperma excelsum*, *A. carapanauba*, *A. spruceanum* e *A. desmanthum*, corroborando com a distinção correta das espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico estudado foi coletado no parque ecológico do GUNMA, localizado no município de Santa Bárbara, Pará, distando 34,8 Km de Belém (POEMA, 2006) e herborizado, identificado e incorporado à coleção do Herbário João Murça Pires (MG) do Museu Paraense Emílio Goeldi, com o número de registro 185774, 185775 e 185776. Para os estudos anatômicos, coletou -se folhas do 4º nó fixado em F.A.A 70% (Formaldeído, Ácido acético e Álcool etílico 70% G.L) por 24 horas e acondicionados em etanol 70% (JOHANSEN, 1940).

Para a dissociação epidérmica as folhas foram divididas em três regiões: base, meio e ápice. Estas regiões foram fervidas em ácido nítrico aquoso a 10% (JOHANSEN, 1940). Após a total separação das epidermes, estas foram lavadas em água destilada coradas em azul de astra e fucsina básica, seguindo-se a série etílica e aceto-butílica, e montadas em balsamo do Canadá entre lâmina e lamínula. (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Para a diafanização as folhas, completamente desenvolvidas, foram colocadas inteiras e seccionadas, mergulhadas em solução de hidróxido de sódio a 20% (ARNOTT, 1959), até despigmentação e em seguida lavada em água destilada. As amostras foram coradas com safranina hidro alcoólica 1% (JONHANSEN, 1940), por 24 horas. Após a coloração o material foi desidratado em série etanólica crescente e aceto-butílica (KRAUS & ARDUIN, 1997), montadas entre placas de vidros de 2 mm de espessura em balsamo do Canadá. Para as terminações dos elementos vasculares, pequenas porções foram montadas entre lâmina e lamínula também em resina sintética. Para as descrições do padrão de venação seguiu-se a classificação de HICKEY (1973).

O material foi seccionado na região basal, mediana e apical da nervura central e da margem. Para as secções a mão livre das folhas foram realizados com auxílio de lâmina de barbear, clarificado com hipoclorito de sódio diluído em água destilada (1:1) e conservados em álcool etílico 70%. Uma parte dos cortes foram lavados em água destilada, seguindo-se coloração em azul de astra e fucsina básica (KRAUS & ARDUIN, 1997) e montada em glicerina diluída (1:1) e outra parte utilizada nos testes histoquímicos. E nas secções em micrótomo o material, após ser fixado, seguiu a série crescente etanólica e acetobutílica, em seguida incluídos e embocado em parafina (JOHANSEN, 1940). Os blocos prontos foram cortados em micrótomo rotativo com a espessura entre 16 a 18 µm. Em seguida, passaram nas séries butílica e etílica decrescente, e corados com azul de astra e fucsina básica (KRAUS & ARDUIN, 1997). Após a coloração retornaram para as séries etílica e butílica crescentes e montados entre lâmina e lamínula em balsamo do Canadá.

Foi realizado teste histoquímico para detectar a presença de compostos fenólicos, utilizou-se cloreto férrico a 10% (JOHANSEN, 1940) e azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964), Sudam III para Lipídios (SASS, 1951), Floroglucina

(JOHANSEN, 1940) e azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964) para Lignina, lugol para amido (JOHANSEN, 1940), vermelho de rutênio para substâncias pécnicas (LANGERON, 1949) e mucilagem e pectina usou-se azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964).

As lâminas foram fotomicrografadas em câmera digital *Cannon* modelo *Power shop A 640*, acoplada em microscópio Zeiss modelo axiolab, e para eletromicrografias utilizou-se microscopia eletrônica de varredura, onde as imagens foram obtidas em microscópio eletrônico LEO modelo 1450 VP em aceleração de 10 a 15 Kv e °. (SILVEIRA, 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na superfície foliar, em vista frontal das espécies estudadas e em todas as regiões analisadas, as células epidérmicas da face adaxial e abaxial são heterodimensionais, com paredes anticlinais retas, sendo que, em *A. desmanthum* e *A. spruceanum* são mais espessadas (Fig. 1A, 1B, 1C, 1D).

As células epidérmicas que estão sobre a nervura principal, secundária e na margem são alongadas em relação ao eixo da lâmina foliar. Percebe-se ainda que a epiderme adaxial de *A. spruceanum* e *A. desmanthum* apresenta pequenos espaços poligonais, que são na realidade esclereídeos que emergem na superfície foliar (Fig. 1C e 1D). ALBUQUERQUE (1968; 1971) estudou cinco espécies do gênero, ocorrentes na Amazônia, dentre elas *A. carapanauba*, que considerou as células epidérmicas como caráter diagnóstico para distinção de espécies. A *A. pyricollum* também possui essas mesmas características na epiderme, conforme cita FERRAZ & PIMENTA (1988).

FAHN (1974), ESAU (1974) e METCALFE & CHALK (1979), citam que as células epidérmicas geralmente possuem forma e tamanhos variados e sobre as nervuras podem ser alongadas, podendo conter apêndices, como tricomas e cutícula, entre outros.

A epiderme adaxial é coberta por uma cutícula lisa e espessada nas espécies estudadas. Essa característica foi observada em *A. carapanauba*, *A. mascgravianum* e *A. oblongum* por ALBUQUERQUE (1971) que considerou a espessura da cutícula como distinção das espécies. Entretanto, ALBUQUERQUE (1973) não utilizou este parâmetro para *Couma utilis* e *Couma macrocarpa*. Já FALCÃO (1960/1961) observou uma cutícula delgada em *Allamanda schottii*.

ESAU (1974) cita que a cutícula fornece proteção mecânica e está relacionado com a restrição da transpiração e com a aeração. SILVA et al., (2005) cita que a cutícula dificulta a entrada de substâncias, como fungicidas e herbicidas, conseqüentemente, causando perdas financeiras, principalmente de espécies utilizadas comercialmente. Além de reduzirem a digestibilidade de ruminantes. Afirma ainda que composição química da cutícula deve ser analisada com cautela para composição inicial de sistemas silvipastoris.

Além da cutícula, todas as espécies apresentam também cera epicuticular levemente estriada, a qual reduz a absorção de água na superfície (ESAU, 1974) e proporciona resistência a patógenos que dependem de água para germinação ou multiplicação (SILVA et al, 2005). A presença dessas estruturas como cutícula e cera epicuticular, provavelmente, deve-se ao fato dos taxa do gênero serem, em sua grande maioria, espécies emergentes, propiciando uma maior exposição à radiação e a aeração que, segundo SCREMIN-DIAS (2007), seriam necessárias observações anatômicas aliadas a ecofisiológica para diferenciar quais estruturas são ajustáveis ao ambiente e quais são puramente hereditárias.

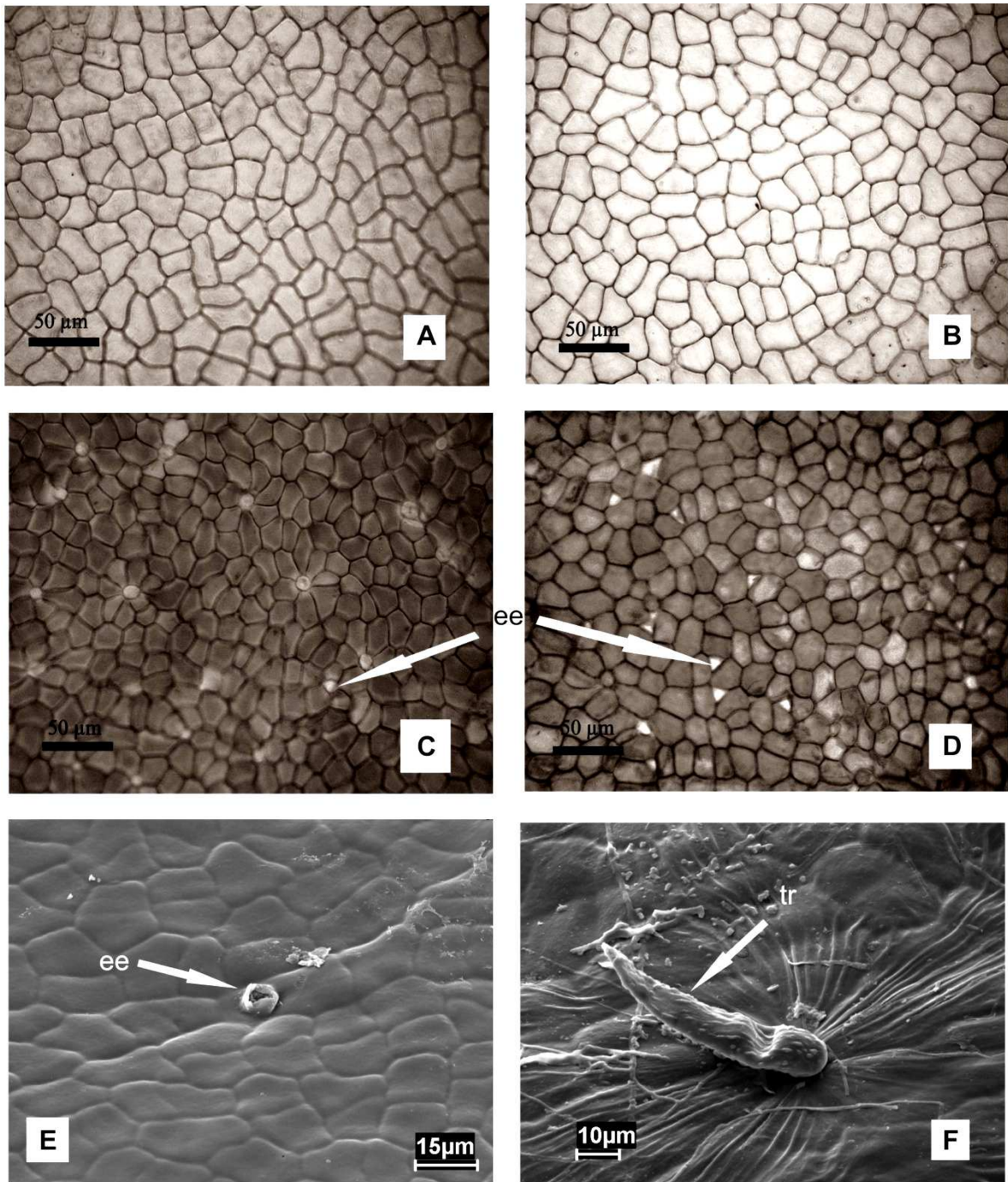


Figura 01: Vista frontal da epiderme adaxial de *Aspidosperma*: A – *A. carapanauba*; B – *A. excelsum*; C – *A. desmanthum*; D – *A. spruceanum*; E – Detalhe dos espaços entre as células epidérmicas adaxial em *A. desmanthum*; F – detalhe do tricoma sobre a região da nervura central da face adaxial. ee - emergência de esclereídes; tr - tricoma.

Entre as células epidérmicas das espécies estudadas observa-se tricomas tectores pluricelulares (Fig. 1f), ornamentados, isolados, dispersos difusamente na região da nervura principal e na margem foliar. Esses tricomas são formados por três células, uma basal inserida entre as células epidérmicas, uma mediana mais curta e larga e a apical alongada. Esse tipo de tricoma também foi observado por PACHECO (1980), em *Catharanthus roseus* e FERRAZ & PIMENTA (1988), em

Aspidosperma pyricollum. Em *A. carapanauba* não foram observados tricomas glandulares, conforme citado por ALBUQUERQUE (1971). De acordo com METCALFE & CHALK (1979), os tricomas podem ser caracteres importantes na diferenciação das espécies, entretanto, os mesmos autores citam controvérsias quanto a sua utilização devido à variedade e pluralidade nomenclatural.

A superfície foliar abaxial, nas espécies estudadas, apresenta células epidérmicas heterodimensionais, poligonais com paredes anticlinais retas (Fig. 2A, 2B, 2C) e papilas evidentes em *A. carapanauba* e *A. excelsum* (Fig. 2E, 2F), enquanto que em *A. spruceanum* não foi possível uma melhor observação devido o adensamento dos tricomas (Fig. 2D). Observou-se em *A. spruceanum* e *A. desmanthum* cutícula lisa e em *A. carapanauba* e *A. excelsum* uma cutícula ornamentada, característica, também visualizada por ALBUQUERQUE (1971) em *A. carapanauba* e *A. oblongum*.

Os tricomas tectores são pluricelulares, filiforme com cerca de três células, sendo a basal circundada por quatro a cinco células, com ornamentação espinescente (Fig. 2D). Esses tricomas possuem distribuição difusa, sendo que em *A. carapanauba* e *A. excelsum* a frequência é menor sobre as nervuras quando comparado a lâmina foliar, em *A. spruceum* são altamente adensados e freqüentes e por fim em *A. desmanthum* possuem distribuição aleatória e em pouca quantidade quando comparados com a *A. spruceanum* (Fig. 2D, 2E). Estes tricomas filiformes foram observados por METCALFE & CHALK, (1950) para a família Apocynaceae e ALBURQUERQUE (1973) cita a presença em duas espécies do gênero *Couma*.

A ornamentação dos tricomas segundo THEOBALD et al., (1979) podem delimitar gêneros e até mesmo espécies, entretanto, ocorreram em todas as espécies em estudo, logo esse parâmetro não pode ser considerado. Para a separação das espécies estudadas, porém também observado por FREITAS (2008) (comunicação pessoal) em estudo anatômico de plântula de *A. spruceanum*.

As espécies possuem estômatos do tipo anomocítico, também visto por SOLEREDER (1908), METCALFE & CHALK (1950) e FREITAS (2008) (comunicação pessoal), distribuídos aleatoriamente na lâmina foliar e ausentes na região da nervura principal. Em *A. excelsum* e *A. carapanauba* os estômatos encontram-se rodeados pela cutícula ornamentada, ou cobrindo-os.

Quanto à papiliosidade da face abaxial, observadas principalmente em *A. excelsum* e *A. carapanauba*, conferem com as observações de SOLEREDER (1908) e METCALFE & CHALK (1950). Concordando também com METCALFE & CHALK (1979), que comentam que as papilas só ocorrem na face abaxial (Fig. 2A). Citam ainda, que essas estruturas são freqüentemente encontradas em espécies tropicais, com a provável função de dificultar a saída de água nas folhas, contudo a função dessas estruturas ainda não são bem definidas.

As nervuras das espécies estudadas apresentam, em corte transversal, tecido de revestimento, tecido de sustentação, parênquima fundamental, tecido vascular e medular, sendo que, do ápice para a base, não há diferenças qualitativas nas espécies *A. spruceanum*, *A. excelsum* e *A. carapanauba*, enquanto que, em *A. desmanthum* percebe-se essa diferença.

No tecido de revestimento, da superfície adaxial, as células são retangulares, com paredes anticlinais retas e as periclinais externas convexa a levemente papilosa ou não e estão de acordo com por SOLEREDER (1908) e METCALFE & CHALK (1950). A epiderme é coberta por uma cutícula espessada lisa recoberta por cera epicuticular levemente estriada.

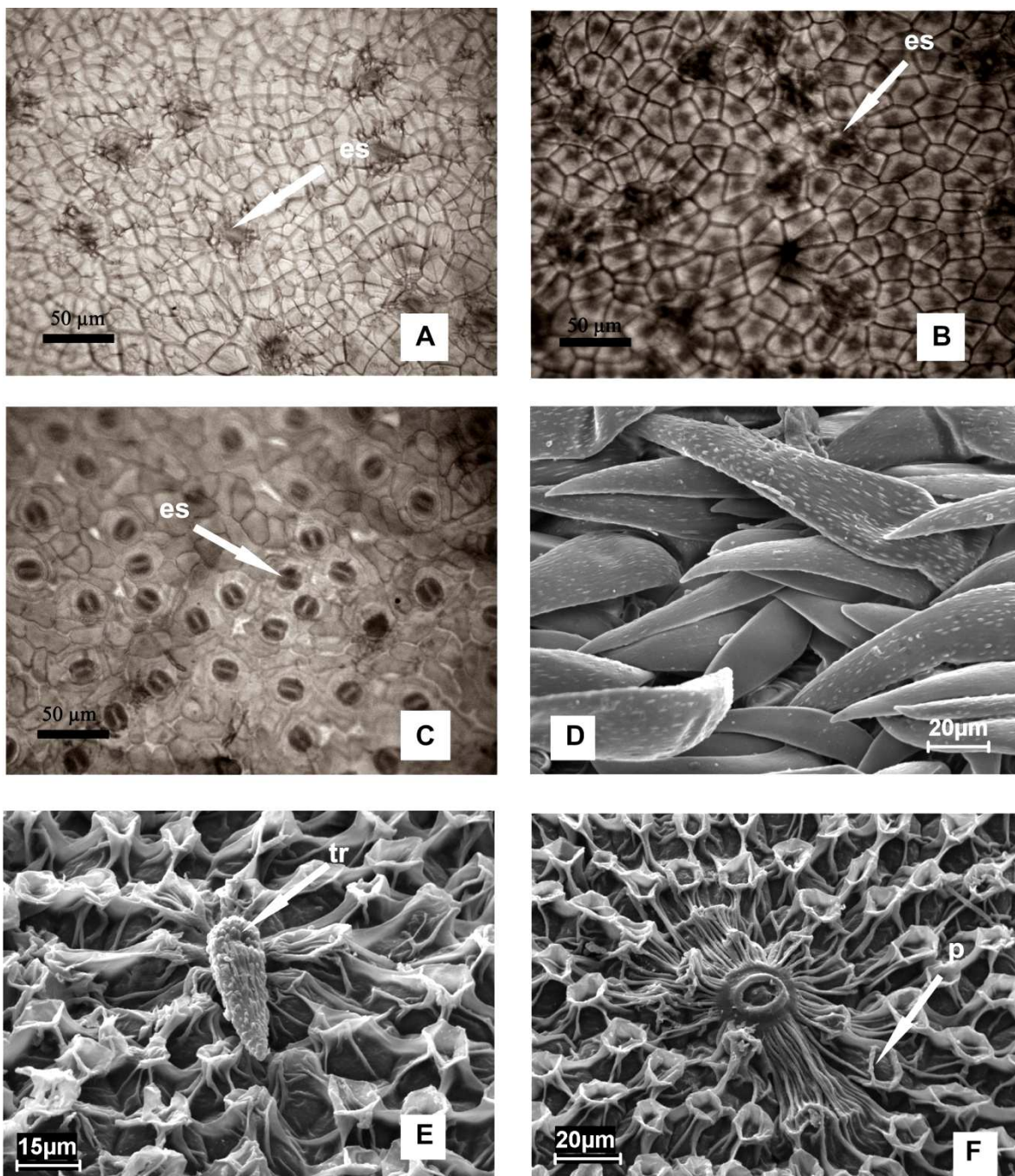


Figura 02: Vista frontal da epiderme abaxial de *Aspidosperma*: A – *A. carapanauba*; B – *A. excelsum*; C – *A. desmanthum*; D – *A. spruceanum*; E – Eletromicrografia de tricomas e ornamentação da cutícula de *A. excelsum*; F - Eletromicrografia dos estômatos de *A. carapanauba*.. es - estômato; p - papila; tr - tricoma

Ainda na superfície adaxial, na epiderme encontra-se um córtex parenquimático interrompido, na região central, por três a cinco células pequenas de paredes espessadas e dispostas nas proximidades dos feixes vasculares, formando duas a seis camadas de células heterodimensionais (Fig. 3).

Os feixes são bicolaterais, com grupos de floema intercalados por células do parênquima floemático. Essa organização foi também verificada em *A. album* e em *Couma utilis* por ALBUQUERQUE (1968; 1973) e em *Allamanda schottii* por

FALCÃO (1960 / 1961). Em *A. desmanthum*, no pecíolo e na base da folha, os feixes são bem adensados (Fig 8A) e formam arcos fechados, e na medida em que se aproximam do ápice, apresentam a organização frouxa com predominância de tecido parênquimático (Fig. 3E), com dois feixes colaterais principais e quatro menores, em *A. spruceanum*, esses feixes menores, geralmente estão envolvidos por esclereideos. Entretanto, esses tipos de feixes não podem ser considerados característica para diferenciação das espécies.

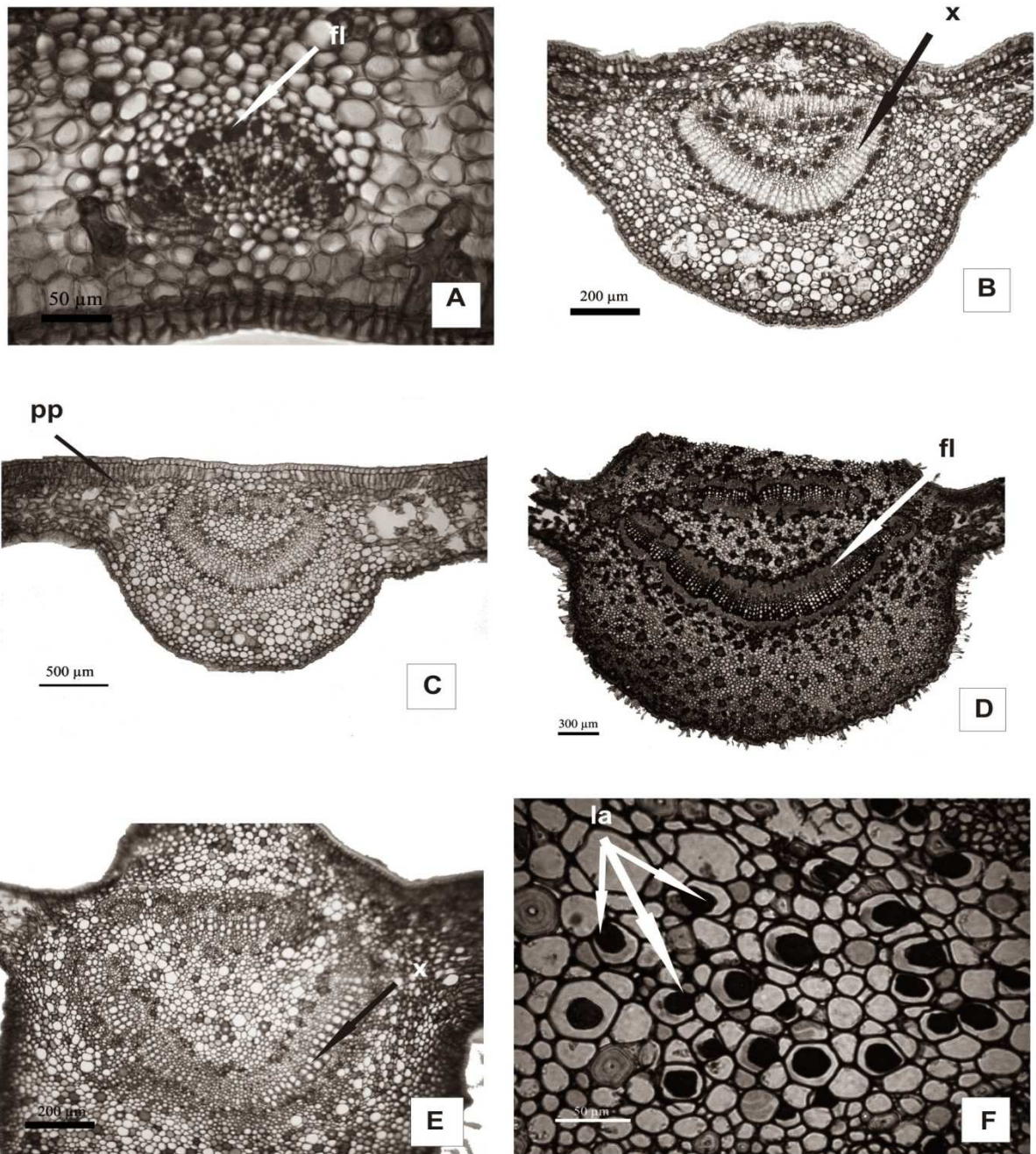


Figura 03: Nervura central de *Aspidosperma*: A – *A. carapanauba*; B – *A. excelsum*; C – *A. carapanauba*; D – *A. spruceanum*; E – *A. desmanthum* e F- laticíferos em corte transversal em *A. desmanthum*. pp -parênquima paliçádico; la - laticíferos; x - xilema primário; fl - floema

Observa-se também, as proximidades dos feixes vasculares, a presença de laticíferos articulados, anastomosados, com paredes delgadas e de diâmetros variados, também verificado por METCALFE & CHALK (1950) (Fig. 3F). Em *A. desmanthum* esses laticíferos são em maior número e mais evidentes. Esses tipos de laticíferos foram citados por DEMARCO et al., (2006) para a família Apocynaceae, contrapondo os trabalhos clássicos de SOLEREDER (1908), FOSTER (1949), METCALFE & CHALK (1950), METCALFE (1967), FANH (1974; 1979).

A epiderme da face abaxial é formada por células heterodimensionais, por estômatos e tricomas (Fig. 3D), subjacente a epiderme encontram-se colênquima lamelar de duas a quatro camadas de células irregulares, seguindo o parênquima fundamental, encontram-se dispersas células pétreas isoladas ou agrupadas, com cristais prismáticos de oxalato de cálcio aderidos a sua parede (Fig. 3F). Esses tipos de idioblastos também ocorrem em *Aspidosperma pyricollum* (FERRAZ & PIMENTA, 1988) e em *Allamanda schottii* (FALCÃO, 1960 / 1961). SOLEREDER (1908) e METCALFE & CHALK (1950) citam que na família Apocynaceae é comum a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio dispersos ou aderidos as células pétreas no parênquima fundamental. METCALFE (1979) cita que cristais podem ocorrer em diversas partes da planta, como nos espaços intercelular rodeando as paredes das células que os produzem. FRANCESCHI & HORNER Jr. (1980) citam que cristais de oxalato de cálcio são excreções do metabolismo dos vegetais e que ainda não possuem uma função delimitada, podendo auxiliar na competição inter e intra-específica, dependendo da concentração de tais idioblastos.

No limbo foliar as células da epiderme, em ambas as faces em secção transversal, apresentam paredes anticlinais retas e são organizadas irregularmente, sobre a epiderme abaxial observa-se uma cutícula espessada, sendo que em *A. carapanauba* e *A. excelsum* ocorrem papilas (Fig. 4B, 4C), que se projetam semelhantes a “vulcões” (Fig. 4B). Na face adaxial, está cutícula torna-se levemente estriada e sem ornamentação.

Os estômatos das espécies estudadas são anomocíticos (Fig. 4G) e as folhas hipostomáticas e dorsiventrais, com exceção de *A. spruceanum* que é isobilaterais (Fig. 5A). METCALFE & CHALK (1950) citam que, na família Apocynaceae, a maioria das espécies apresenta folhas dorsiventrais, entretanto os mesmos autores observaram que *Aspidosperma quebracho* possui folha isobilateral. O parênquima paliçádico é formado por uma camada em *A. excelsum* e *A. carapanauba* (Fig. 4A), duas em *A. desmanthum* (Fig. 5C) e três a quatro em *A. spruceanum* (Fig. 5B) e, a medida que direciona-se a margem, torna-se indiferenciado (Fig. 4A). ALBUQUERQUE (1968) verificou três camadas de paliçádico em *A. album*. O parênquima lacunoso apresenta sete camadas nas espécies que apresentam uma de paliçádico e três a cinco nas espécies que apresentam mais de uma paliçada, irregulares e organizados frouxamente (Fig. 4F). Estas características diferem das observadas por METCALFE & CHALK (1950), que afirmam que as folhas maduras da família apresentam cerca de duas a três camadas de parênquima paliçádico, mas concordam com PACHECO (1980), GONÇALVES (1960 / 1961), FALCÃO (1960 / 1961) e FERRAZ & PIMENTA (1988) que observaram uma camada em *Catharanthus roseus*, *Rauvolfia grandiflora*, *Allamanda schottii* e *Aspidosperma puricollum*.

Encontram-se dispersos no mesofilo esclereídeos ramificados desde a face adaxial até a face abaxial. Em *A. desmanthum* e *A. spruceanum* essas estruturas emergem por entre as células epidérmicas. São tabulares e ramificam-se em todas

as direções, principalmente no sentido margem–nervura central. Ainda nestas espécies observam-se ramificações destes esclerideos logo abaixo das células epidérmicas e entre as camadas do parênquima paliçádico. A medida em que se aproxima da região da nervura, as ramificações se intensificam. A parede dessas células é espessada e celulósica, confirmada pela aplicação de azul de toluidina. METCALFE & CHALK (1950) citam que espécies da família, e principalmente as de *Aspidosperma*, apresentam tais estruturas.

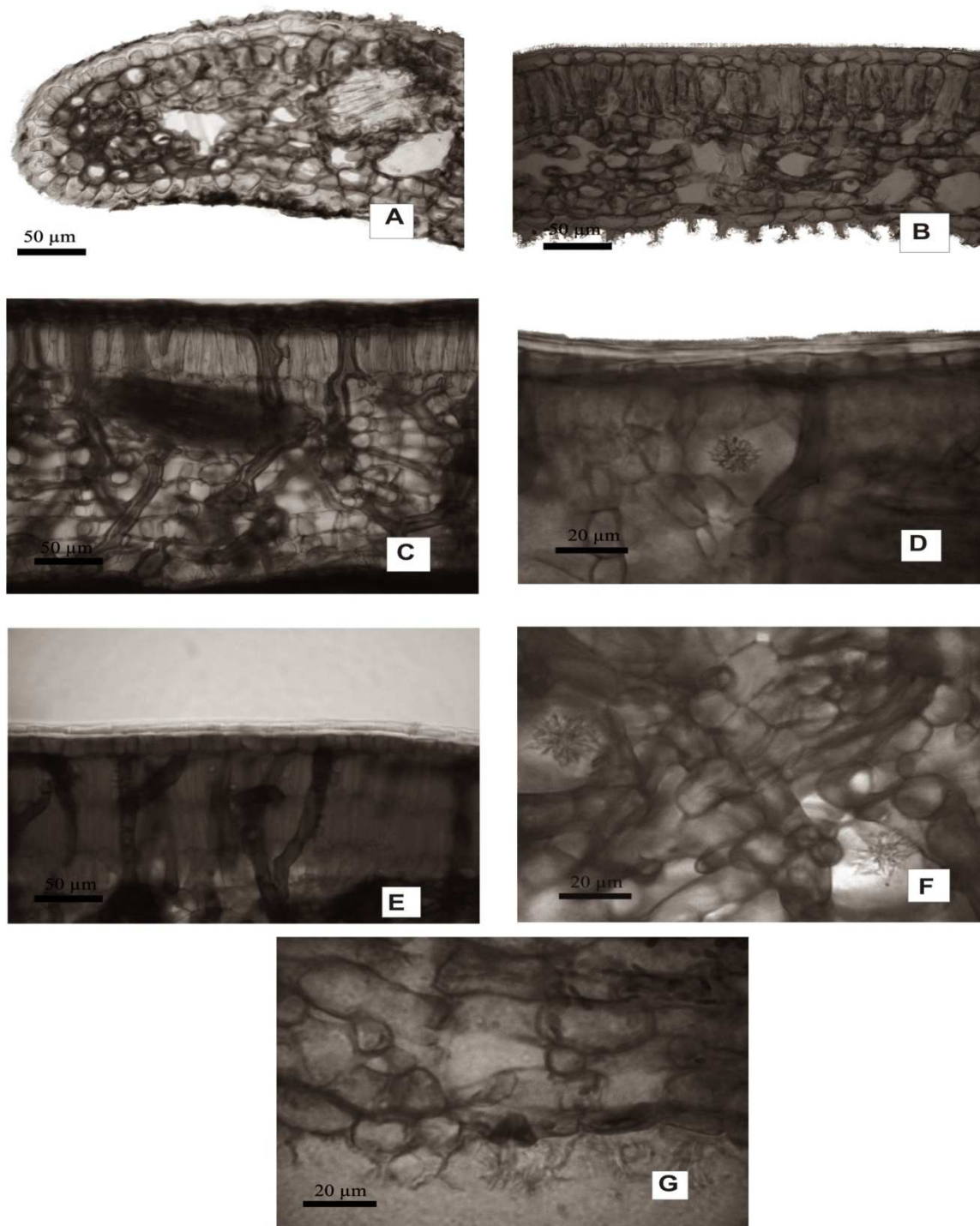


Figura 04: Vista transversal da folha das espécies de *Aspidosperma*: A – margem de *A. carapanauba* Pichon; B – *A. carapanauba* Pichon; C – *A. excelsum* Markgr.; D e F – Cristais de oxalato de cálcio em forma de drusas em *A. desmanthum* Benth. ex. Müll. Arg.; E - limbo de *A. spruceanum* Benth. ex. Müll. Arg.; G – ornamentação e da inserção do estômato.

Segundo METCALFE & CHALK (1979), a presença dessa estrutura é comum em espécies de clima quente, sendo caráter xeromórfico, entretanto as espécies estudadas são de ambiente úmido, provavelmente seja um caráter do gênero, ou pode ser explicado pelo fato das espécies serem emergente e com isso mais expostas a radiação solar. De acordo, com SCREMIM-DIAS (2007), a compreensão do ajuste das espécies vegetais nos mais diversos ambientes só será esclarecida quando estudos anatômicos forem aliados a estudos ecofisiológicos.

Em todas as espécies estudadas, os feixes presentes no mesofilo são inconspícuos, evidenciando-se apenas em *A. desmanthum*, as proximidades da margem foliar, confirmando uma venação de maior calibre.

Em *A. desmanthum* é comum à presença de cristais de oxalato de cálcio, em formato de drusas (Fig. 4F), ocorrentes tanto no parênquima paliçádico quanto no lacunoso, nas outras espécies esses idioblastos possuem formato de prisma.

O pecíolo em corte transversal, em todas as espécies estudadas, apresenta forma circular levemente achatado na face adaxial (Fig. 6A, 7A). Em *A. desmanthum* e *A. spruceanum* observa-se sinuosidades na face abaxial (Fig. 8B, 8D), provavelmente esta sinuosidade seja devido à divisão anticlinal das células epidérmicas, também descritas para *A. pyriformum* por PACHECO (1979). O tecido epidérmico é constituído por células retangulares, heterodimensionais, com paredes anticlinais e periclinais delgadas, revestido por uma cutícula lisa e espessada, além de apresentarem cera epicuticular levemente estriada. Contendo também tricomas filiformes (Fig. 7F), sendo em que *A. carapanauba* e *A. excelsum* são pluricelulares compostos aproximadamente de cinco a seis células (Fig. 7C). Em *A. desmanthum* e *A. spruceanum* são compostos de três células (Fig. 8B), sendo que nesta última são mais freqüentes e numerosos, podendo auxiliar na distinção das espécies. ALBUQUERQUE (1971) também encontrou em *A. carapanauba* a mesma quantidade de células no tricoma. Já *A. marcgravianum* possui o mesmo número de células encontrada em *A. desmanthum* e *A. spruceanum*.

Abaixo das células epidérmicas ocorre uma camada de células diferenciadas semelhantes a uma hipoderme, as quais possuem formato retangular, com paredes anticlinais e periclinais delgadas circundando todo o parênquima cortical e eventualmente, essa camada é interrompida por células esclerificadas (Fig. 7B).

Subseqüente a essa camada observa-se o parênquima cortical, cujas células em *A. carapanauba* e *A. excelsum* são irregulares e maiores na periferia do pecíolo. Já em *A. desmanthum* e *A. spruceanum* são eventualmente poligonais (Fig. 8E, 9C). Anexo a essas, observa-se cerca de seis camadas de colênquima lamelar, onde as paredes são impregnadas de pectina, detectado pelo azul de toluidina. Esse colênquima foi observado por FERRAZ & PIMENTA (1988) descrevendo *A. pyricollum*.

É comum ocorrem células esclerificadas dispersas (Fig. 6C, 6D, 9C, 9E), por toda essa região cortical, isoladas ou agrupadas em duas a três células (Fig. 7I). Essas células possuem formato de circular (células pétreas), algumas vezes ramificadas, apresentam parede espessada, com pontuação simples, lignificada, confirmada pela floroglucina (JOHANSEN, 1940). Aderido a sua parede verificam-se cristais prismáticos de oxalato de cálcio, e dispersos no tecido parênquimático, além de laticíferos dispostos de forma aleatória e concentricamente aos feixes (Fig. 7E). METCALFE & CHALK (1950) comentam que os laticíferos em folha maduras sempre estão associados aos feixes vasculares, entretanto tal estrutura evidencia-se na região mediana da folha, principalmente em *A. desmanthum*. Os laticíferos possuem paredes bastante delgadas, ramificados e articulados com diâmetros distintos.

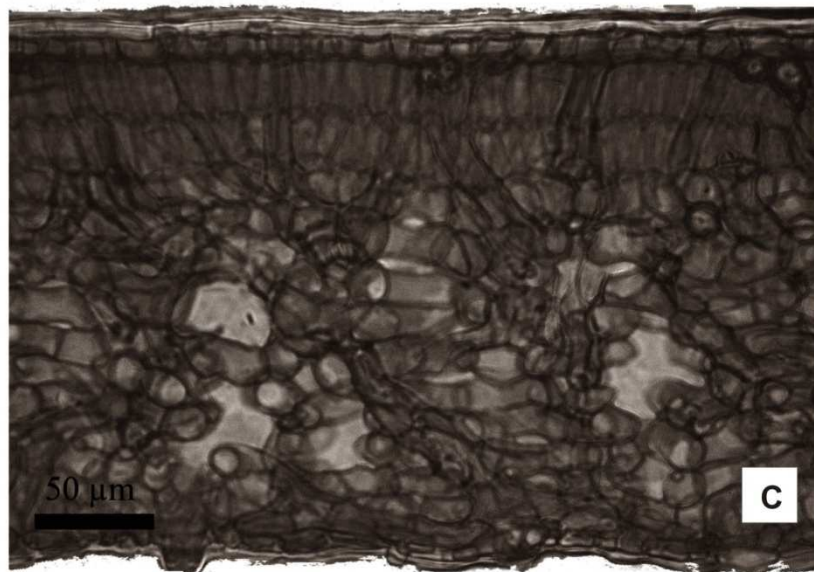
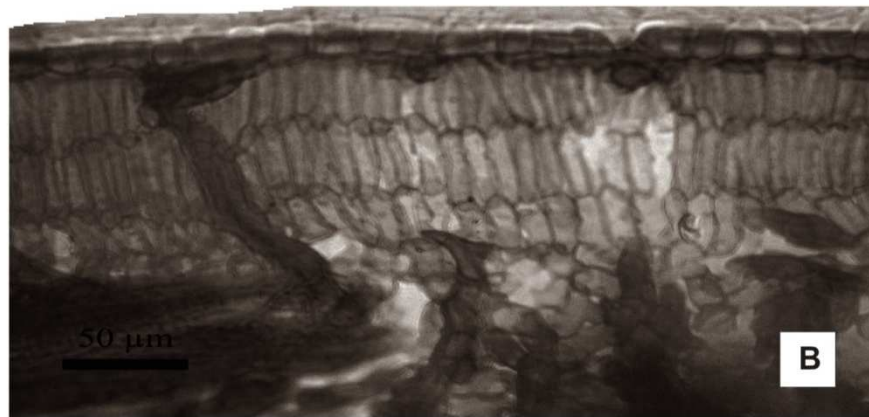
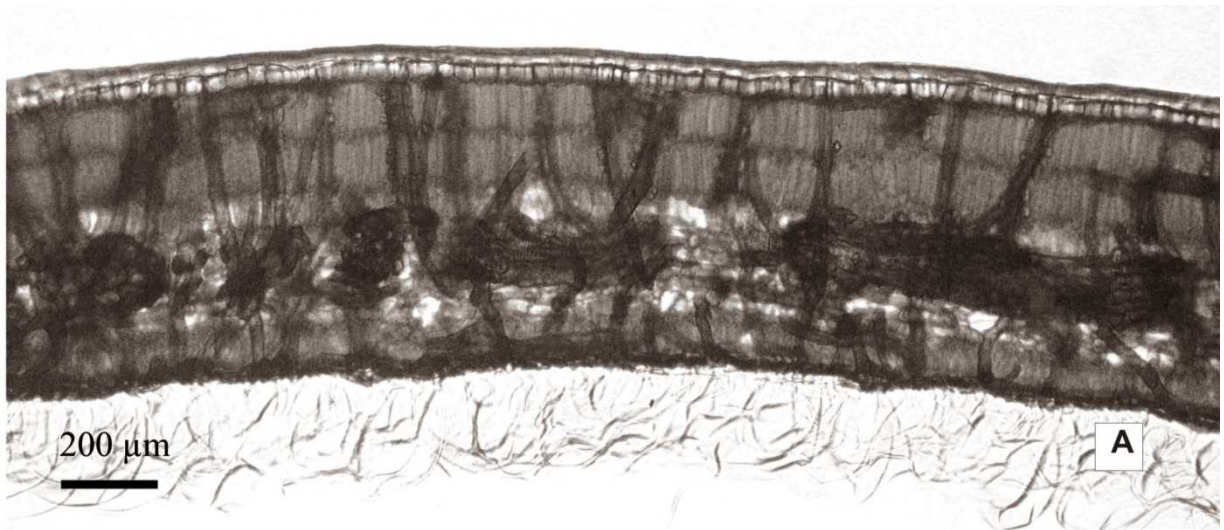


Figura 05: Secção transversal da folha de *Aspidosperma*: A e B –*Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg.; C –*A. desmanthum* Benth. ex Müll..

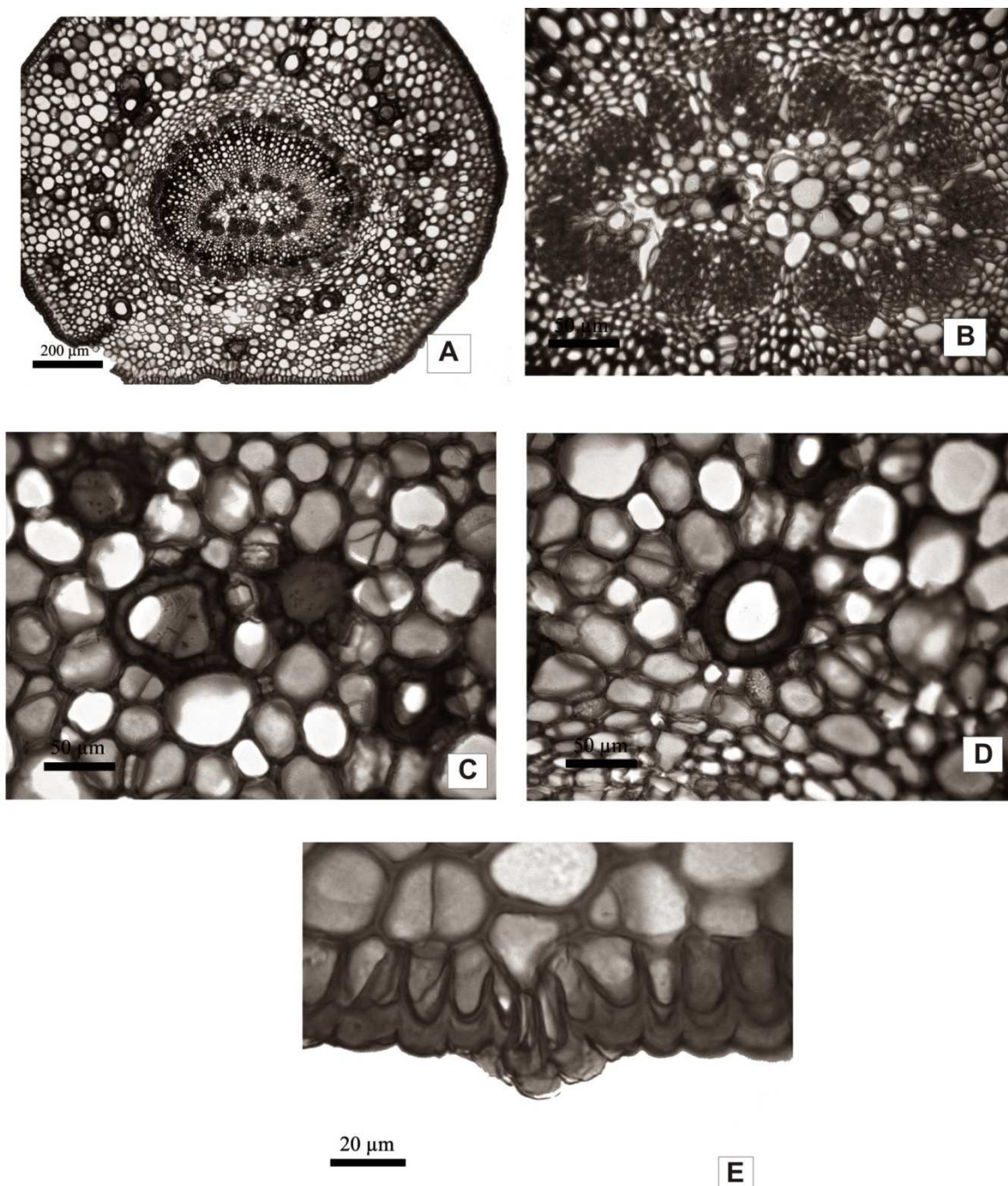


Figura 06: Secção transversal do pecíolo de *Aspidosperma excelsum* Markgr.: A - Vista geral; B – Detalhe dos feixes vasculares; C – detalhe dos esclereídeos com cristais prismáticos aderidos a sua parede; D – Detalhe do lume dos esclereídeos; E – Detalhe da cutícula e divisão da parede anticlinal da epiderme papilosa.

Discordando de ALBUQUERQUE (1971) que encontrou laticíferos não articulados em *A. carapanauba*, *A. mascgravianum* e *A. oblongum*. A medida em que se aproximam dos feixes vasculares as células corticais tornam-se menores e mais numerosas formando um estrato com seis camadas, circundando os feixes vasculares (Fig. 7B, 7C).

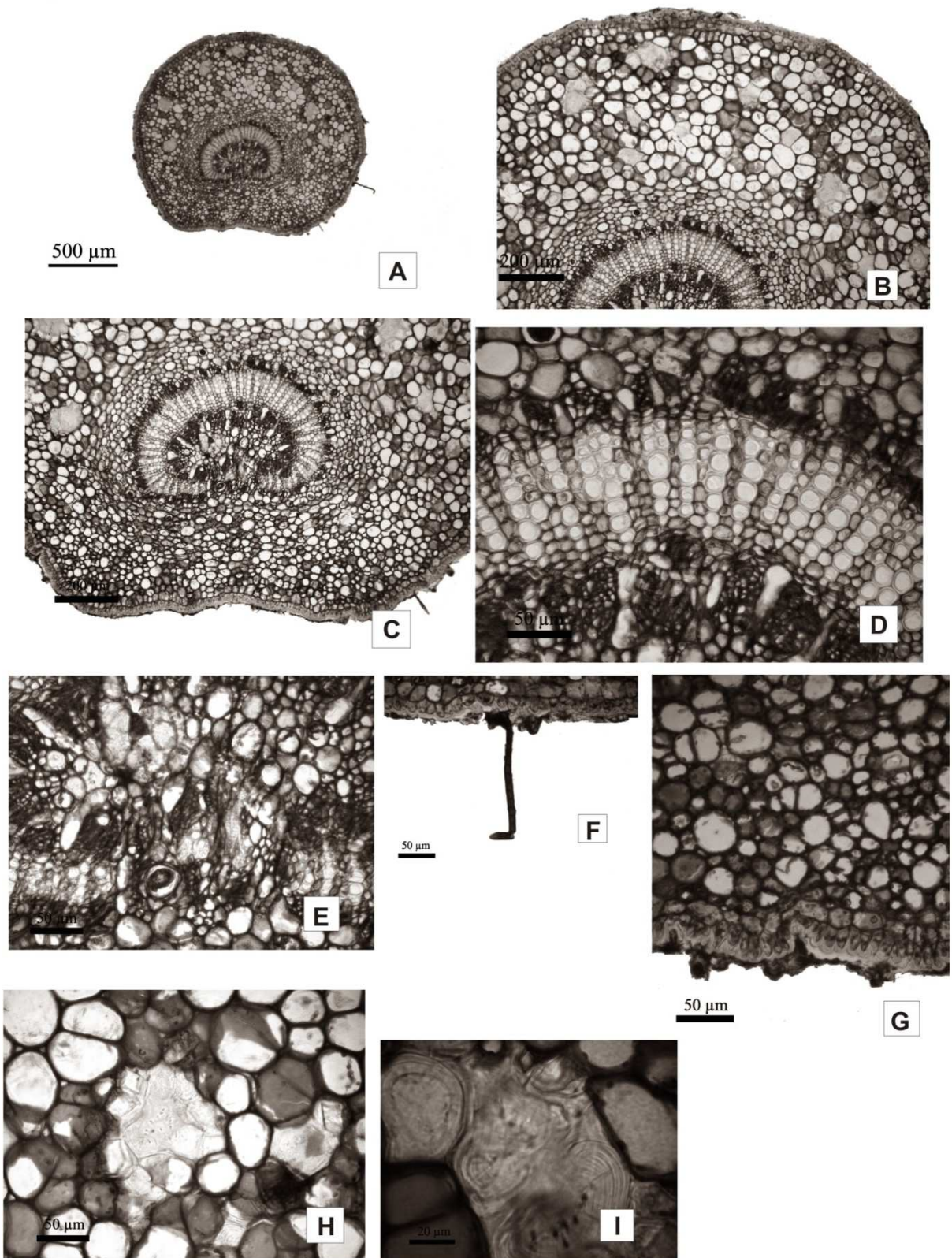


Figura 07: Pecíolo de *Aspidosperma carapanauba* Pichon: A – vista geral do pecíolo; B – vista da face abaxial do pecíolo; C – vista da face adaxial do pecíolo; D – detalhe dos tecidos vasculares; E – laticíferos; F – tricoma pluricelular; G – detalhe da cutícula e da cera epicuticular; H e I: Detalhe do agrupamento de células pétreas com cristais aderidos a sua parede.

Os feixes vasculares em *A. excelsum* e *A. spruceanum* possuem forma elíptica fechada (Fig. 6A, 8A), em *A. carapanauba* em forma de “C” (Fig. 7C), em *A. desmanthum* em forma de “coração” com floema descontínuos ao redor do xilema, verificado por ALBUQUERQUE (1973) descrevendo *Couma utilis*, considerados biclaterais (Fig. 6B, 7D, 8C, 9A), em *A. spruceanum* o floema é mais adensados e contínuos, e que também foi verificado em *Couma macrocarpa* (ALBUQUERQUE, 1973) e *A. pyriformium* (PACHECO, 1979), configurando um feixe anficrival.

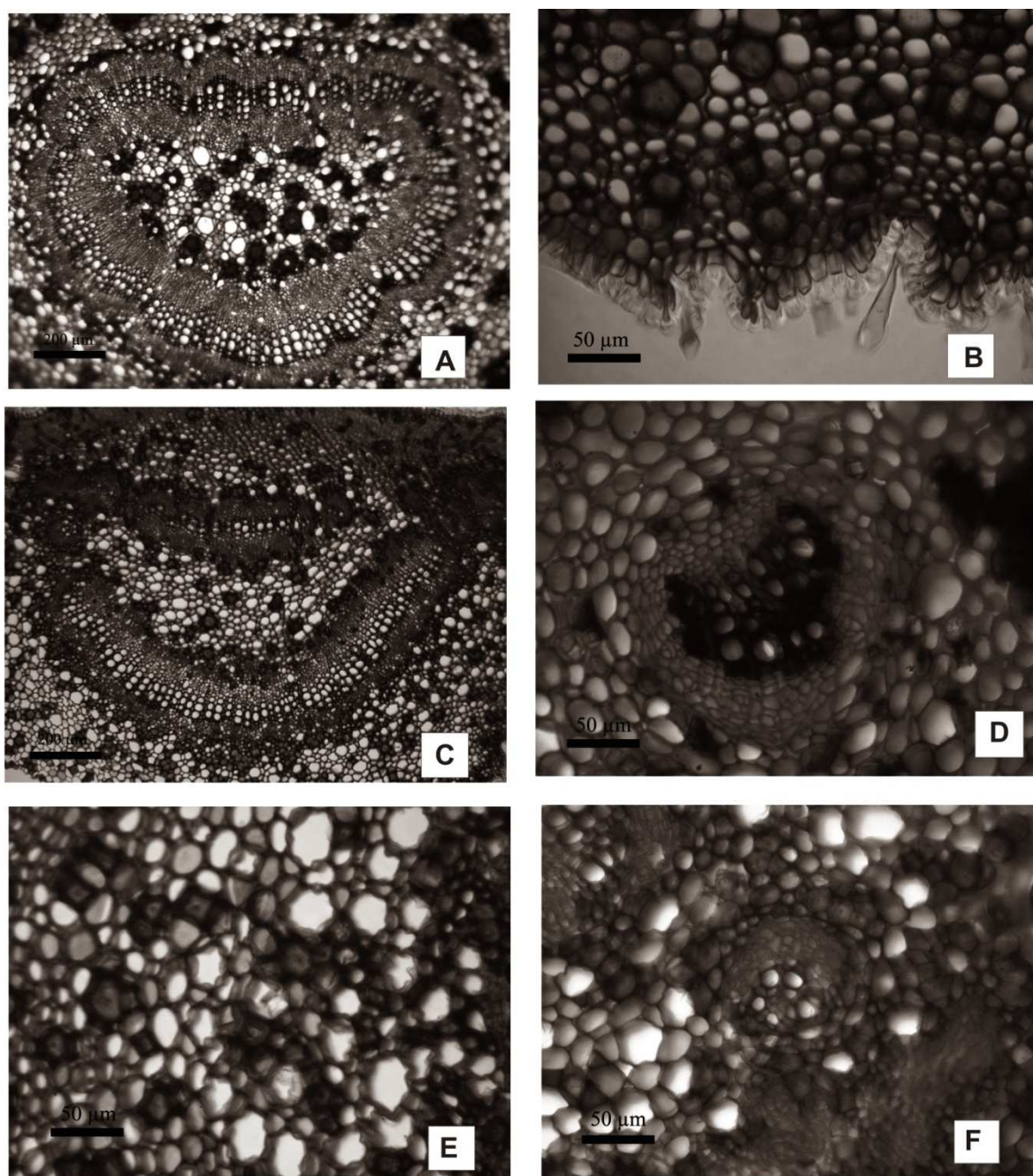


Figura 08: *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll. Arg.; A – detalhe da organização dos feixes do pecíolo; B – Sinuosidade da epiderme do pecíolo; C – feixes vasculares na região mediana da folha; D e F: Detalhe dos feixes vasculares secundários; E - vista geral do parênquima fundamental.

O xilema em *A. carapanauba* e *A. excelsum* é constituído por fileiras de cinco a sete elementos vasculares (Fig. 7D), com o metaxilema no interior e os protoxilema em ambas extremidades característica esta também observado em *Catharanthus roseus* var. *roseus* (PACHECO, 1980), enquanto que em *A. desmanthum* e *A. spruceanum* verificou-se que o metaxilema é composto de dois a três elementos vasculares (Fig. 8B, 8C). Nos feixes de *A. spruceanum* apresentam aglomerados de células pétreas ao redor do floema externo (Fig. 8D, 8E).

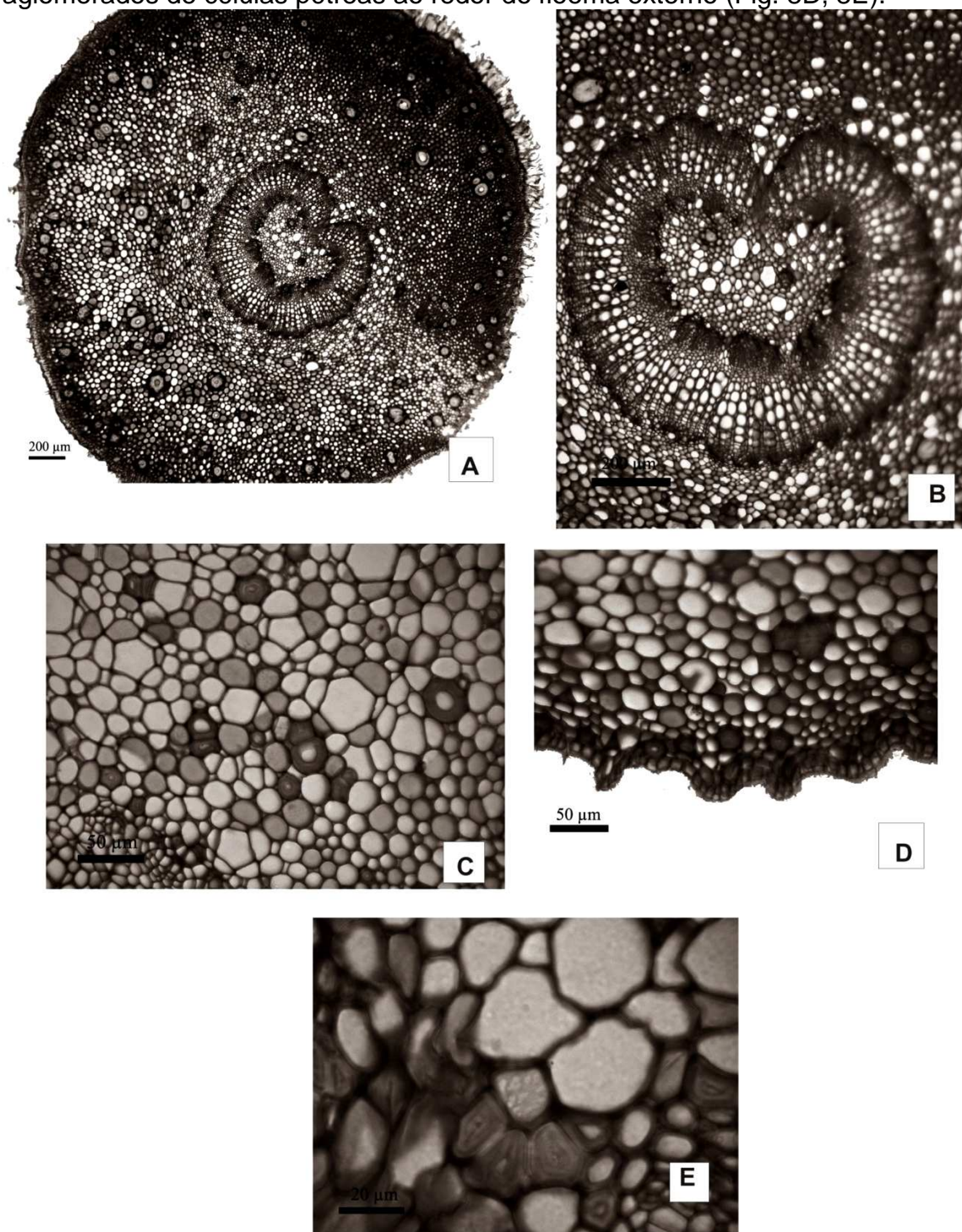


Figura 09: Pecíolo de *Aspidosperma desmanthum* Benth. ex Müll; A – Secção transversal do pecíolo; B – detalhe do feixe vascular; C – parênquima fundamental e células esclerificadas; D - sinuosidade da parede do pecíolo; E- na seta detalhe da pontoação dos esclereideos.

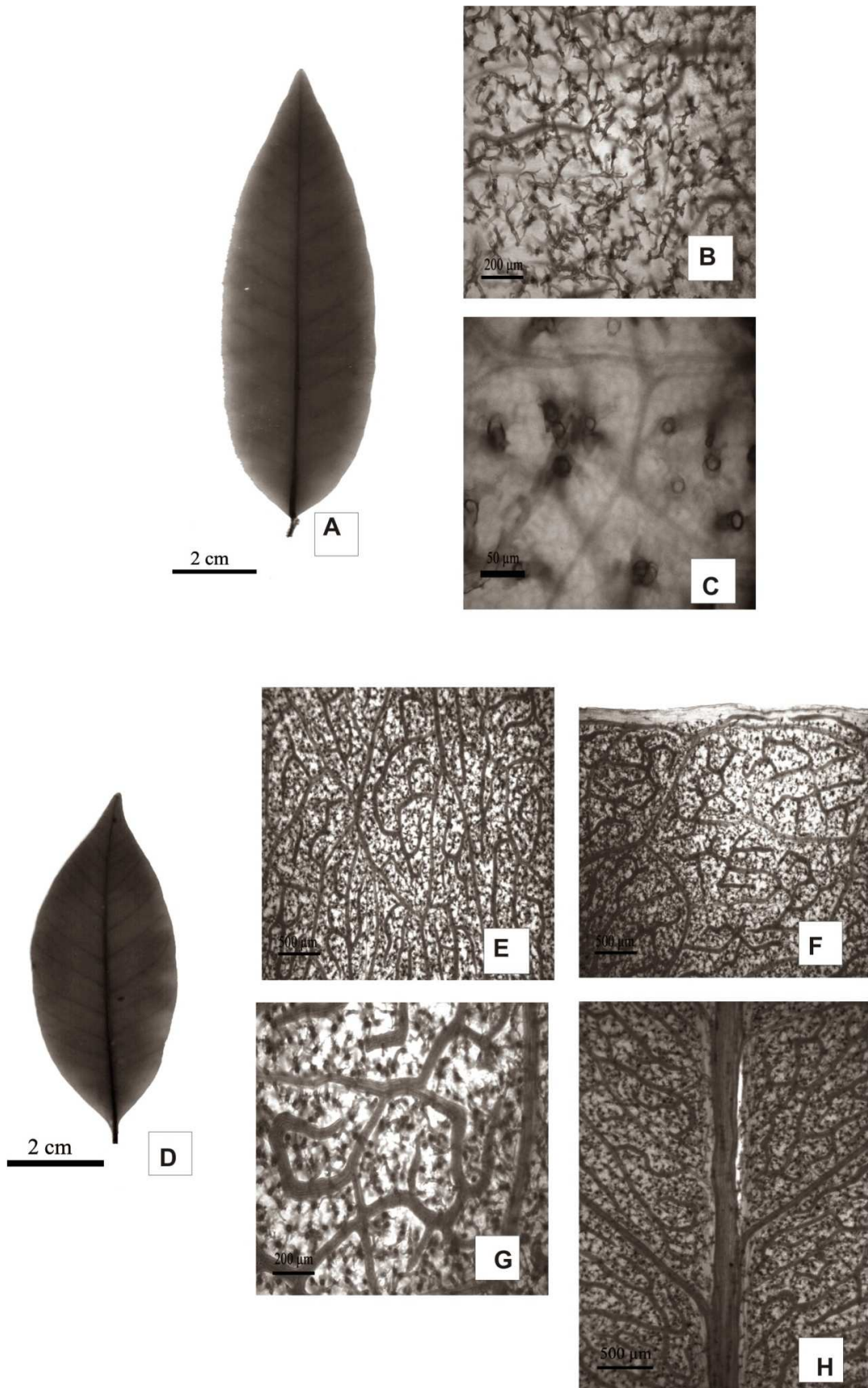


Figura 10: venação: A – C: *Aspidosperma carapanauba* Pichon. A- vista geral; B – C detalhe das nervuras e terminações; D – H: *A. excelsum* Markgr.. D – vista geral; E – G detalhe da nervuras e terminações; H – detalhe da nervura central

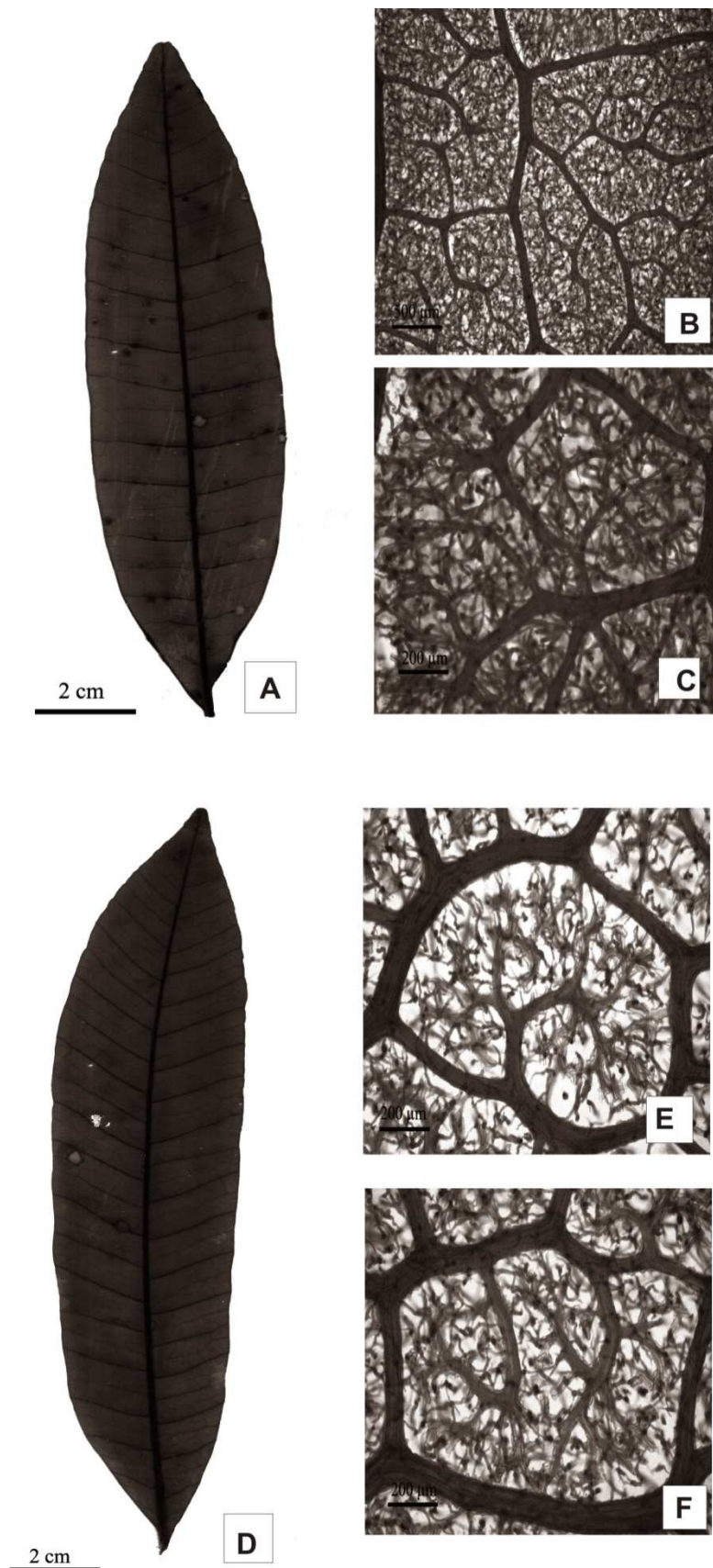


Figura 11: venação de *Aspidosperma*: A – C: *A. spruceanum* Benth. ex. Müll. Arg.. A- vista geral; B – C detalhe das nervuras e terminações; D – H: *A. desmanthum* Benth. ex. Müll. Arg.. D – vista geral; E – F detalhe da nervuras e terminações.

Em maceração, os elementos traqueais do xilema consistem de elementos de vasos com espessamento parietal secundário helicoidal denso, com placa de perfuração simples

A nervura primária, em todas as espécies estudadas, estão inseridas na categoria de pinada, reta, única, afilando-se em direção ao ápice. Em *A. desmanthum* está nervura apresenta uma leve curvatura para a direita (FIG. 11D). As secundárias são do tipo broquidrodoma (Fig. 10A, 10F) com cerca de 16 pares de nervuras secundárias em *A. carapanauba*, *A. excelsum*, sendo estas nervuras alternas irregulares (Fig. 10A, 10D). Estas observações também foram vista em *A. pyricollum*, por FERRAZ & PIMENTA (1988), VALENTE (1973) e MORRETES & FERRI (1959), estudando a mesma espécie. Em *A. marcgravianum*, estudada por ALBUQUERQUE (1971), observa-se a olho nu as laçadas na margem, enquanto a *A. carapanauba*, na medida em que se aproximam da margem, essas nervuras vão tornando-se menos evidentes. Já em *A. spruceanum* e *A. desmanthum* são do tipo craspedódroma com 23 pares de nervuras secundárias e nervuras intramarginais alternas (Fig. 11A, 11 D). Este padrão também foi encontrado por ALBUQUERQUE (1968) em *A. album* e QUINET & ANDREATA (2005) em *A. compactinervium*. Estes últimos autores verificaram que *A. parvifolium* e *A. pyricollum* apresentam padrão camptódromo, discordando de FERRAZ & PIMENTA *loc. cit.* para a última espécies citada.

As nervuras de terceira ordem, em todas as espécies estudadas, são reticuladas ao acaso (Fig. 10E, 10G, 11B) e as de quarta ordem dicotomizadas (Fig. 10B, 10C, 10G), também verificado em *A. obscurinervium*, por ALBUQUERQUE (1968). Em *A. carapanauba* estas nervuras são inconspícuas de difícil visualização, mesmo sob microscópio. O adensamento das mesmas podem ser utilizados para distinção entre as espécies. Na *A. spruceanum* as terminações são mais retas, enquanto que em *A. desmanthum* tendem ao tipo escorpióide (Fig. 11B, 11E, 11 F). A areolação apresentam mais de quatro braços em todas as espécies (Fig. 11F).

CONCLUSÕES

As características anatômicas que contribuem na distinção das espécies estudadas são:

- ↻ No campo, o padrão de venação permite a distinção das espécies;
- ↻ Os tricomas tectores que apresentam alta densidade em *Aspidosperma spruceanum* e raros em *Aspidosperma desmanthum*;
- ↻ A emergência dos esclereídeos emergentes na superfície foliar adaxial de *A. spruceanum* e *A. desmanthum*;
- ↻ A organização dos tecidos vasculares dos pecíolos diferenciam todas as espécies estudadas;

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, B. W. P. Contribuição ao conhecimento de *Couma macrocarpa* Barb. Rodr. e *C. utilis* (Mart.) M. Arg. (Apocynaceae) da Amazônia. **Acta Amazônica**. Ano 3, n.2, 1973.

ALBUQUERQUE, B. W. P. de. Contribuição ao conhecimento das *Aspidosperma* da Amazônia brasileira (Apocynaceae). **Acta Amazônica**. V.1, n.3,1971.

ALBUQUERQUE, B. W. P. de. Contribuição ao conhecimento de *Aspidosperma album* (vahl) R. Ben. E *Aspidosperma obscurinervium* Azambuja, da Amazônia – INPA. **Botânica**. Publicação nº 26,1968.

ARNOTT, H. J. 1959. **Leaf Clearings**. Turtox News, v.37, n.8, p. 139-195. 1959.

DEMARCO, D.; KINOSHITA, L. S. & CASTRO, M. M. de. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. **Revista Brasileira de Botânica**. V. 29, n.1, 2006.

DUARTE, A. P. **O Problema da Especiação no Gênero *Aspidosperma***. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Volume XXI, 1977.

ENDRESS, M. E. & BRUYNS, P. V. A revised Classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review**, v. 66, n. 1,2000.

ESAU, K. **Anatomia de plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher,1974.

FAHN, A. **Anatomia Vegetal**. 2 ed, Madri, H. Blume,1974.

FAHN, A. **Secretory tissues in the plants**. London,1979.

FALCÃO, W. F. A. de. Nota sobre a *Allamanda schottii* Pohl (Apocynaceae). **Rodriguesia**, n. 35 e 36,1960 / 1961.

FERRAZ, C. L. A. DE & PIMENTA, I. S. M. Anatomia foliar de *Aspidosperma pyricollum* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Bradea**. V. V, n. 10,1988.

FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. Toronto. London,1949.

FRANCESCHI, V. R. & HORNER JR. H. T. Calcium oxalate crystals in plants. **The Botanical Review**, v. 46, n. 4, 1980.

FREITAS, A. D. D. de. **Aspectos tecnológicos e morfoanatômicos de sementes maduras, plântulas e plantas jovens de *A. spruceanum***, 2008. Dissertação de Mestrado em botânica Tropical, Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi. 130p.

GONÇALVES, C. R.. Sobre a provável ocorrência de borracha no clorênquima de *rauvolfia grandiflora* Mart. (Apocynaceae). **Rodriguesia**, Nº 35 e 36,1960 / 1961.

HICKEY, L. J. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. **American Journal of Botany**, Nº 60,1973.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. Bombay: Tata McGraw-Hill Book Company, 1940.

KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**, EDUR, **Seropédica**, 1997.

LANGERON, M. **Précis de microscopie**, Paris, Masson et Cie. Editers, 1949.

MARCONDES-FERREIRA, W. **Aspidosperma Mart. Nom. cons. (Apocynaceae) estudos taxonômicos**, 1988. Tese de Doutorado em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.

METCALFE C. R. & CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. V. 2, Clarendon Press, Oxford, 1950.

METCALFE, C. R. & Chalk, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford, Clarendon, v. 01, 1979.

METCALFE, C. R. Distribution of látex in the plant kingdom. **Economic Botany**, v. 21, n.2, 1967.

MORRETES, B. L. DE & FERRI, M. G. **Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado**. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Botânica*, Universidade de São Paulo, Boletim 243, nº 16, 1956.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N. & MCCULLY, M. E. **Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue o**. *Protoplasma*, v. 59, n.2, 1964.

PACHECO, J. M. Contribuição ao estudo anatômico da espécie *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Var. *roseus* (Apocynaceae). **Rodriguesia**, Ano 32, nº 52, 1980.

PACHECO, J. M. **Estudo farmacognóstico do *Aspidosperma pyrifolium* Mart. Popularmente conhecido por pereiro-preto**. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v. 23, 1979.

POEMA. **Perfil sócio-econômico da Agricultura familiar em Santa Bárbara do Pará – PA**, Belém, 2006.

QUINET C. G. P. & ANDREATA, R. H. P. Estudo taxonômico e morfológico das espécies de Apocynaceae Adans. na reserva rio das pedras, município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas Série Botânica**. Nº 56, 2005.

RIBEIRO, J. E. L. S; HOPKINS, M. J. G; VICENTINI, A; SOTHERS, C. A; COSTA, M.S; BRITO, J. M; SOUZA, M.A. D; MARTINS, L. H. P; LOHMANN, L. G; ASSUNÇÃO, P. A. C. L; PEREIRA, E. C; SILVA, C. F; MESQUITA, M. R & PROCÓPIO, L. C. 1999. **Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia central**. Manaus, 816 p. il. Instituto nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA.

SASS, J. E.. **Botanical microtechnique**. 2ª ed. Ames, The Iowa State College Press, 1951.

SCREMIN-DIAS, E. **Anatomia ecológica de espécies nativas: relação entre o ambiente e a estrutura é casual ou adaptativa**. In BARBOSA, L. M. & SANTOS

JR., N. A. dos. A botânica no Brasil: *Pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais*, p. 384-388, 2007.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y. & CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasílica**, v. 19, n.1,2005.

SILVEIRA, M. O. O preparo de amostras biológicas para microscopia de varredura. In W. de Souza (ed.) Manual sobre técnica básica em microscopia eletrônica de varredura, técnicas básicas. **Sociedade brasileira de microscopia eletrônica**, v. 1, 1989.

SOLEREDER, H. **Systematic Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford, Claredon Press, v.1, 1908.

THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L. & ROLLINS, R. Trichome description and classification. In Metcalfe, C. R. & Chalk, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford, Claredon, v.1,1979.

VALENTE, M. C. da. **Catalogo de nervação foliar das Apocynaceae da caatinga II**. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v. XIX, p. 257-267,1973.

WOODSON, R. E. Studies in the Apocynaceae VIII. An interim revision of the genus *Aspidosperma* Mart. & Zucc. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 38, p. 119-206,1951.

WOODSON, R. E. & MOORE, J. A. The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceous flowers. **Bulletin of the torrey botanical club**, v. 65, p. 135-165, 1938.