

**ANALU ZANOTTI ÁVILA**

**ASPECTOS TAXONÔMICOS DE *Sapium* Jacq. E *Stillingia* L. (EUPHORBIACEAE  
JUSS.): CONTRIBUIÇÕES DA ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira

Coorientadora: Sarah Maria Athiê-Souza

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A958a  
2023      Ávila, Analu Zanotti, 1990-  
Aspectos taxonômicos de *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L.  
(Euphorbiaceae Juss.): contribuições da anatomia e ultraestrutura  
/ Analu Zanotti Ávila. – Viçosa, MG, 2023.  
1 tese eletrônica (81 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Renata Maria Strozi Alves Meira.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Vegetal, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.164>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Magnoliopsida*. 2. *Euphorbiaceae*. 3. *Hippomaneae*. 4.  
*Sapium*. 5. *Stillingia*. 6. Plantas - Anatomia. 7. Látex. I. Meira,  
Renata Maria Strozi Alves, 1964-. II. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de  
Pós-Graduação em Botânica. III. Título.

CDD 22. ed. 583


**ANALU ZANOTTI ÁVILA**

**ASPECTOS TAXONÔMICOS DE *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L. (EUPHORBIACEAE  
JUSS.): CONTRIBUIÇÕES DA ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 13 de janeiro de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 ANALU ZANOTTI AVILA  
Data: 19/07/2023 14:07:53-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Analu Zanotti Ávila**  
Autora

Documento assinado digitalmente  
 RENATA MARIA STROZI ALVES MEIRA  
Data: 19/07/2023 11:07:51-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Renata Maria Strozi Alves Meira**  
Orientadora

Aos pesquisadores do Brasil, dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao me sentar à frente do computador para escrever sobre tudo que sou grata, não posso deixar de citar toda bagagem não acadêmica que estes 6 anos de Viçosa me conferiram e que lembrarei para sempre com muito carinho. Me torno hoje não só doutora, mas também uma pessoa mais capaz, mais corajosa, com mais repertório e mais degraus de uma escada ainda muito longa e desconhecida.

Entre uma e saio outra, e só levo a certeza de que muito pouco sei...ou nada sei.

Sou grata a Jesus, a força superior que me guia e me guarda.

Universidade Federal de Viçosa, obrigada por ter sido minha casa, ter me permitido conhecer uma pá de amigos, um marido incrível e mestres inspiradores.

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

Obrigada Renata por ter aceitado me orientar desde o mestrado, pelas conversas, pelas aulas, por todo o aprendizado e pelo impecável bom humor. Me lembro de quando passei no mestrado alguém me falou que agora tudo ia ser mais difícil e que não teria ninguém para pegar na minha mão e me mostrar o caminho. Pois você não apenas pegou na minha mão e mostrou o caminho, como também me fez enxergar muito além do que eu esperava. É impossível conviver com você sem te admirar. E já estou com saudades disso.

Obrigada aos professores e técnicos pelo trabalho de excelência exercido. Às meninas da limpeza, em especial Verinha e Aline pelo bom humor e gentileza diários.

Professora Aristéa, foi um prazer conviver com você! Conheci seu nome ainda na graduação e foi um privilégio gigante ter feito parte desse Programa de Pós tão vinculado a sua história. Tenho honra de ter sido sua aluna. Também agradeço imensamente toda a ajuda e compreensão do Gilmar no NMM com a nossa luta de conseguir a melhor foto, enquanto ele contava uns causos. Sempre que vou meditar, lembro do Ruschi numa pirâmide de vidro hahahahahah.

Luzimar, obrigada pelo carinho, risadas e ensinamentos. Sua animação contagia! Gostaria de ter tomado mais cervejas com você.

Ao Seletão de Vênus Eterna, Cristiele, Luana, Katiúscia, Daniel, Ivanilson, Ivan e Ana Paula. Obrigada pelos bons momentos que passamos juntos com nossas conversas produtivas sobre onça do paraíso, feijoada de Luzia e inimigo oculto. Aliás, ouvi boatos de que a onça não foi atropelada, e sim morta pelo Sharel.

Aos Titãs pelas incontáveis horas de coloração com pouco ou quase nenhum desentendimento.

Aos amigos da velha e nova guarda:

Patrícia, Priscila, Ronaldo, Daniela, João Victor, Luiz Henrique, Letícia, Rafael, Isabel, Camila, Michel, Hugo, Graciele, Flanklin, Joseane meu muito obrigada por cada experiência, cada conversa, cada risada, cada momento.

Valéria, minha mentora pessoal de microscopia eletrônica! Tudo que consegui fazer na transmissão foi graças a você. Sem contar que além de inteligentíssima, é gente boa demais! Obrigada pela amizade e parceria.

Aurora, Aurorinha! Ao longo desses anos amei conviver com você e desenvolver nossa amizade! Muito obrigada por todo carinho que sempre teve comigo, as conversas, os ensinamentos.

Miller, Miloca...o cara que anima a festa e confunde a gente com os assuntos aleatórios hahahahah você tem um coração gigante e está sempre lutando pelo que acredita. Saudade das sessões de conversa profunda sobre coisas que a gente não entende nada ou muito pouco.

Elienai, quando você chegou no laboratório eu pensei: nossa essa menina deve ser uma chataaaa, e por incrível que pareça, eu estava certa. Mas você se tornou mais do que chata, se tornou minha melhor amiga, a pessoa que estava alí sempre de coração aberto, que me aconselhou, me acolheu, teve paciência infinita e compartilhou seu mundo. Aprendi muito com você e agradeço imensamente tudo que você representou nesse período da minha vida.

Danizete, o dinossauro dos Renatetes, a enciclopédia humana, mestre das técnicas e das referências, rei do “em 1867 a civilização humana passou por um...”, a pessoa que todos buscam quando querem respostas. Obrigada pela parceria e amizade. Eu não sabia que era tão fluente em português até te conhecer.

Clara, minha amiga e parceira de laboratório desde Alegre! Talvez você não saiba, mas me inspiro em você para muitas coisas que preciso de foco e garra pra conseguir.

Rosana, obrigada pelo carinho, conversas e biscoitinhos no café.

A todos os nomes que porventura eu me esqueci, agradeço imensamente toda a contribuição e troca de experiências durante esses anos.

À minha psicóloga Gisele por ter me ajudado percorrer um caminho que sozinha eu não conseguiria. Obrigada por ainda estar lá, pra quando eu precisar de uma placa na encruzilhada.

Pai e Mãe, ouro de mina. Muito obrigada por terem se conhecido na década de 80.

À disciplina de Ecofisiologia Vegetal, minha eterna gratidão ♥

Obrigada UFV, a mais linda do Brasil!

Ela foi uma menina da década de 90 que cresceu no interior do Espírito Santo rodeada de verde, mata e bicho. De manhã, gostava de ficar esperando o sol nascer só para admirar a água evaporando das folhas. Ia pra escola ansiando pela aula de ciências, que era a mais legal de todas pra ela. Ganhava até da Educação Física. Por planta não se interessava muito não, preferia bicho “por que se mexe, né?” Antes dos 8 anos já teve gato, cachorro, periquito, tartaruga, preá e jabuti. Quando perguntavam o que ela “gostaria de ser” quando crescesse, nunca respondia.

Uma vez, na TV, viu uma reportagem que dizia assim:

*Em 1862, Charles Darwin se deparou com uma espécie de orquídea de Madagascar cujo tubo de néctar era bastante extenso: 30 centímetros de comprimento. O naturalista então imaginou que apenas uma mariposa com uma língua extraordinariamente longa seria capaz de alcançar a substância que fica no fundo desses canais. **Mais de um século depois da especulação do cientista, o inseto finalmente foi reconhecido como uma nova espécie [...]. Em 1867, o naturalista Alfred Russel Wallace escreveu: “Que uma mariposa do tipo existe em Madagascar pode ser previsto com segurança, e naturalistas que visitam a ilha devem buscar por ela com tanta confiança quanto os astrônomos que procuraram Netuno – e eles serão igualmente bem-sucedidos”.***

Uma mariposa com uma tromba de 30 centímetros! Isso virou até piada entre os pesquisadores da época e foi preciso mais de 100 anos para que ela fosse reconhecida. A menina ficou tão maravilhada com aquilo que quiz ser cientista.

Quando entrou na faculdade se deparou com a Botânica e não largou mais. Era uma das poucas da sala que achava planta “massa”, que se entusiasmava com fisiologia vegetal, que não se atrasava nas aulas de sistemática e que caía de amores pela anatomia. Botânica era sua ciência arte!

Foi a primeira da família a se graduar no ensino superior. Foi morar em outro estado para cursar o mestrado e hoje está concluindo seu doutorado na ciência que a cativou, anos atrás.

Essa menina não precisava responder o que seria quando crescesse por que ela já era bióloga desde cedinho, quando ficava intrigada observando insetos na grama, quando achava o máximo ver gotinhas de água nas margens de uma folha, quando chorava vendo notícia de que alguma espécie entrou em extinção, alguma mata pegou fogo, algum bioma foi depredado...

Ela já era bióloga e acredita que todo mundo nasce um pouco cientista...

Ela é muito grata a todos os mestres que a ajudaram a entender melhor tudo aquilo que a encantava!

No quintal lá de casa  
Passava um pequeno rio  
Que descia lá da serra  
Ligeiro escorregadio  
A água era cristalina  
Que dava pra ver o chão  
Ia cortando a floresta  
Na direção do sertão  
Lembrança ainda me resta  
Guardada no coração  
E tudo era azul celeste  
Brasileiro cor de anil  
Nem bem começava o ano  
Já era final de abril  
E o vento pastoreando  
Aquelas nuvens no céu  
Fazia o mundo girar  
Veloz como um carrossel  
E levantava a poeira  
E me arrancava o chapéu  
Ah o tempo faz, tempo desfaz  
E vai além sempre...  
A vida vem lá de longe  
É como se fosse um rio  
Pra rio pequeno canoa  
Pros grandes rios navios  
E bem lá no fim de tudo  
Começo de outro lugar  
Será como Deus quiser  
Como o destino mandar  
No rastro da lua cheia  
Se chega em qualquer lugar.

No rastro da lua cheia  
Almir Sater e Renato Teixeira

## RESUMO

ZANOTTI-ÁVILA, Analu, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2023. **Aspectos taxonômicos de *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L. (Euphorbiaceae Juss.): contribuições da anatomia e ultraestrutura.** Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira. Coorientadora: Sarah Maria Athiê-Souza.

Hippomaneae é uma tribo de Euphorbiaceae com aproximadamente 30 gêneros e 330 espécies. A delimitação dos táxons de Hippomaneae apresenta discordâncias e um dos fatores que explica isso são caracteres florais morfológicamente homogêneos entre as espécies. Caracteres anatômicos foliares, em especial das estruturas secretoras aplicados aos estudos taxonômicos contribuem para auxiliar na delimitação infragenérica em diversos gêneros de Euphorbiaceae. Apesar dos progressos no entendimento da tribo, algumas dúvidas persistem entre alguns grupos, dentre eles *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L., dois dos cinco maiores gêneros de Hippomaneae, comumente confundidos entre si. Esses gêneros são relevantes objetos de estudo para investigar caracteres anatômicos das folhas, com a inclusão da caracterização das glândulas, o que pode contribuir para a circunscrição de táxons. O estudo anatômico das glândulas foliares mostra-se como importante evidência morfológica para distinção de espécies em Euphorbiaceae e ainda há muito a ser explorado. Dentre essas estruturas, laticíferos são emblemáticos em Euphorbioideae. Laticíferos são responsáveis pela produção e armazenamento de látex que possui constituição química diversa e atua na cicatrização de lesões e proteção contra herbivoria. *Sapium glandulosum* (L.) Morong é conhecida popularmente como leiteiro, devido a exsudação de látex esbranquiçado e volumoso quando ocorre ferimento. Amostras de folhas de exsicatas provenientes de herbários nacionais e internacionais foram submetidas a técnicas usuais de microscopia de luz e os dados gerados foram analisados por similaridade. Este estudo proveu caracteres úteis na distinção dos gêneros avaliados e um aprofundamento no conhecimento acerca da tipologia e atividade biológica dos laticíferos em *Sapium*. A similaridade anatômica observada entre *Stillingia peruviana* D.J. Rogers e as espécies de *Sapium* deve ser considerada em trabalhos taxonômicos futuros para avaliar o posicionamento desta espécie. Dados anatômicos exclusivos sobre glândulas de *Sapium* e *Stillingia* foram gerados.

Palavras-chave: Estruturas secretoras. Anatomia vegetal. Laticíferos. Látex.

## ABSTRACT

ZANOTTI-ÁVILA, Analu, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January 2023. **Taxonomic aspects of *Sapium* Jacq. and *Stillingia* L. (Euphorbiaceae Juss.): contributions from anatomy and ultrastructure.** Advisor: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-advisor: Sarah Maria Athiê-Souza.

Hippomaneae is a tribe of Euphorbiaceae with approximately 30 genera and 330 species. The delimitation of Hippomaneae taxa presents disagreements, mostly because of the valuation of floral characters, which in the tribe are morphologically homogeneous between species. Anatomical characters applied to taxonomic studies have contributed to aid the delimitation in several genera of Euphorbiaceae. Despite progress in understanding the tribe organization, some doubts persist among some groups, including *Sapium* Jacq. and *Stillingia* L., two of the five more diverse Hippomaneae genera, commonly confused with each other. These genera are relevant objects of study to investigate micromorphological characters of the leaves, including the glands, which may contribute to the circumscription of taxa. The anatomical study of leaf glands is shown to be important morphological evidence for distinction between species in Euphorbiaceae and there is still much to be explored in these data. Among these structures, laticifers are emblematic in Euphorbioideae. Laticifers are responsible for the production and storage of latex, which has a diverse chemical constitution and acts in wound healing and protection against herbivory. *Sapium glandulosum* (L.) Morong is popularly known in Brazil as *leiteiro*, something like milch, due to the exudation of whitish and voluminous latex when an injury occurs. This study provided useful characters in distinguishing the evaluated genera and deepening the knowledge about the typology and biological activity of laticifers in *Sapium*. An unexpected anatomical similarity between *Stillingia peruviana* D.J. Rogers and *Sapium* species has been observed and should be considered in future taxonomic work to assess the placement of this species. Unique anatomical data on *Sapium* and *Stillingia* glands were generated.

Keywords: Secretory structures. Plant anatomy. Laticifers. Latex.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>18</b>
Contribuições da anatomia foliar para identificação de <i>Sapium</i> Jacq. e <i>Stillingia</i> L. (Euphorbiaceae Juss.) .....	18
<b>Resumo .....</b>	<b>18</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>19</b>
<b>2. Material e métodos .....</b>	<b>20</b>
2.1 Microscopia de luz.....	20
2.2 Análise fenética.....	21
<b>3. Resultados .....</b>	<b>22</b>
3.1 Lâmina foliar.....	22
3.2 Pecíolo .....	24
3.3 Estruturas secretoras .....	25
3.4 Análise de similaridade.....	27
<b>4. Discussão .....</b>	<b>28</b>
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>32</b>
<b>6. Referências .....</b>	<b>33</b>
<b>FIGURAS .....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>53</b>
1. Chave anatômica de identificação para <i>Sapium</i> . .....	53
2. Chave anatômica de identificação para <i>Stillingia</i> . .....	53
3. Quadros e Tabelas.....	55
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>66</b>
Ontogenia, histoquímica e ultraestrutura dos laticíferos em <i>Sapium glandulosum</i> (L.) Morong. (Euphorbiaceae): considerações sobre a sistemática de Hippomaneae. ....	66
<b>Resumo .....</b>	<b>66</b>
<b>1 – Introdução .....</b>	<b>67</b>
<b>2 - Material e métodos .....</b>	<b>68</b>
2.1 - Microscopia de luz .....	68
2.2 - Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	69
<b>3 - Resultados .....</b>	<b>69</b>
<b>4 – Discussão .....</b>	<b>70</b>

<b>5 – Conclusões .....</b>	<b>72</b>
<b>6 - Referências .....</b>	<b>72</b>
<b>FIGURAS .....</b>	<b>76</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>81</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

Hippomaneae, uma das maiores tribos de Euphorbiaceae, sendo circunscrita por aproximadamente 330 espécies distribuídas em 30 gêneros Pantropicais (Webster, 2014). A delimitação dos táxons de Hippomaneae tem um histórico de discordância entre os autores clássicos devido à morfologia homogênea de caracteres florais entre os táxons (Jussieu, 1824; Müller, 1863, 1866, 1873; Baillon, 1864; Pax, 1912). O potencial de caracteres anatômicos foliares e, em especial, das estruturas secretoras como subsídio taxonômico tem se mostrado valioso e contribuído para auxiliar na delimitação infragenérica de vários gêneros de Euphorbiaceae (Metcalf e Chalk, 1950; Vitarelli et al. 2015, 2016; James et al., 2021; Mouzella, 2020; Cardiel et al., 2020).

Apesar dos recentes progressos de cunho taxonômico em Hippomaneae (Pscheidt e Cordeiro, 2017; Athiê-Souza et al., 2019; 2020), algumas dúvidas persistem, como a histórica afinidade morfológica e filogenética entre *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L. (Klotzsch, 1841; Baillon, 1858; Esser et al. 1997; Wurdack et al. 2005).

*Sapium* e *Stillingia* configuram como dois dos cinco maiores gêneros de Hippomaneae, com cerca de 25 e 30 espécies, respectivamente, sendo comumente confundidos entre si. Do ponto de vista filogenético, as inferências existentes são inconclusivas já que a amostragem dos dois gêneros em estudos filogenéticos foi insuficiente para apresentar resultados conclusivos (Wurdack et al. 2005). Porém, evidências apresentadas por Esser et al. (1997) e Wurdack et al. (2005), com base em um universo amostral pouco representativo, sugerem que ambos os gêneros não são monofiléticos.

Algumas espécies de *Sapium* e *Stillingia* destacam-se pela plasticidade macromorfológica vegetativa e pela morfologia floral pouco variável, dificultando a identificação das mesmas. Nestes casos, a morfologia foliar muitas vezes é utilizada para a identificação dos táxons (Burger e Huft, 1995; Kruijt, 1996). Assim, esses gêneros são relevantes objetos de estudo para investigar caracteres anatomicos que possam contribuir para a resolução dos problemas taxonômicos, em especial quanto à circunscrição de táxons.

O estudo anatômico das glândulas foliares mostra-se como importante evidência morfológica para distinção de espécies em Euphorbiaceae, como observamos em *Sapium* (Coutinho et al., 2010; Demarco et al., 2013, Andrade et al., 2017). Ainda há muito a se explorar nesses dados e a sua aplicabilidade na taxonomia desses grupos. Em especial, laticíferos são estruturas secretoras emblemáticas de Euphorbioideae (Rudall, 1987). Laticíferos são estruturas secretoras internas formadas por uma ou um conjunto de células internas ao corpo da planta,

que adquirem o formato de tubo (Metcalf 1983; Evert 2006; Hagel et al. 2008). Laticíferos são responsáveis pela produção e armazenamento de látex (Fahn 1979), que ao final do desenvolvimento constitui todo o protoplasto da glândula (Demarco et al., 2006), possui constituição química diversa (Yoder e Mahlberg 1976; Fahn 1979; Biesboer e Mahlberg 1981) e atua na cicatrização de lesões e proteção contra herbivoria (Fahn, 1979; Konno et al., 2004; 2006; Konno 2011; Prado e Demarco, 2018).

A presença e a tipologia dos laticíferos, bem como a composição química do exsudado são caracteres úteis para estudos sistemáticos e contribui para compreensão das relações evolutivas entre diferentes taxa (Dehgan, 1978; Mahlberg, 1987; Rudall, 1994; Demarco et al., 2013; Mouzella, 2020).

*Sapium glandulosum* Jacq. destaca-se no gênero por ser a espécie de maior amplitude de distribuição geográfica e é utilizada tradicionalmente em tratamentos cicatrizantes (Andrade et al., 2017) é conhecida popularmente como leiteiro, devido a exsudação de látex esbranquiçado e volumoso quando ocorre ferimento (Al Muqarrabun et al. 2014). Andrade et al. (2017) descreveu os laticíferos de *S. glandulosum* como não articulados, porém não foram feitos estudos ontogenéticos que confirmassem essa informação.

Nesta pesquisa, nós analisamos *Sapium* e *Stillingia* e apresentamos os resultados em dois capítulos:

**Capítulo 1:** Contribuições da anatomia foliar para identificação de *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L. (Euphorbiaceae Juss.).

**Capítulo 2:** Ontogenia, histoquímica e ultraestrutura dos laticíferos em *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): considerações sobre a sistemática de Hippomaneae.

No capítulo 1 abordamos a anatomia aplicada a taxonomia em *Sapium* e *Stillingia* correlacionando a análise a dados preexistentes sobre os gêneros. No capítulo 2 realizamos um estudo anatômico, histoquímico e ultraestrutural acerca dos laticíferos de *S. glandulosum* e elucidamos algumas lacunas sobre a ontogenia, composição química do exsudado e processo de secreção celular.

## REFERÊNCIAS

- Al Muqarrabun, L.M.R., Ahmat, N., Aris, S.R.S. 2014. A review of the medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Sapium*. Journal of Ethnopharmacology, 155(1): 9-20.

- Andrade, E.A., Folquitto, D.G., Luz, L.E.C., Paludo, K.S., Farago, P.V., Budel, J.M. 2017. Anatomy and histochemistry of leaves and stems of *Sapium glandulosum*. *Revista brasileira de Farmacognosia*, 27: 282-289.
- Athiê-Souza, S.M., de Melo, A.L., da Silva, M.J., de Sales, M.F., Athiê-Souza, S.M., de Melo, A., da Silva, M., de Sales, M. 2019. Taxonomic notes on *Stillingia* (Euphorbiaceae): typifications and a new synonym under *S. salpingadenia*. *Kew Bulletin*, 74: 1-7.
- Athiê-Souza, S.M., Melo, A.L., Silva, M.J., Sales, M.F. 2020. Relevância sistemática da morfologia de frutos dos gêneros americanos da tribo Hippomaneae A. Juss. ex Bartl. (Euphorbiaceae A. Juss.). *Revista Nordestina de Biologia*, 28(1): 46-65.
- Baillon, H.E. 1864. Species Euphorbiacearum Euphorbiacées Américaines. *Adansonia* 4: 257-377.
- Biesboer, D.D., Mahlberg, P.G. 1981. Laticifer starch grain morphology and laticifer evolution in Euphorbia (Euphorbiaceae). *Nordic Journal of Botany*, 1(3): 447-457.
- Burger, W., Huft, M. 1995. Flora Costaricensis: Family #113 Euphorbiaceae. *Fieldiana, Botany*, 36: 1-169.
- Cardiel, JM., Montero-Muñoz, I., Ortúñez, E., Dorda, E., Sancho-García, I. 2020. Epidermal crystals in *Acalypha* (Euphorbiaceae, Acalyphoideae) as a new taxonomic trait of the genus. *Plant Systematics and Evolution*, 306(5): 1-18.
- Coutinho, Í.A.C., Valente, V.M.M., Meira, R.M.S.A. 2010. Ontogenetic, anatomical and histochemical study of the extrafloral nectaries of *Sapium biglandulosum* (Euphorbiaceae). *Australian Journal of Botany*, 58: 224-232.
- Dehgan, B., Craig, M.E. 1978. Types of laticifers and crystals in *Jatropha* and their taxonomic implications. *American Journal of Botany*, 65(3): 345-352.
- Demarco, D., Castro, M.M., Ascensão, L. 2013. Two laticifer systems in *Sapium haematospermum* new records for Euphorbiaceae. *Botany*, 91: 545-554.
- Demarco, D., Kinoshita, L.S., Castro, M.M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados: novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 29:133–144.
- Esser, H.J., Van Welzen, P., Djarwaningsih, T. 1997. A phylogenetic classification of the Malesian Hippomaneae (Euphorbiaceae). *Systematic Botany*, 22(4): 617-628.
- Evert, R.F. 2006. *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. Wiley, Hoboken.
- Fahn A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London.

- Hagel, J.M., Yeung, E.C., Facchini, P.J. 2008. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends in Plant Sciences*, 13(12): 631–639.
- James, O.E., Green, B.O., Ajuru, M.G. and Wilson, V., 2021. Foliar epidermal anatomy and its taxonomic implications within the family Euphorbiaceae in the Niger Delta Region of Nigeria. *International Journal of Frontier Research in Science*, 1(1): 048-055.
- Jussieu, A.L. 1824. *De Euphorbiacearum generibus medicibusque earundem viribus tentamen*. Didot, Paris.
- Klotzsch, J.F. 1841. Neue und weniger gekannte südamerikanische Euphorbiaceen-Gattungen. *Archiv für Naturgeschichte*, 7(1): 175–204.
- Konno, K., Hirayama, C., Nakamura, M., Tateishi, K., Tamura, Y., Hattori, M. 2004. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. *The Plant Journal*, 37: 370-378.
- Konno, K., Ono, H., Nakamura, M., Tateishi, K., Hirayama, C., Tamura, Y., Kohno, K. 2006. Mulberry latex rich in antidiabetic sugar-mimic alkaloids forces dieting on caterpillars. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103:1337-1341.
- Kruijt, R.C.A. 1996. A taxonomic monograph of *Sapium* Jacq., *Anomostachys* (Baill.) Hurus, *Duvigneaudia* J. Léonard and *Sclerocroton* Hochst. (Euphorbiaceae - tribe Hippomaneae). *Bibliotheca Botanica*, 146: 1–109.
- Mahlberg, P.G., Davis, D.G., Galitz, D.S., Manners, G.D. 1987. Laticifers and the classification of *Euphorbia*: the chemotaxonomy of *Euphorbia esula* L. *Botanical journal of the Linnean Society*, 94(1-2): 165-180.
- Metcalf, C. R., Chalk, L. 1983. Secretory structures: cells, cavities, and canals in leaves and stems. *Anatomy of the Dicotyledons*, 2: 64-67.
- Metcalf, C.R., Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford Clarendon Press, London.
- Mouzella, C.P. 2020. Laticíferos são incomuns em Acalyphoideae? Contribuições da anatomia foliar para taxonomia de Euphorbiaceae. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil.
- Müller J. 1866. Euphorbiaceae. In: De Candolle, AP. (Eds.) *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*, 15(2): 189–1273.
- Müller, J. 1873. Euphorbiaceae, Hippomaneae. In: Martius, C. F. V.; Eichler, A. G.; Urban, I. (Eds.), *Flora Brasiliensis*. v. 11, n. 2, Leipzig: F. Fleischer, p. 433-634.
- Müller. J. 1863. Euphorbiaceae. Vorläufige Mitteilungen aus dem für De Candolle's *Prodromus* bestimmten Manuscript über diese Familie. *Linnaea*, 32: 1-126.

- Pax, F., Hoffmann, K. 1912. Euphorbiaceae-Hippomaneae. In: Engler, A. (Ed.) Das Pflanzenreich regni vegetabilis conspectus, 4(147): 1–319.
- Prado, E., Demarco, D. 2018. Chapter 6: Laticifers and secretory ducts: Similarities and Differences. In L. Hufnagel (Ed.), Ecosystem services and global ecology. London, United Kingdom: Szent Istvan University. IntechOpen Limited.
- Pscheidt, A.C., Cordeiro, I. 2012. Sinopse da tribo Hippomaneae (Euphorbiaceae) no Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea*, 39: 347-368.
- Rudall, P.J. 1994. Laticifers in Crotonoideae (Euphorbiaceae): homology and evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 37: 270-282.
- Rudall, P.J. 1987. Laticifers in Euphorbiaceae—a conspectus. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 94(1-2): 143-163.
- Vitarelli, N.C., Riina, R., Caruzo, M.B.R., Cordeiro, I., Fuertes-Aguilar, J., Meira, R.M.S.A. 2015. Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): diversity, anatomy and evolutionary significance. *American Journal of Botany*, 102: 833–847.
- Vitarelli, N.C., Riina, R., Cassino, M.F., Meira, R.M.S.A. 2016. Trichome-like emergences in *Croton* of Brazilian highland rock outcrops: evidences for atmospheric water uptake. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 22: 23–35.
- Wurdack, K.J., Hoffmann, P., Chase, M.W. 2005. Molecular phylogenetic analysis of iniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid *rbcL* and *trnL-F* DNA sequences. *American Journal of Botany* 92(8): 1397-1420, 2005.
- Yoder, L.R., Mahlberg, P.G. 1976. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). *American Journal of Botany*, 63(9): 1167-1173.

## CAPÍTULO 1

Contribuições da anatomia foliar para identificação de *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L. (Euphorbiaceae Juss.)

### Resumo

Com cerca de 30 gêneros e 330 espécies, a tribo Hippomaneae destaca-se dentre as Euphorbiaceae pelas discordâncias quanto a delimitação dos táxons. Os caracteres morfológicos florais são relevantes, no entanto, são morfológicamente homogêneos, o que estimula uma discordância de identificação entre as espécies dessa tribo. A anatomia tem contribuído para a sistemática de Euphorbiaceae, fornecendo caracteres anatômicos que têm auxiliado na delimitação infragenérica em diversos gêneros. Apesar dos progressos no entendimento das relações filogenéticas na tribo, algumas dúvidas persistem entre alguns grupos, dentre eles *Sapium* Jacq. e *Stillingia* L., dois dos cinco maiores gêneros de Hippomaneae que comumente são confundidos entre si. Esses gêneros são relevantes objetos de estudo para investigar caracteres micromorfológicos das folhas, com inclusão de uma avaliação detalhada das glândulas, evidenciando dados que possam contribuir para a circunscrição desses táxons. O estudo anatômico de glândulas foliares como nectários, coléteres e laticíferos mostra-se como importante evidência morfológica para distinção de espécies em Euphorbiaceae, mas ainda há muito a se explorar nesse contexto. Foram utilizadas técnicas usuais de microscopia de luz para avaliar a anatomia foliar de algumas espécies de *Sapium* e *Stillingia*. Caracteres foram identificados como úteis na distinção dos gêneros avaliados. A similaridade anatômica observada entre *Stillingia peruviana* e as espécies de *Sapium* deve ser considerada em futuros trabalhos taxonômicos para avaliar o posicionamento desta espécie. Dados anatômicos exclusivos sobre glândulas de *Sapium* e *Stillingia* foram gerados.

Palavras-chave: Estruturas secretoras, anatomia vegetal, análise de similaridade.

## 1. Introdução

Hippomaneae (Euphorbioideae, Euphorbiaceae) é circunscrita por aproximadamente 33 gêneros e cerca de 330 espécies distribuídas com distribuição pantropical, com predominância nos neotrópicos onde são registrados mais de 50% dos gêneros (Webster, 2014). Esta tribo é caracterizada pelas inflorescências terminais ou axilares, espiciformes tirsoides, monoicas e alongadas, brácteas florais biglandulares, botões florais inclinados, flores apétalas, cálice com sépalas pequenas e imbricadas e estames eretos (Esser et al., 1997).

Historicamente, a delimitação dos táxons de Hippomaneae quase sempre foi discordante entre os autores clássicos, devido aos caracteres florais serem morfológicamente homogêneos entre algumas espécies (Jussieu, 1824; Müller, 1863, 1866, 1873; Baillon, 1864; Pax 1912). O potencial de caracteres anatômicos como subsídio taxonômico tem sido pouco explorado na tribo (Pax e Hoffmann, 1912; Kruijt, 1996; Esser, 2012), embora, abordagens anatômicas, especialmente foliares, têm se mostrado valiosas e contribuído para auxiliar na distinção de vários gêneros de Euphorbiaceae, tais como *Acalypha* L. (Mouzella, 2020; Cardiel et al., 2020) e *Euphorbia* L. (Bercu & Popoviciu, 2015); *Croton* L. (Metcalf e Chalk, 1950; Nepumoceno e Oliveira, 1979; Webster et al., 1996; Lucena e Sales, 2006; Mendonça et al. 2008; Vitarelli et al. 2015, 2016; Feio et al., 2018; Sodr e et al., 2019; 2022); *Jatropha* L. e *Manihot* Mill (James et al., 2021).

Dessa forma, considerando a relativa homogeneidade dos caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos em vários gêneros da tribo Hippomaneae, estudos com enfoque na micromorfologia mostram-se necessários, especialmente, em táxons historicamente ou morfológicamente relacionados, cujas afinidades encontram suporte na morfologia e em estudos filogenéticos (Esser et al., 1997; Wurdack et al., 2005). Apesar dos recentes progressos de cunho taxonômico na tribo (Esser, 1994; Kruijt, 1996; Oliveira, 2014; Cordeiro et al., 2010; Pscheidt e Cordeiro, 2017; Athiê-Souza et al., 2019; 2020), algumas d vidas persistem, como a histórica afinidade morfológica e filogenética entre *Sapium* e *Stillingia* (Klotzsch, 1841; Baillon, 1858; Esser et al. 1997; Wurdack et al. 2005).

*Sapium* e *Stillingia* configuram como dois dos cinco maiores gêneros de Hippomaneae, com cerca de 25 e 30 espécies, respectivamente. Esses gêneros são facilmente confundidos no est dio reprodutivo por compartilharem flores estaminadas com cálice 2-lobado e dois estames ligeiramente unidos entre si pelos filetes. Contudo, *Sapium* pode ser diferenciado de *Stillingia* por apresentar sépalas pistiladas unidas (vs. livres em *Stillingia*), sementes ariladas (vs. ausente

em *Stillingia*), glândulas foliares acropeciulares (vs. laminares em *Stillingia*) e ausência de carpidióforo (vs. presente em *Stillingia*) (Rogers 1951, Esser 2012, Cordeiro, 2017; Athiê-Souza et al., 2019). Do ponto de vista filogenético, as inferências existentes são inconclusivas, já que não existem estudos filogenéticos moleculares que abordam esses dois gêneros num amostragem significativa. Porém, evidências apresentadas por Esser et al. (1997), Wurdack et al. (2005) e Sun et al. (2016) com base em um universo amostral pouco representativo, sugerem que ambos os gêneros não são monofiléticos.

*Sapium* tem distribuição neotropical e suas espécies são reconhecidas pelas folhas geralmente com glândulas acropeciulares, flores 2-estaminadas, sépalas pistiladas fusionadas, ausência de carpidióforo e sementes ecarunculadas, com arilo vermelho (Kruijt, 1996; Cordeiro 2017). Enquanto, *Stillingia*, com distribuição predominantemente neotropical, é caracterizada pelas glândulas foliares que variam de ciatiformes à escuteliformes, sépalas pistiladas livres, frutos com carpidióforo e sementes carunculadas, desprovidas de arilo (Rogers, 1951; Belgrano & Pozner, 2005). Algumas espécies de *Sapium* e *Stillingia* destacam-se pela plasticidade macromorfológica vegetativa e pela morfologia floral pouco variável (p.ex., *Sapium glandulosum* (L.) Morong, *S. haemospermum* Müll. Arg., *Stillingia sylvatica* L., *S. uleana* Pax & K. Hoffm.), dificultando a delimitação e identificação das mesmas. Nestes casos a morfologia foliar muitas vezes é utilizada para a identificação dos táxons (Burger e Huft, 1995; Kruijt, 1996).

As glândulas foliares mostram-se como importantes evidências morfológicas para distinção entre espécies de Euphorbiaceae, e o mesmo observamos tanto em *Sapium* quanto em *Stillingia*. No entanto, estudos relativos à diversidade estrutural e química dos exsudados de glândulas foliares são escassos. Na verdade, estudos que abordam as estruturas secretoras limitam-se à análise dos laticíferos e dos nectários foliares de algumas poucas espécies de *Sapium* (Coutinho et al., 2010; Demarco et al., 2013, Andrade et al., 2017). Assim, fica evidente a necessidade de estudos que investiguem os caracteres micromorfológicos e anatômicos foliares, incluindo as estruturas secretoras, de forma mais abrangente em espécies de *Sapium* e *Stillingia* e a sua aplicabilidade na taxonomia dos grupos. Apontar estes caracteres pode contribuir para o esclarecimento de relações infra e supra genéricas que corroborem estudos filogenéticos futuros.

## **2. Material e métodos**

### ***2.1 Microscopia de luz***

Amostras de folhas inteiras e completamente expandidas de *Sapium argutum* (Müll. Arg.) Huber, *S. ciliatum* Hemsl., *S. glandulosum* (L.) Morong, *S. haemospermum* Müll. Arg., *S. marmieri* Huber, *S. obovatum* Klotzsch ex Müll. Arg., *S. paucinervium* Hemsl., *S. sceleratum* Ridl., *S. sellowianum* (Müll. Arg.) Klotzsch ex Baill., *S. laurifolium* (A. Rich.) Griseb., *S. pallidum* (Müll. Arg.) Huber, *Stillingia argudentata* Jabl., *S. dichotoma* Müll. Arg., *S. linearifolia* S. Watson, *S. peruviana* D.J. Rogers, *S. saxatilis* Müll. Arg., *S. spinulosa* Torr., *S. trapezoidea* Ule e *S. uleana* Pax & K. Hoffm. foram coletadas em herbários nacionais e internacionais, descritos na Tabela 1. Sempre que possível, pelo menos três indivíduos de cada espécie foram amostrados. Comparativamente, *Mabea fistulifera* Benth. e *Gymnanthes klotzschiana* Müll. Arg. foram selecionadas como grupo externo pela proximidade aos gêneros analisados (Esser, 2012; Oliveira, 2014) e foram submetidas aos mesmos procedimentos descritos acima.

As amostras foram reidratadas, depois desidratadas em série etanólica e armazenadas em etanol 70% (Kraus e Arduim, 1997). Fragmentos da margem foliar, nervura central e pecíolo foram incluídos em resina de etilenoglicolmetacrilato (Historesin Leica, Leica Microsystems, Heidelberg, Alemanha) e seccionados em micrótomo rotativo automático com navalhas de vidro (Leica RM2265, Deerfield, IL, EUA). Cortes longitudinais e transversais de 5 µm de espessura foram corados com azul de toluidina em pH 4,7 (O'Brien e McCully, 1981) e as lâminas foram montadas com resina permanente (Permount, Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, EUA).

Para avaliar a distribuição, bem como caracterizar as glândulas foliares, folhas inteiras foram diafanizadas, coradas com fucsina etanólica a 50% (Vasco et al., 2014) e montadas em gelatina de glicerina (Johansen, 1940).

Para descrever os dentes marginais foliares utilizamos a terminologia Hickey e Wolfe (1975). O arranjo dos feixes vasculares seguiu a classificação de Dickison (2000) e os caracteres de venação seguiram a classificação de Ellis et al. (2009).

## 2.2 Análise fenética

Caracteres anatômicos do terço distal do pecíolo e da lâmina foliar foram comparados por meio de uma matriz binária com o coeficiente de similaridade de Sorensen. O método de grupos de pares não ponderados com média aritmética (UPGMA) foi utilizado no software Multi-Variate Statistical Package (MVSP 3.13) (Mueller-Dombois and Ellenberg, 1974) para obtenção do dendograma, com o coeficiente de Sorensen.

### 3. Resultados

#### 3.1 Lâmina foliar

Todas as espécies de *Sapium* analisadas e *Mabea fistulifera* possuem margem foliar reta, com 1-8 camadas de colênquima do tipo anelar, distribuído de forma homogênea, como ilustrado em *S. sceleratum* (Fig. 1A). Em *Stillingia*, todas as espécies possuem margem foliar reta com 1-3 camadas de colênquima anelar, exceto *S. linearifolia*, *S. trapezoidea* e *S. uleana* (Fig. 1B) nas quais não foi observado colênquima na margem.

Em *Gymnanthes klotzschiana* verificou-se a margem foliar reta e ausência de colênquima. Espécies de *Sapium* (exceto *S. sceleratum*; Fig. 1A), *G. klotzschiana* e *M. fistulifera* possuem parênquima paliçádico descontínuo na margem foliar (Fig. 1C). A maioria das espécies de *Stillingia* possui parênquima paliçádico contínuo na margem foliar (Fig. 1B, D, E), exceto *S. dichotoma* e *S. peruviana*.

*Sapium marmieri* foi a única espécie que exibiu compostos fenólicos nas células epidérmicas da face abaxial estendendo brevemente à face adaxial (Fig. 1C) e em *M. fistulifera* compostos fenólicos foram observados no citoplasma de todas as células da epiderme de (Fig. 1F). Nas demais espécies não foram detectados compostos fenólicos nas células epidérmicas. Tricomas tectores foram registrados apenas em *M. fistulifera*, ocorrendo em toda a extensão da face abaxial (Fig. 1F, G). As espécies de *Sapium* e *Stillingia* não apresentam tricomas na epiderme.

Os estômatos são paracíticos em todas as espécies estudadas e as folhas são hipoestomáticas em *Sapium ciliatum*, *S. glandulosum*, *S. marmieri*, *S. pallidum*, *S. paucinervium*, *S. sellowianum*, *G. klotzschiana* e *M. fistulifera*. As folhas são anfiestomáticas em *Sapium argutum*, *S. haemospermum*, *S. laurifolium*, *S. obovatum*, *S. sceleratum*, *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. linearifolia*, *S. peruviana*, *S. saxatilis*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea* e *S. uleana*.

O mesófilo é isobilateral (Fig. 1A, B, D, E) em *Sapium glandulosum*, *S. haemospermum*, *S. obovatum*, *S. sceleratum*, *Stillingia linearifolia*, *S. saxatilis*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea*, *S. uleana* e *M. fistulifera*; e dorsiventral (Fig. 1 G, H) em *Sapium argutum*, *S. ciliatum*, *S. laurifolium*, *S. marmieri*, *S. pallidum*, *S. paucinervium*, *S. sellowianum*, *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. peruviana* e *G. klotzschiana*.

O parênquima paliçádico varia em número de camadas e tamanho das células. Em *Sapium glandulosum* e *M. fistulifera*, o mesófilo isobilateral é constituído por parênquima

paliçádico menos desenvolvido na face abaxial em relação àquele voltado para a face adaxial (Fig. 1G).

Em *Sapium obovatum* e *Stillingia uleana*, o parênquima paliçádico é biestratificado na face adaxial e uniestratificado e pouco desenvolvido na face abaxial (Fig. 1B). O parênquima paliçádico é biestratificado tanto na face adaxial quanto na face abaxial em *Stillingia trapezoidea*, porém na face adaxial ele é menos desenvolvido. Em *Stillingia saxatilis*, o parênquima paliçádico é biestratificado ou triestratificado na face adaxial e biestratificado e pouco desenvolvido na face abaxial e em *Stillingia linearifolia* o parênquima paliçádico é biestratificado nas duas faces, sendo a mais interna, menos desenvolvida Fig. 1D, E).

Nas espécies que exibem mesofilo dorsiventral, o parênquima paliçádico é bi ou triestratificado em *Stillingia dichotoma* e em *Sapium pallidum* o parênquima paliçádico ocupa  $\frac{2}{3}$  da altura do mesofilo (Fig. 1H, I) sendo a única espécie que exhibe extensão de bainha nos feixes de menor calibre (Fig. 1 H, I).

Em todas as espécies de *Sapium*, *M. fistulifera* e *G. klotzschiana* o parênquima paliçádico é interrompido na nervura central (Fig. 1J), diferente das espécies de *Stillingia*, onde o parênquima paliçádico é contínuo na face adaxial (Fig. 1K) exceto em *S. peruviana*, onde o parênquima paliçádico é interrompido por poucas células de colênquima.

Em *Sapium*, *M. fistulifera* e *G. klotzschiana* o formato da nervura central é biconvexo (Fig. 1J), porém em *Stillingia* predomina o formato plano convexo (Fig. 1K), exceto *S. linearifolia*, *S. peruviana* e *S. spinulosa*, que mantiveram o padrão biconvexo (Fig. 1M)

Grande parte das espécies possuem feixes colaterais na nervura central (Fig. 1J, K, L), exceto *Stillingia linearifolia* e *S. spinulosa*, que possuem feixes bicolaterais (Fig. 1M). O sistema vascular está organizado em arco aberto (Fig. 1L) em *Sapium argutum*, *S. haemospermum*, *S. pallidum*, *S. paucinervium*, *S. sceleratum*, *S. sellowianum*, *Stillingia argentata*, *S. dichotoma*, *S. linearifolia*, *S. saxatilis*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea*, *S. uleana*, *G. klotzschiana* e *M. fistulifera* e em arco aberto com extremidades convolutas (Fig. 1N) em *Sapium ciliatum*, *S. glandulosum*, *S. laurifolium*, *S. marmieri*, *S. obovatum* e *Stillingia peruviana*. Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa no córtex e próximas aos feixes da nervura central foram frequentemente observadas em *Sapium*, *M. fistulifera* e *G. klotzschiana* e raramente em *Stillingia*. Monocristais foram observados apenas em *G. klotzschiana*, em associação com as drusas. *Sapium marmieri* e *S. sellowianum* possuem calotas de fibras de até 3 camadas na nervura central (Fig. 1O). Em *Stillingia spinulosa* foram observadas calotas de fibras com mais de 10 camadas próximas aos feixes (Fig. 1M).

Dentes teóides na margem da folha foram observados em *Sapium argutum*, *S. glandulosum*, *S. haemospermum*, *S. pallidum*, *S. paucinervium*, *S. sceleratum*, *Stillingia argudentata*, *S. peruviana*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea*, *G. klotzschiana* e *M. fistulifera* (Fig. 2A, C, D, H, I, J; 3A, D, F, H, I). Cicatrizes na margem foliar foram observadas nas demais espécies (Fig. 2B, E, F, G, K; 3B, C, E, G).

As nervuras terminais nas aréolas apresentaram o padrão de ramificação livre do tipo dendrítico (Fig. 4), com exceção de *Stillingia linearifolia* que apresentou uma mescla dos padrões de ramificação dendrítico e dicotômico (Fig. 4O). Foram identificados três padrões nas veias terminais: simples em *Sapium argutum*, *S. ciliatum*, *S. glandulosum*, *S. haemospermum*, *S. laurifolium*, *S. paucinervium*, *S. sceleratum*, *S. sellowianum*, *Stillingia linearifolia*, *S. peruviana*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera* (Fig. 5A-E, I-K, N, O, T); com idioblastos traqueóides em *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. saxatilis*, *S. trapezoidea* e *S. uleana* (Fig. 5L, M, P, Q, R); com esclereídes altamente ramificados em *Sapium marmieri*, *S. obovatum* e *S. pallidum* (Fig. 5F-H).

A disposição de cristais observada em peças diafanizadas variou entre as espécies. Numerosas drusas foram observadas dispersas por toda a lâmina foliar até bem próximo da margem em *Sapium laurifolium*, *S. sceleratum*, *Stillingia linearifolia*, *S. peruviana* e *S. spinulosa* (Fig. 6A); concentradas em regiões próximas às nervuras em *Sapium argutum*, *S. glandulosum*, *S. haemospermum* e *S. sellowianum* (Fig. 6B-C) Sendo os mesmos ausentes nas demais espécies analisadas em peças diafanizadas.

Nos cortes transversais e longitudinais, drusas foram frequentemente observadas no parênquima lacunoso em todas as espécies, exceto *Stillingia saxatilis*, *S. trapezoidea* e *S. uleana*; no córtex da nervura mediana, exceto em *Sapium obovatum*, *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. saxatilis*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea* e *S. uleana*; no floema da nervura mediana, exceto em *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. saxatilis*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea* e *S. uleana*; no pecíolo, exceto em *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. linearifolia*, *S. saxatilis*, *S. spinulosa* e *S. uleana* e nos nectários: acropetiolares/basilaminares, exceto em *Sapium marmieri*, *Stillingia linearifolia*, *S. peruviana*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea*, *G. klotzschiana* e *M. fistulifera* e da margem exceto *Stillingia linearifolia*, *S. peruviana*, *S. spinulosa* e *S. trapezoidea*. Monocristais foram observados apenas no floema da nervura central de *S. marmieri* e juntamente com as drusas em *G. klotzschiana*.

### 3.2 Pecíolo

O formato do pecíolo é côncavo convexo (Fig. 6D) em *Sapium argutum*, *S. ciliatum*, *S. glandulosum*, *S. haemospermum*, *S. laurifolium*, *S. marmieri*, *S. obovatum*, *S. pallidum*, *S. paucinervium*, *S. sceleratum*, *S. sellowianum*, *Stillingia argudentata*, *S. dichotoma*, *S. peruviana*, *S. saxatilis* e *Mabea fistulifera*; plano convexo (Fig. 6E) em *Stillingia peruviana*, *S. trapezoidea*, *S. uleana* e *Gymnanthes klotzschiana*; ausente em *Stillingia spinulosa*, que possui a base da folha com largura inferior ao restante do limbo (Fig. 6F). Epiderme papilosa foi observada no pecíolo de *Sapium laurifolium*, *S. marmieri*, *S. paucinervium* e *S. sellowianum*.

Os feixes são colaterais (Fig. 6G), exceto em *Stillingia linearifolia* e *S. spinulosa*, que possuem feixes bicolaterais (Fig. 6H). A organização dos feixes variou entre arco aberto de feixe único (Fig. 6G) em *Sapium glandulosum*, *S. sceleratum*, *S. sellowianum*, *Stillingia linearifolia*, *S. spinulosa* e *G. klotzschiana*; arco aberto com feixes separados por parênquima (Fig. 6I) em *Sapium argutum*, *S. haemospermum*, *Stillingia peruviana*, *S. saxatilis*, *S. trapezoidea*, *S. uleana* e *M. fistulifera*; arco aberto com feixes separados e extremidades convolutas (Fig. 6J) em *Sapium ciliatum*, *S. laurifolium*, *S. marmieri*, *S. obovatum*, *S. pallidum*, *S. paucinervium*, *Stillingia argudentata* e *S. dichotoma*. Tricomas tectores foram observados apenas no pecíolo de *M. fistulifera*.

### 3.3 Estruturas secretoras

Foram observados laticíferos, coléteres e nectários posicionados na margem da lâmina foliar, na base da lâmina foliar (basilaminar) ou na junção entre pecíolo e lâmina (acropeciolar).

A maioria das espécies apresentou nectários vascularizados na margem da folha, exceto *Sapium ciliatum*, *Stillingia linearifolia*, *S. peruviana*, *S. spinulosa* e *S. trapezoidea*. Nas espécies de *Sapium*, os nectários são cupuliformes, compostos por uma epiderme secretora em paliçada e parênquima nectarífero rico em células com conteúdo fenólico (Fig. 7 A-C).

Em *Stillingia* foram observados dois formatos de nectários: os cupuliformes em *S. uleana* e os verruciformes em *S. argudentata*, *S. dichotoma* e *S. saxatilis*. O nectário do tipo cupuliforme é composto por epiderme em paliçada, muito similar aos que ocorrem em *Sapium*, entretanto o conteúdo fenólico nas células do parênquima nectarífero não é evidente (Fig. 7D-F). O tipo verruciforme é composto por uma epiderme em paliçada e parênquima nectarífero evidente (Fig. 7G-I).

Em *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera* o nectário na margem da folha é verruciforme com epiderme em paliçada mais desenvolvida e em menor extensão, comparadas aos nectários verruciformes das demais espécies estudadas (Fig. 7J-O). Em *G. klotzschiana* o conteúdo fenólico nas células parenquimáticas próximas à epiderme é evidente (Fig. 7M, N).

Em todas as espécies de *Sapium* analisadas foi observado um par de nectários acropioclulares/basilaminares (Fig. 8A-H). Os nectários são cupuliformes, vascularizados, compostos por uma epiderme secretora em paliçada e parênquima nectarífero rico em conteúdo fenólico (Fig. 8 A-C, E-F), assim como os descritos para as margens da folha. Apenas em *S. marmieri*, os nectários acropioclulares não são conspícuos, caracterizados por um conjunto de células com conteúdo fenólico, sem a formação de uma epiderme em paliçada e a fenda (Fig. 8G-H). É comum a presença de papilas (Fig. 8I) na epiderme dos nectários de algumas espécies como em *S. haematospermum*, *S. laurifolium* e *S. pallidum*.

Em *Stillingia*, nectários acropioclulares/basilaminares ocorrem aos pares em *S. argentata*, *S. dichotoma*, *S. peruviana*, *S. saxatilis* e *S. uleana*. Em *S. uleana*, eles são cupuliformes como os descritos para a margem (Fig 7D-F) e do tipo verruciforme (Fig. 8J-O) nas demais espécies estudadas. O tipo verruciforme possui parênquima nectarífero vascularizado, evidente pela mudança na coloração do conteúdo celular em comparação com o parênquima subnectarífero (Fig. 8L). A epiderme secretora forma uma paliçada e em algumas amostras foi possível observar secreção no espaço subcuticular (Fig. 8N, O).

Não foi observada a presença de papilas na epiderme dos nectários acropioclulares/basilaminares de *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*. O conteúdo fenólico foi amplamente observado nas células que compõem a estrutura dos nectários presentes nas espécies estudadas.

Laticíferos articulados foram observados na extensão de todo o mesofilo das espécies analisadas (Fig. 9A), com presença mais evidente em *Sapium argutum* e *Stillingia trapezoidea*. Aglomerados de laticíferos também foram observados na nervura central (Fig. 9B) de todas as espécies, sendo mais evidentes em *Sapium haematospermum*, *S. marmieri*, *S. obovatum*, *S. pallidum*, *S. sceleratum*, *Stillingia argentata*, *S. peruviana*, *S. saxatilis*, *S. trapezoidea* e *S. uleana*. No pecíolo os laticíferos também foram registrados em todas as espécies, sendo facilmente identificados em *Sapium haematospermum* (Fig. 9C). Laticíferos associados ao parênquima nectarífero e subnectarífero dos nectários (Fig. 7K; 8O) foram observados em todas as espécies, exceto em *Stillingia linearifolia*, *S. peruviana*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea* e *G. klotzschiana*. Nos nectários acropioclulares/basilaminares também foram observados laticíferos no parênquima subnectarífero, exceto em *Sapium argutum*, *S. marmieri*, *Stillingia linearifolia*, *S. spinulosa*, *S. trapezoidea* e *G. klotzschiana*.

Coléteres foram observados na margem foliar de *Stillingia peruviana* e *S. uleana*. (Fig. 9D-E). A presença de cicatrizes nos ápices dos dentes de *Sapium argutum* (Fig. 2A), *S. glandulosum* (Fig. 2C), *S. haematospermum* (Fig. D), *S. pallidum* (Fig. 2H), *S. paucinervium*

(Fig. 2I), *S. sceleratum* (Fig. 2J), *Stillingia argudentata* (Fig. 3A), *S. peruviana* (Fig. 3D), *S. spinulosa*, *S. trapezoidea* (Fig. 3F), *G. klotzschiana* (Fig. 3H) e *M. fistulifera* (Fig. 3I) e na margem de *Sapium ciliatum* (Fig. 2B), *S. laurifolium* (Fig. 2E), *S. marmieri* (Fig. 2F), *S. obovatum* (Fig. 2G), *S. sellowianum* (Fig. 2K), *Stillingia dichotoma* (Fig. 3B), *S. linearifolia* (Fig. 3C), *S. saxatilis* (Fig. 3E) e *S. uleana* (Fig. 3G) são indícios da presença de coléteres caducos.

### 3.4 Análise de similaridade

O dendrograma gerado a partir dos dados anatômicos apresenta dois agrupamentos com valores de similaridade anatômica entre 0,6 e 0,92. O parênquima paliçádico da nervura central contínuo presente em *Stillingia* (exceto *S. peruviana*) difere este gênero do grupo *Sapium* + *Stillingia peruviana* + *Gymnanthes* + *Mabea* que possuem o parênquima paliçádico descontínuo na nervura central (Fig. 1J, O). O tipo de nectário cupuliforme foi observado apenas em *Sapium* e *Stillingia uleana*, o que os difere do *outgroup* *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*, que possuem nectários verruciformes (Fig. 7J-O). Entretanto, colênquima na margem da lâmina e contorno do pecíolo côncavo-convexo são compartilhados entre *Sapium* e *Mabea* (Fig. 8G). Na venação, as veias de terminação livre possuem idioblastos traqueóides presentes em *Stillingia* (exceção de *S. linearifolia* e *S. peruviana*) (Fig. 5L, M, P-R) que diferem o gênero de *Sapium* + *G. klotzschiana* + *M. fistulifera*.

O gênero *Stillingia* foi dividido em dois grupos: 1) *S. linearifolia* + *S. spinulosa* e 2) as outras espécies do gênero (exceto *S. peruviana*) que não compartilham apenas os caracteres contorno da nervura central biconvexo em *S. linearifolia* + *S. spinulosa* e plano convexo nas demais espécies, sistema vascular bicolateral em *S. linearifolia* + *S. spinulosa* (Fig. 1M, 6H) e colateral nas demais espécies (Fig. 1L), sistema vascular do pecíolo com feixe contínuo em *S. linearifolia* + *S. spinulosa* e feixes separados por parênquima nas demais. As espécies *S. linearifolia* + *S. spinulosa* compartilham todas as características analisadas, exceto colênquima e dentes na margem da folha ausentes em *S. linearifolia* e presentes em *S. spinulosa*, mesófilo isobilateral em *S. spinulosa* e dorsiventral em *S. linearifolia*, drusas na nervura central presentes em *S. linearifolia* e ausentes em *S. spinulosa* e terminais simples nas veias de terminação livre presentes em *S. linearifolia* e ausentes em *S. spinulosa*. *Gymnanthes Klotzschiana* emergiu como grupo irmão de *M. fistulifera* + *Sapium* + *Stillingia peruviana* por compartilharem o parênquima paliçádico da nervura central interrompido. *S. pallidum* é a espécie que mais se difere das demais espécies de *Sapium* devido ser a única a apresentar bainha de fibras nas nervuras secundárias.

O *outgroup* *G. klotzschiana* e *M. fistulifera* são anatomicamente mais distantes de todas as espécies estudadas, sobretudo *G. klotzschiana* que ficou posicionada separadamente, porém mais próxima de *Mabea fistulifera* + *Sapium* + *Stillingia peruviana*.

#### 4. Discussão

Foram evidenciados caracteres que permitem delimitar *Sapium* e *Stillingia* como parênquima paliçádico contínuo na nervura central e feixes bicolaterais presentes em *Stillingia* e ausentes em *Sapium* e caracteres que auxiliam na identificação, como a extensão de bainha nos feixes do mesofilo, presente apenas em *Sapium pallidum*. Além das características citadas, foram descritos caracteres que permitiram delimitar algumas espécies e corroborar segregações baseadas em dados macromorfológicos dos dois gêneros analisados (Cordeiro et al. 2018).

*Sapium glandulosum* (L.) Morong, destaca-se no gênero por ser a espécie de maior amplitude de distribuição geográfica (Kruijt 1996), especialmente no Brasil, cuja ocorrência é registrada para quase todos os biomas (Cordeiro, 2017) e isso dificulta a sua determinação. *Sapium glandulosum* é frequentemente confundido com diferentes espécies do gênero, como no caso de populações de *S. sellowianum* (Müll. Arg.) Klotzsch ex Baill cujas folhas são semelhantes às de *S. glandulosum* (Cordeiro, 2017). Entretanto, os dados obtidos no presente trabalho evidenciam diferenças anatômicas relevantes entre esses dois táxons, como a presença de dentes marginais, mesofilo isobilateral e organização do sistema vascular na nervura central em arco aberto com extremidades convolutas em *S. glandulosum*, ao passo que em *S. sellowianum* as margens são inteiras, o mesofilo é dorsiventral e sistema vascular na nervura central está organizado em arco aberto sem extremidades convolutas. Algumas folhas de *Sapium glandulosum* também são morfológicamente muito semelhantes às folhas de *S. laurifolium* (A. Rich.) Griseb e *S. haemospermum* Müll. Arg. (Cordeiro, 2017). Embora essas espécies exibam semelhanças anatômicas, o tipo de conformação do sistema vascular do pecíolo é promissor para distinguir estes táxons. Embora a localização dos estômatos na folha, a presença de papilas epidérmicas também sejam caracteres distintivos, eles podem ser alterados de acordo com o ambiente o que os torna secundários na identificação.

Outra espécie frequentemente confundida com *S. glandulosum* seria *S. obovatum* que também apresenta grande plasticidade fenotípica em suas populações (Cordeiro, 2017). Anatomicamente, estas espécies podem ser distintas pelas folhas hipostomáticas, presença de dentes marginais, organização do sistema vascular do pecíolo em arco aberto sem extremidades convolutas, drusas próximas às nervuras (observado em material diafanizado) e no córtex da

nervura central e veias de terminação livre com terminais simples em *S. glandulosum*, versus folhas anfiestomáticas, ausência de dentes, organização do sistema vascular do pecíolo em arco aberto com extremidades convolutas, drusas presentes apenas próximas ao floema na nervura central e veias de terminação livre com esclereídes altamente ramificados em *S. obovatum*.

Variações morfológicas nos nectários acropeciolares dificultam a distinção de *Sapium ciliatum* Hemsl. e *S. paucinervium* Hemsl. (Cordeiro, 2017). Entretanto, a presença/ausência de dentes marginais e as diferenças na organização do sistema vascular da nervura central permitiram distinguir os dois táxons com facilidade. O mesmo ocorre entre *S. sceleratum* Ridl. e *S. argutum* (Müll. Arg.) Huber, cuja semelhança no tipo de nervação foliar e cálice tem representado empecilhos na sua distinção (Cordeiro, 2017; Cordeiro et al., 2018). Mas, o padrão anatômico dos nectários florais (cupuliformes ou reduzidos avasculares), tipo de mesofilo e conformação do sistema vascular do pecíolo (um feixe contínuo ou vários feixes) são relevantes para diferenciar as espécies.

Com relação à nervura mediana, tanto o contorno quanto a conformação do sistema vascular apresentam padrões relevantes para estudos taxonômicos em Euphorbiaceae. Sua utilidade em estudos evolutivos pode ser explorada, especialmente em espécies de *Croton* (subfamília Crotonoideae), cuja distinção de táxons se deu de forma clara, como é o caso do contorno biconvexo e sistema vascular em arco aberto com feixes colaterais sem extremidades convolutas em *C. hirtus* e *C. lobatus*, diferindo de *C. zambesicus*, com contorno côncavo convexo e sistema vascular em arco aberto com feixes colaterais e extremidades convolutas (Nichodemus & Ekeke, 2020). O sistema vascular em arco aberto com feixes colaterais sem extremidades convolutas também foi reportado para Acalyphoideae, em *Acalypha* (Borkar et al., 2020) e Euphorbioideae em *Euphorbia* (Kalaskar et al., 2017; Acharya & Vaidya, 2017). Esses padrões anatômicos na nervura também ocorrem em *Sapium* e *Stillingia* (com predominância do sistema vascular em arco aberto sem extremidades convolutas), sem nenhuma evidência que justifique relações supragenéricas. Apesar do contorno plano convexo ser predominante em *Stillingia*, *S. peruviana* e *S. spinulosa* apresentam o tipo biconvexo, comum para *Sapium* e outgroups, determinando esse caractere apenas para distinção de táxons.

Apesar do feixe bicolateral na nervura central das folhas ser uma característica incomum em Euphorbiaceae, trata-se de um caractere observado em *Alchornea* Sw. (Rôças et al., 1997) e *Euphorbia* L. (Naseh, 2016). O sistema vascular bicolateral foi pontual para destacar *Stillingia linearifolia* e *Stillingia spinulosa* dos demais táxons avaliados, os quais possuem feixes bicolaterais e justificou o seu agrupamento no dendrograma. Da mesma forma, a presença de parênquima paliádico contínuo na face adaxial da nervura central presente em *Stillingia*

(exceto *S. peruviana*) difere o gênero do grupo *Sapium* + *Stilingia peruviana* + *Gymnanthes* + *Mabea*. Parênquima paliçádico contínuo na nervura mediana foi relatado para espécies de *Croton* das seções *Cyclostigma* e *Adenophylli* e foi um dos caracteres que distinguiu as espécies de *Croton* das seções *Cupreati* e *Sampatik* (Feio et al., 2018).

O mesofilo do tipo dorsiventral, comum em Euphorbiaceae (Rôças et al., 1997; Fišer Pečnikar et al., 2012; Christodoulakis et al., 2015), geralmente é utilizado para identificar espécies (de Sá-Haiad et al., 2009; Cervantes et al., 2019, Cunha et al., 2014). As variações na quantidade, densidade e distribuição do tecido parenquimático são influenciadas por fatores ambientais e devem ser discutidas sob uma perspectiva ecológica (Sultan, 2000; Saska et al., 2021). Em nossos estudos o mesofilo dorsiventral foi predominantemente observado, entretanto foram descritas três variações do mesofilo dorsiventral e cinco variações no mesofilo isobilateral, o que é útil na identificação de espécies dentro do mesmo gênero. Similar a isso, a presença de extensão de bainha nos feixes do mesofilo foi um caractere observado apenas em *Sapium pallidum*, o que o difere de todas as outras espécies analisadas. Extensão de bainha foi reportada em *Croton* nas seções *Cyclostigma* e *Cupreati*, diferente do observado nas seções *Adenophylli* e *Sampatik* onde os feixes do mesofilo não possuem extensão de bainha (Feio et al., 2018), evidenciando esta característica como relevante para a taxonomia de Euphorbiaceae.

As inclusões minerais de oxalato de cálcio, especialmente os cristais prismáticos e drusas são muito comuns em Euphorbiaceae e suas aplicações na taxonomia da família são limitadas, devido a hipótese de que estes podem variar com o ambiente (Metcalf e Chalk, 1983) e a sua ampla ocorrência entre os táxons (Cunha Neto et al., 2014) pode não fornecer padrões que justifiquem a circunscrição de níveis taxonômicos iguais ou inferiores a gêneros. A ampla ocorrência de drusas em *Sapium* e *Stillingia* corrobora essa limitação, no entanto, a presença de monocristais, pontualmente em *Sapium marmieri* e *Gymnanthes klotzschiana*, contribuiu para a delimitação dessas espécies. Outros tipos de cristais, os estiloides, são relevantes pela ocorrência restrita em clados de Euphorbiaceae, sendo apontados como sinapomorfia para um grupo monofilético da subtribo Claoxylineae (Kabouw et al., 2008). Assim, os cristais de oxalato de cálcio devem ser tratados com cautela e podem representar relevância taxonômica, desde que sua ocorrência e/ou tipo corrobore a delimitação de grupos ou a distinção de espécies em Euphorbiaceae.

O pecíolo representa uma região da folha com considerável contribuição para estudos taxonômicos, uma vez que, sofre poucas modificações em decorrência das pressões impostas pelo ambiente (Metcalf e Chalk, 1950). O contorno e a conformação do sistema vascular no pecíolo representam caracteres úteis para circunscrever grupos em Euphorbiaceae, seja para

caracterizar subgêneros, como é o caso de *Jatropha* L. (Dehgan, 1982) ou para descrever seções em *Manihot* (Cunha Neto et al., 2014). Mesmo assim, não foram significativos para caracterizar quaisquer grupos no presente estudo. Somente tiveram relevância para distinguir espécies em *Sapium* e *Stillingia*, conseqüentemente sendo utilizados nos passos da chave de identificação (Anexo 1 e 2).

Com relação às estruturas secretoras, o nectário cupuliforme presente nas margens foliares e região acropeciolar/basilaminar de *Sapium* o distingue dos *outgroups*, *Mabea fistulifera* e *Gymnanthes klotzschiana*, que possuem nectário verruciforme. Embora as espécies de *Stillingia* apresentem nectário verruciforme, *S. uleana* difere do gênero por apresentar o mesmo padrão das espécies de *Sapium*, o nectário basilaminar/acropeciolar cupuliforme. Tanto *M. fistulifera* quanto *G. klotzschiana* não apresentam nectários cupuliformes basilaminares/acropeciolares, diferindo das espécies de *Stillingia*. A ocorrência e o tipo de nectário são frequentemente mencionados em estudos taxonômicos em Euphorbiaceae (Vitarelli et al., 2015) e podem corroborar estudos filogenéticos, como é o caso da semelhança estrutural nos nectários foliares de *Brasiliocroton* e *Croton* corroborando a estreita relação filogenética entre esses gêneros (Berry et al., 2005; Riina et al., 2014; Vitarelli et al., 2015) e a ausência de nectários basilaminares/acropeciolares que caracteriza *Croton* sect. *Lamprocroton* (Vitarelli et al., 2015). Pela primeira vez foram apontados caracteres anatômicos dos nectários foliares relevantes para a taxonomia de *Sapium* e *Stillingia* e, que podem contribuir sobremaneira com os estudos filogenéticos futuros.

Os dentes observados em todas as espécies estudadas foram classificados como teóides por possuírem a nervura mediana do dente em direção ao ápice, sendo este encapuzado por uma seta opaca decídua e relacionados a presença de coléteres (Thadeo et al., 2008; Fernandes et al., 2016; Rio et al., 2020). As cicatrizes observadas nos ápices dos dentes reforçam a evidência da presença de coléteres caducos, isso devido a sua função estar envolvida nos estágios iniciais do desenvolvimento dos órgãos (Fahn, 1979; Meira, Miranda & Coutinho, 2020). Em Euphorbiaceae, estudos anatômicos foliares recentes reforçam a necessidade de investigar as glândulas encontradas nos dentes foliares em *Croton*, uma vez que a histoquímica e ontogenia são cruciais para diferenciar nectários de coléteres na folha, bem como identificar, ineditamente, coléteres nas estípulas de *Croton glandulosum* (Meira, Miranda & Coutinho, 2020). Como também observados nas margens foliares de *Croton* (Vitarelli et al., 2015; Meira, Miranda & Coutinho, 2020), os coléteres encontrados nas espécies avaliadas nos sugerem que sua secreção proteja as folhas em desenvolvimento contra a dessecação. Além disso, a presença e o tipo de coléteres contribuem para inferências taxonômicas (Fahn, 1979; Thomas, 1991) e,

especialmente em Euphorbiaceae, os típicos coléteres localizados nos dentes foliares (Vitarelli et al., 2015) podem contribuir com as interpretações sobre as relações infrafamiliares, como é o caso da distinção entre os gêneros *Acalypha* (Acalyphoideae) e *Croton* (Crotonoideae) (Rios et al., 2020), sendo no primeiro os coléteres marginais ausente, diferindo das espécies de *Croton* cujos coléteres marginais são comuns. A presença de cicatrizes nos dentes foliares das espécies avaliadas de *Sapium* e *Stillingia* sugere que coléteres localizados nos dentes foliares surgiram em diferentes grupos de Euphorbiaceae, pouco relacionados. As glândulas estruturalmente semelhantes à esses coléteres descritas no gênero recém descoberto de Acalyphoideae, *Bahiana* J.F.Carrión (Carrión et al., 2022), corrobora essa hipótese. Além disso foram observados dois tipos de coléteres, o tipo padrão, comum à família Rubiaceae (Lersten, 1975; Lopes-Mattos et al., 2015) em *Stillingia uleana* e o coléter com formato de cabeça multicelular em *Stillingia peruviana*, sendo este último tipo, observado de forma similar na família Gentianaceae, com contribuições importantes para a taxonomia da família (Dalvi et al., 2014; Zanotti et al., 2021; Dourado et al., 2022).

Os laticíferos, estruturas secretoras comumente encontradas nas Euphorbiaceae, fornecem interpretações taxonômicas e evolutivas significativas, tais como o tipo (articulado ou não articulado, ramificado ou não ramificado) e também quanto ao conteúdo (Mahlbrg, 1987; Fahn, 1979; Rudall, 1994). Isso devido à diversidade apontada para os diferentes grupos da família, especialmente em descobertas recentes (Demarco, 2013; Teixeira, 2020; Mouzella, 2020). Estudos ontogenéticos e histoquímicos são imprescindíveis nesses achados. Aqui, os dados relativos aos laticíferos envolvem apenas a sua ocorrência na folha, dada a predominância de amostras oriundas de exsicatas e sua consequente limitação nos testes histoquímicos e nos estudos ontogenéticos. Mesmo assim, nossos achados reforçam os laticíferos como marcadores taxonômicos para Hippomaneae (Wurdack et al. 2005), tendo em vista a presença em todas as espécies analisadas. Além disso, a ocorrência de laticíferos nos tecidos nectaríferos das espécies estudadas sugere que algum constituinte do látex pode fazer parte da composição do néctar, como já relatado para *Croton* (Vitarelli et al., 2015) e *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg. (Fahn, 1979).

## 5. Conclusão

Caracteres como sistema vascular bicolateral, parênquima paliçádico contínuo na nervura central, extensão de bainha nos feixes vasculares e localização de cristais na lâmina,

dentre outras combinações de caracteres são úteis para distinguir os gêneros avaliados, bem como distinguir as espécies de *Sapium*, que são confundidas morfológicamente.

Grande parte dos caracteres anatômicos elencados auxiliam a identificação ao nível de espécie e são relevantes para a resolução dos problemas taxonômicos em Hippomaneae, especialmente quanto aos gêneros *Sapium* e *Stillingia*, os quais apresentam inconsistências na identificação. A similaridade anatômica entre *Stillingia peruviana* e as espécies de *Sapium* devem ser consideradas para auxiliar na realização de trabalhos sobre a sistemática do grupo avaliar o posicionamento desta espécie.

Mesmo com os esforços para distinguir *Sapium* e *Stillingia*, com dados morfológicos e anatômicos, ainda são necessários estudos moleculares para estabelecer a circunscrição dos dois gêneros e sua relação sistemática com as demais Hippomaneae.

## 6. Referências

- Acharya, D., Vaidya, M. 2017. Anatomical study of *Euphorbia hirta* L. World Journal of Pharmaceutical Research, 6(7): 1407-1416.
- Andrade, E.A., Folquitto, D.G., Luz, L.E.C., Paludo, K.S., Farago, P.V., Budel, J.M. 2017. Anatomy and histochemistry of leaves and stems of *Sapium glandulosum*. Revista brasileira de Farmacognosia, 27: 282-289.
- Athiê-Souza, S.M., de Melo, A.L., da Silva, M.J., de Sales, M.F., Athiê-Souza, S.M., de Melo, A., da Silva, M., de Sales, M. 2019. Taxonomic notes on *Stillingia* (Euphorbiaceae): typifications and a new synonym under *S. salpingadenia*. Kew Bulletin, 74: 1-7.
- Athiê-Souza, S.M., Melo, A.L., Silva, M.J., Sales, M.F. 2020. Relevância sistemática da morfologia de frutos dos gêneros americanos da tribo Hippomaneae A. Juss. ex Bartl. (Euphorbiaceae A. Juss.). Revista Nordestina de Biologia, 28(1): 46-65.
- Baillon, H. 1858. Etude général du groupe des Euphorbiacées. Victor Masson, Paris, 684 pp.
- Baillon, H.E. 1864. Species Euphorbiaceraum Euphorbiacées Américaines. Adansonia 4: 257-377.
- Belgrano, M.J., Pozner, R. 2005. *Stillingia yungasensis* (Euphorbiaceae): A new species from northwestern Argentina and southern Bolivia. Systematic Botany, 30(1): 134-138.
- Bercu, R., Popoviciu, D.R. 2015. Comparative anatomical study on leaves of three *Euphorbia* L. species. Wulfenia, 22: 271-276.

- Berry, P.E., A.L. Hipp, K.J., Wurdack, B.W., Van, E.E., Riina, R. 2005. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trn DNA sequence data. *American Journal of Botany*, 92: 1520 – 1534.
- Biesboer, D.D., Mahlberg, P.G. 1981. Laticifer starch grain morphology and laticifer evolution in *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Nordic Journal of Botany*, 1(3): 447-457.
- Borkar, K.M., Tagade, W.Y., Kawale, M.V. Morpho-anatomical and pharmacognostic studies of medicinal plant *Acalypha indica* L. *Current Updates in*, 150.
- Burger, W., Huft, M. 1995. *Flora Costaricensis: Family #113 Euphorbiaceae*. *Fieldiana, Botany*, 36: 1-169.
- Cardiel, JM., Montero-Muñoz, I., Ortúñez, E., Dorda, E., Sancho-García, I. 2020. Epidermal crystals in *Acalypha* (Euphorbiaceae, Acalyphoideae) as a new taxonomic trait of the genus. *Plant Systematics and Evolution*, 306(5): 1-18.
- Carrión, J.F., dos Santos, F.A., Cordeiro, I., Amorim, A.M. 2022. *Bahiana*, a new Euphorbiaceae (Acalyphoideae) genus from seasonally dry forest in northeastern Brazil, corroborated by molecular and morphological evidence. *Taxon*, 71: 1196–1213.
- Cervantes, A., Terrazas, T., Hernández, H. M. 2009. Foliar architecture and anatomy of *Bernardia* and other genera of Acalyphoideae (Euphorbiaceae). *Brittonia*, 61(4): 375-391.
- Christodoulakis, N.S., Mamoucha, S., Termentzi, A., Fokialakis, N. 2015. Leaf structure and histochemistry of the hardy evergreen *Euphorbia characias* L. (Mediterranean spurge). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 210: 13-18.
- Cordeiro, I., Secco, R., Cardiel, J.M., Steinmann, V., Caruzo, M.B., Riina, R., Lima, L.D., Maya-L, C.A., Berry, P., Carneiro-Torres, D.S. 2010. Euphorbiaceae in lista de espécies da flora do brasil. *Jardim botânico do Rio de Janeiro*.
- Cordeiro, W.P.F.S. 2017. *Taxonomia do gênero Sapium Jacq. (Hippomaneae, Euphorbiaceae) no Brasil*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, Brasil.
- Cordeiro, W. D. S., De Melo, A. L., Athie-Souza, S. M., Esser, H. J., De Sales, M. F. 2018. Reinstatement of *Sapium sceleratum* (Euphorbiaceae), an endemic species from Northeast Brazil, and new circumscription of *Sapium argutum*. *Phytotaxa*, 34: 23-31.
- Coutinho, Í.A.C., Valente, V.M.M., Meira, R.M.S.A. 2010. Ontogenetic, anatomical and histochemical study of the extrafloral nectaries of *Sapium biglandulosum* (Euphorbiaceae). *Australian Journal of Botany*, 58: 224-232.

- Cunha Neto, I.L., Martins, F.M., Caiafa, A.N. and Martins, M.L.L. 2014. Leaf anatomy as subsidy to the taxonomy of wild *Manihot* species in Quinquelobae section (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Botany*, 37: 481-494.
- Dalvi, V.C., Meira, R.M.S.A., Francino, D.M.T., Silva, L.C., Azevedo, A.A. 2014. Anatomical characteristics as taxonomic tools for the species of *Curtia* and *Hockinia* (Saccifolieae–Gentianaceae Juss.). *Plant Systematics and Evolution*, 300: 99-112.
- de Sá-Haiad, B., Serpa-Ribeiro, A.C.C., Barbosa, C.N., Pizzini, D., de O Leal, D., de Senna-Valle, L., de Santiago-Fernandes, L.D.R. 2009. Leaf structure of species from three closely related genera from tribe Crotonae Dumort. (Euphorbiaceae ss, Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution*, 283(3): 179-202.
- Dehgan, B., 1982. Comparative anatomy of the petiole and infrageneric relationships in *Jatropha* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany*, 69(8): 1283-1295.
- Demarco, D., Kinoshita, L.S., Castro, M.M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados: novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 29:133–144.
- Demarco, D., Castro, M.M., Ascensão, L. 2013. Two laticifer systems in *Sapium haematospermum* new records for Euphorbiaceae. *Botany*, 91: 545-554.
- Dickison, W. C. 2000. Integrative plant anatomy. Academic press, San Diego.
- Dourado, D.M., Rocha, D.I., Kuster, V.C., Fernandes, V.F., Delgado, M.N., Francino, D. M.T., Dalvi, V.C. 2022. Structural similarity versus secretion composition in colleters of congeneric species of *Prepusa* (Gentianaceae). *Flora*, 294: 152120.
- Ellis, B., Daly, D. C., Hickey, L. J., Johnson, K. R., Mitchell, J. D., Wilf, P., Wing, S. L. 2009. *Manual of leaf architecture*. The New York Botanical Garden Press. 190p.
- Esser, H.J. 1994. Systematische studien an den Hippomaneae Adr. Juss. ex Bartling (Euphorbiaceae), insbesondere den Mabeinae Pax & K. Hoffm. 368 f. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Biologie der Universität Hamburg., Hamburg, Germany.
- Esser, H.J., Van Welzen, P., Djarwaningsih, T. 1997. A phylogenetic classification of the Malesian Hippomaneae (Euphorbiaceae). *Systematic Botany*, 617-628.
- Esser, H.J. 2001. Tribes Hippomaneae, Pachystromateae e Hureae; pp. 352–370. In: Radcliffe-Smith, A. (Ed.) *Genera Euphorbiacearum*, Royal Botanic Gardens, Kew, England.
- Esser, H.J. 2012. The tribe Hippomaneae (Euphorbiaceae) in Brazil. *Rodriguésia*, 63: 209-225.

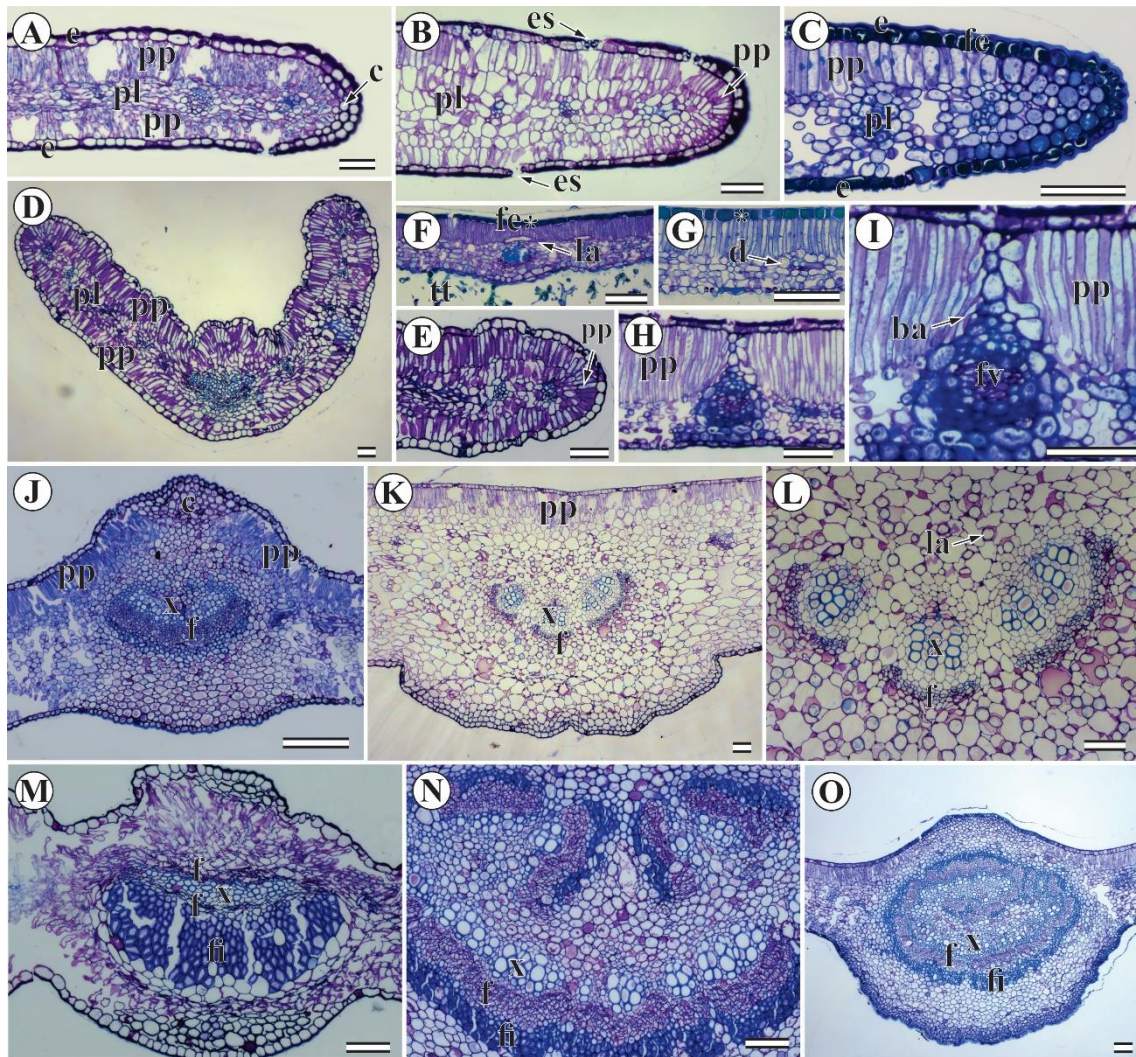
- Evert, R.F. 2006. Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. Wiley, Hoboken
- Fahn A. 1979. Secretory tissues in plants. London, Academic Press.
- Feio, A.C., Meira, R.M.S.A., Riina, R. 2018. Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood, *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 187: 614-632, 2018.
- Fišer Pečnikar, Ž.I.V.A., Kulju, K.K., Sierra, S.E., Baas, P., Van Welzen, P.C. 2012. Leaf anatomy of *Mallotus* and the related genera *Blumeodendron* and *Hancea* (Euphorbiaceae sensu stricto). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 169(4): 645-676.
- Hickey, L.J., Wolfe, J.A. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: vegetative morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 538-589.
- Hagel, J.M., Yeung, E.C., Facchini, P.J. 2008. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends in Plant Sciences*, 13(12): 631–639.
- James, O.E., Green, B.O., Ajuru, M.G. and Wilson, V., 2021. Foliar epidermal anatomy and its taxonomic implications within the family Euphorbiaceae in the Niger Delta Region of Nigeria. *International Journal of Frontier Research in Science*, 1(1): 048-055.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill.
- Jussieu, A.L. 1824. *De Euphorbiacearum generibus medicibusque earundem viribus tentamen*. Didot, Paris. 118p., 18 pl.
- Kabouw, P., Van Welzen, P.C., Baas, P., Van Heuven, B.J. 2008. Styloid crystals in *Claoxylon* (Euphorbiaceae) and *Allies* (Claoxylinae) with notes on leaf anatomy. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 156: 445-457.
- Kalaskar, M. G., Tatiya, A. U., Lamale, J. J., Surana, S. J. 2017. Morpho-anatomical studies of *Euphorbia heterophylla* Linn. leaves. *Bioscience Discovery*, 8: 146-152.
- Klotzsch, J.F. 1841. Neue und weniger gekannte südamerikanische Euphorbiaceen-Gattungen. *Archiv für Naturgeschichte*, 7(1): 175–204.
- Kraus, J. E., Arduin, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*.
- Kruijt, R.C.A. 1996. A taxonomic monograph of *Sapium* Jacq., *Anomostachys* (Baill.) Hurus, *Duvigneaudia* J. Léonard and *Sclerocroton* Hochst. (Euphorbiaceae - tribe Hippomaneae). *Bibliotheca Botanica* 146: 1–109.
- Lersten, N.R. 1975. Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 71(4): 311-319.

- Lopes-Mattos, K.L.B., Otuki, S.A.P., Azevedo, A.A., Pereira, Z.V., Meira, R.M.S.A. 2015. Colleters in 10 species belonging to three tribes of Rubiaceae: morphoanatomical diversity and potential as useful characters for taxonomy. *Botany*, 93(7): 425-434.
- Lucena, M.F.A, Sales, M.F. 2006. Tricomas foliares em espécies de *Croton* L. (Crotonoideae-Euphorbiaceae). *Rodriguésia*, 57:11–25.
- Mahlberg, P.G., Davis, D.G., Galitz, D.S., Manners, G.D. 1987. Laticifers and the classification of Euphorbia: the chemotaxonomy of *Euphorbia esula* L. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 94(1-2): 165-180.
- Meira, R.M.S.A., Miranda, J.D.B., Coutinho, Í.A.C. 2020. Anatomical reevaluation and novelties on the leaf marginal tooth glands in *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): the importance of distinguishing colleters from nectaries. In *Plant ontogeny: studies, analyses and evolutionary implications*. Nova Science Publishers, Inc, 3: 63-82.
- Mendonça, M.S., Ilkiu-Borges, F., Souza, M.C. 2008. Anatomia foliar de *Croton cajucara* Benth. (Euphorbiaceae) como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região amazônica. *Revista Brasileira de Educação Médica*, 10:18–25
- Metcalf, C.R., Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford Clarendon Press, London.
- Metcalf, C. R., Chalk, L. 1983. Secretory structures: cells, cavities, and canals in leaves and stems. *Anatomy of the Dicotyledons*, 2: 64-67.
- Mouzella, C.P. 2020. Laticíferos são incomuns em Acalyphoideae? Contribuições da anatomia foliar para taxonomia de Euphorbiaceae. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil.
- Mueller-Dombois, D., Ellenberg, H. 1974. *Aims and methods of vegetation ecology*. Wiley, New York
- Müller, J. 1873. Euphorbiaceae, Hippomaneae. In: Martius, C. F. V.; Eichler, A. G.; Urban, I. (Eds.), *Flora Brasiliensis*. v. 11, n. 2, Leipzig: F. Fleischer, p. 433-634.
- Müller, J. 1863. Euphorbiaceae. Vorläufige Mitteilungen aus dem für De Candolle's Prodrömus bestimmten Manuscript über diese Familie. *Linnaea*, 32: 1-126.
- Müller J. 1866. Euphorbiaceae. In: De Candolle, AP. (Eds.) *Prodrömus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*, 15(2): 189–1273.
- Naseh, Y. 2016. Foliar anatomical studies in some of the species of *Euphorbia* L. In North-East of Iran. *Electronic Journal of Natural Sciences*, 26(1): 3-11.

- Nepumoceno, V.A.G., Oliveira, M.L.R. 1979. Estudo anatômico de folhas do gênero *Croton jacobinensis* Baill. e *C. sonderianus* Müll. Arg Brasil Florest, 39:37–42.
- Nichodemus, C. O., Ekeke, C. 2020. Morpho-anatomical and histological characters in the systematics of the *Croton* species (Euphorbiaceae: Crotonoideae) in Southern Nigeria. Hospital, 29: 187-202.
- Oliveira, L.S.D. 2014. Sistemática do gênero *Gymnanthes* Sw. (Hippomaneae, Euphorbiaceae). Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.
- O'Brien, T.P., Mccully, M.E. 1981. The study of plant structure principles and selected 7 methods. Termarcarphi Pty, Melbourne.
- Pax, F., Hoffmann, K. 1912. Euphorbiaceae-Hippomaneae. In: Engler, A. (Ed.) Das Pflanzenreich regni vegetabilis conspectus, 4(147): 1–319.
- Pscheidt, A.C., Cordeiro, I. 2012. Sinopse da tribo Hippomaneae (Euphorbiaceae) no Estado de São Paulo, Brasil. Hoehnea, 39: 347-368.
- Riina, R., Carneiro-Torres, D., Peirson, J.A., Berry, P.E., Cordeiro, I. 2014. Further support for the Crotonae phylogeny: A new species of *Brasiliocroton* (Euphorbiaceae) based on morphological, geographical, and molecular evidence. Systematic Botany, 39: 227 – 234.
- Rios, A.B.M., Menino, G.C.D.O., Dalvi, V.C. 2020. Leaf teeth in eudicots: what can anatomy elucidate? Botanical Journal of the Linnean Society, 193(4): 504-522.
- Rôças, G., Barros, C.F., Scarano, F.R. 1997. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. Trees, 11(8): 469-473.
- Rogers, D.J. 1951. A revision of *Stillingia* in the New World. Annals of the Missouri Botanical Garden, 38: 207–259.
- Rudall, P. 1994. Laticifers in Crotonoideae (Euphorbiaceae): homology and evolution. Annals of the Missouri Botanical Garden, 37: 270-282.
- Saska, P., Skuhrovec, J., Tylová, E., Platková, H., Tuan, S.J., Hsu, Y.T., Vítámvás, P. 2021. Leaf structural traits rather than drought resistance determine aphid performance on spring wheat. Journal of Pest Science, 94:423–434.
- Sodré, R.C., de Souza, A.O., Alonso, A.A., da Silva, M.J. 2019. Molecular, morphological, and anatomical data support a new species of *Croton* sect. Geiseleria (Crotonoideae, Euphorbiaceae). Plant Systematics and Evolution, 305(3): 233-246.
- Sodré, R.C., Alonso, A.A., Silva, M.J. da. 2022. Revised delimitation of *Croton campestris* (Euphorbiaceae), including description of two new species, molecular phylogenetic, anatomical and micromorphological data. Acta Botanica Brasilica, 36: e2021abb0163.

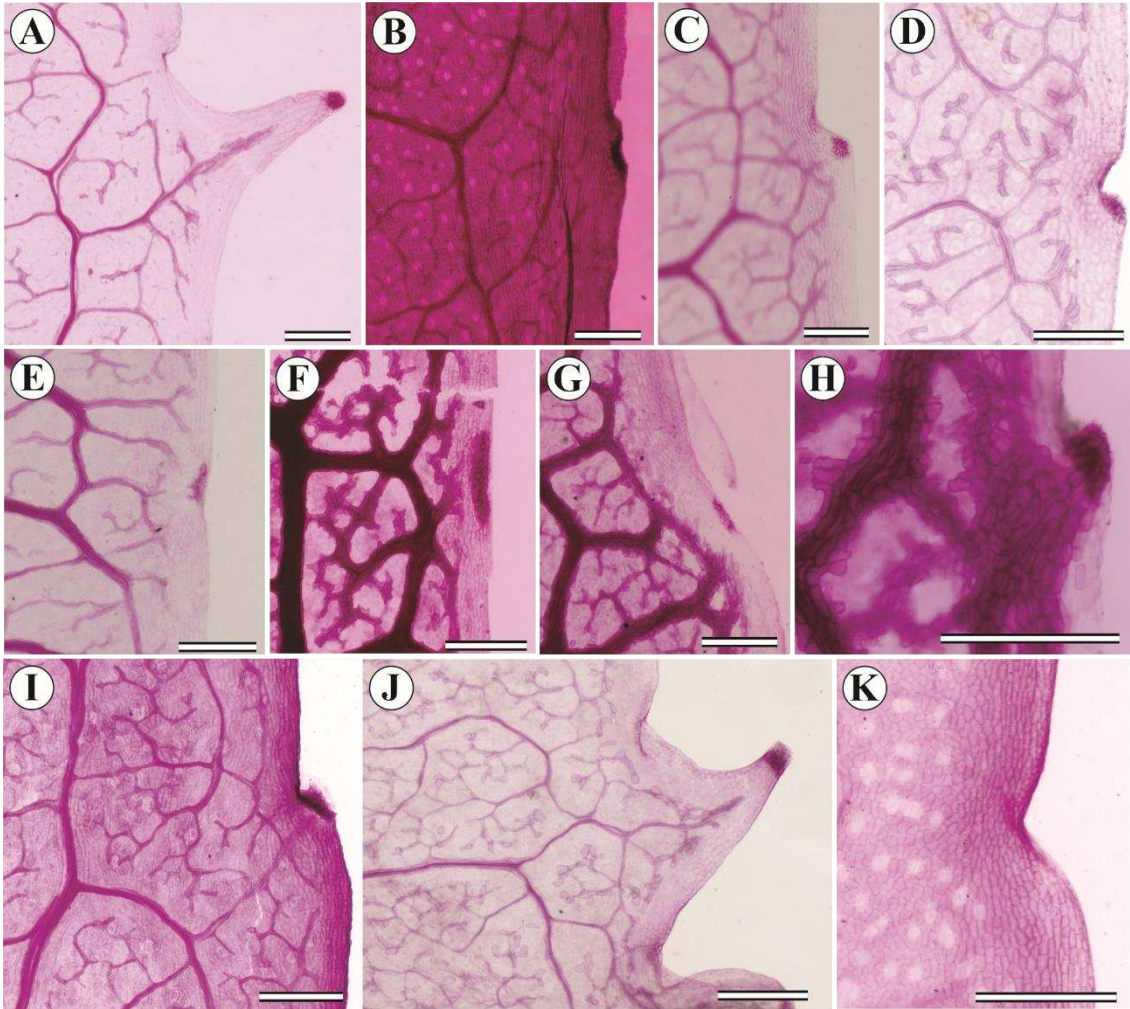
- Yoder, L.R., Mahlberg, P.G. 1976. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). *American Journal of Botany*, 63(9): 1167-1173.
- Sultan, S.E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Sciences*, 5:537–542.
- Sun, M., Naeem, R., Su, J. X., Cao, Z. Y., Burleigh, J. G., Soltis, P. S., ... & Chen, Z. D. 2016. Phylogeny of the Rosidae: A dense taxon sampling analysis. *Journal of systematics and evolution*, 54: 363-391.
- Teixeira, S.P., Marinho, C.R., Leme, F.M. 2020.. Structural diversity and distribution of laticifers. In: *Advances in Botanical Research*. Academic Press, p. 27-54.
- Thomas, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany*, 68: 287 – 305.
- Vitarelli, N.C., Riina, R., Caruzo, M.B.R., Cordeiro, I., Fuertes-Aguilar, J., Meira, R.M.S.A. 2015. Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): diversity, anatomy and evolutionary significance. *American Journal of Botany*, 102:833–847.
- Vitarelli, N.C., Riina, R., Cassino, M.F., Meira, R.M.S.A. 2016. Trichome-like emergences in *Croton* of Brazilian highland rock outcrops: evidences for atmospheric water uptake. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 22: 23–35.
- Webster, G.L., Del-Arco-Aguilar, M.J., Smith, B.A. 1996. Systematic distribution of foliar trichome types in *Croton* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of Linnean Society*, 121: 41–57.
- Wurdack, K.J., Hoffmann, P., Chase, M.W. 2005. Molecular phylogenetic analysis of iniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid rbcL and trnL-F DNA sequences. *American Journal of Botany*, 92(8): 1397-1420, 2005.
- Zanotti, A., Fernandes, V.F., Azevedo, A.A., Meira, R.M.S.A. 2021. Leaf and sepal colleters in *Calolisianthus speciosus* Gilg (Gentianaceae): a morphoanatomical comparative analysis and mechanisms of exudation. *Acta Botanica Brasilica*, 35: 445-455.

## FIGURAS

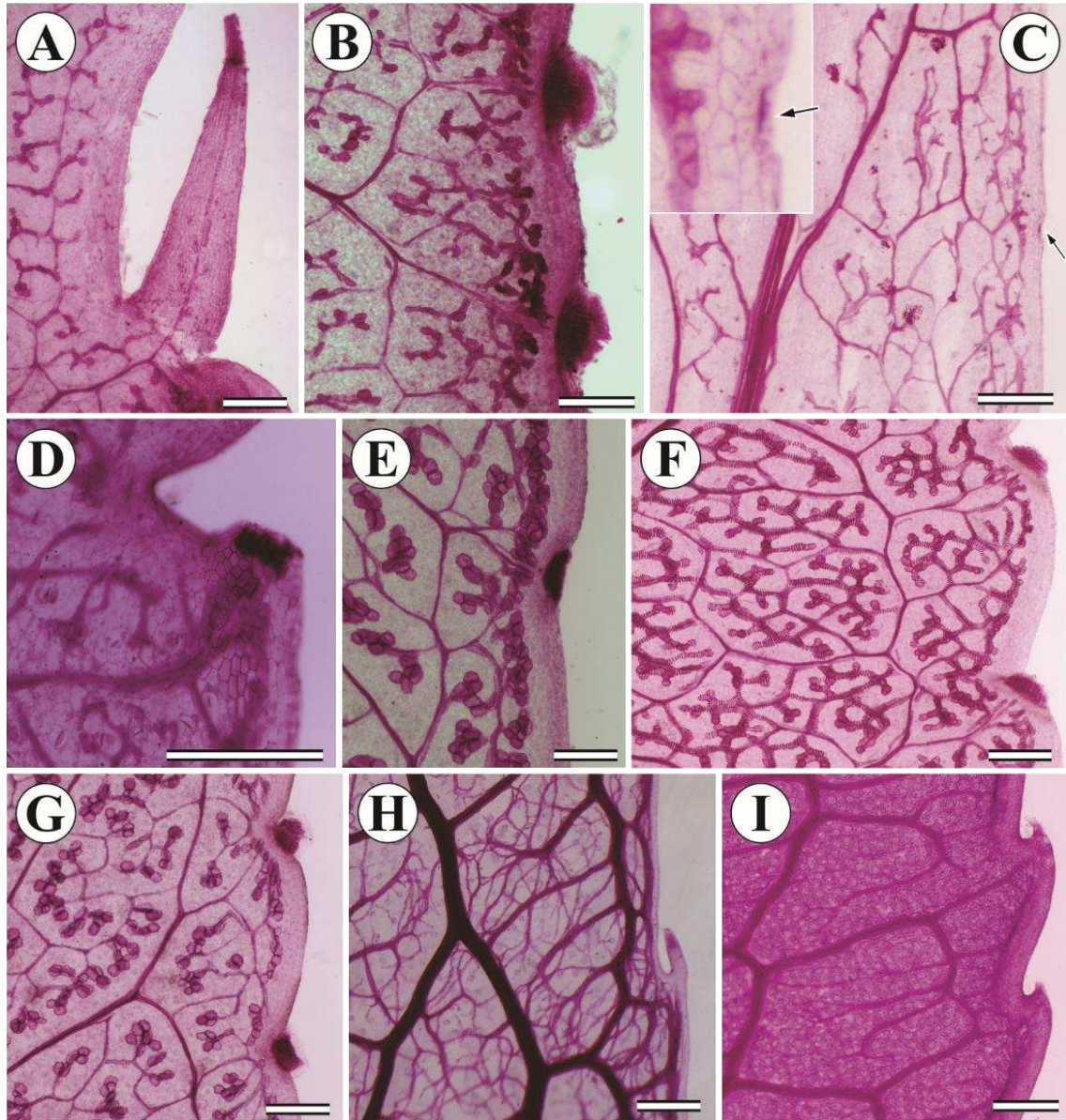


**Figura 1.** Descrição anatômica da lâmina foliar de *Sapium*, *Stillingia* e *Mabea* (cortes transversais corados com azul de toluidina). **A.** Mesofilo isobilateral de *Sapium sceleratum* mostrando uma camada de colênquima na margem foliar. **B.** Parênquima paliçádico contínuo e ausência de colênquima na margem foliar de *Stillingia uleana*. **C.** Mesofilo dorsiventral, note o conteúdo fenólico nas células epidérmicas de *Sapium marmieri*. **D, E.** Mesofilo isobilateral de *Stillingia linearifolia*, note o parênquima paliçádico contínuo na margem em detalhe (**E**). **F, G.** Mesofilo dorsiventral de *Mabea fistulifera*, observe o conteúdo fenólico nas células epidérmicas (asterísco) e drusas no parênquima clorofiliano. **H, I.** Mesofilo dorsiventral de *Sapium pallidum* com parênquima paliçádico ocupando 2/3 do mesofilo e em detalhe (**I**) a extensão de bainha no feixe vascular. **J-O.** Nervuras centrais em *Sapium* e *Stillingia*. **J.** *Sapium glandulosum* com parênquima paliçádico interrompido por colênquima e feixe vascular colateral organizado em arco aberto contínuo. **K, L.** *Stillingia argudentata*. Parênquima paliçádico contínuo e feixe vascular do tipo colateral organizado em arco aberto com feixes

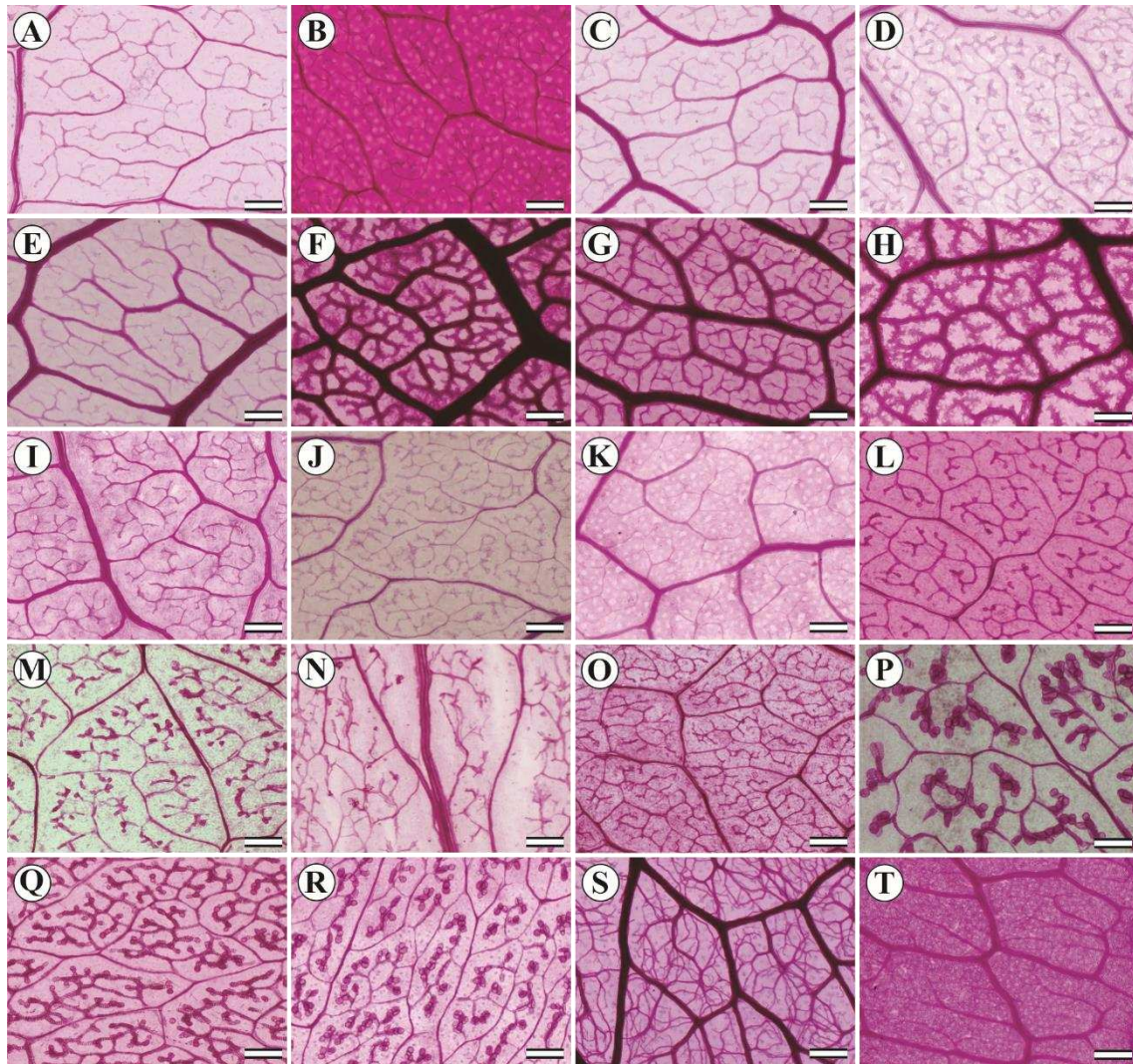
separados por parênquima, note os laticíferos por entre as células parenquimáticas do córtex (L). M. Feixe biclateral e calota de fibras de 4-10 camadas em *Stillingia spinulosa*. N. Feixe vascular colateral organizado em arco aberto com extremidades convolutas em *Sapium laurifolium*. O. Variação anatômica do feixe vascular em arco aberto com extremidades convolutas em *Sapium marmieri*. ba=bainha, c= colênquima, d= drusa, e= epiderme, es= estômato, f= floema, fe= fenol, fi= fibras, fv= feixe vascular, la= laticífero, pp= parênquima paliçádico, pl= parênquima lacunoso, tt= tricoma tector, x= xilema. Barras = 100  $\mu$ m.



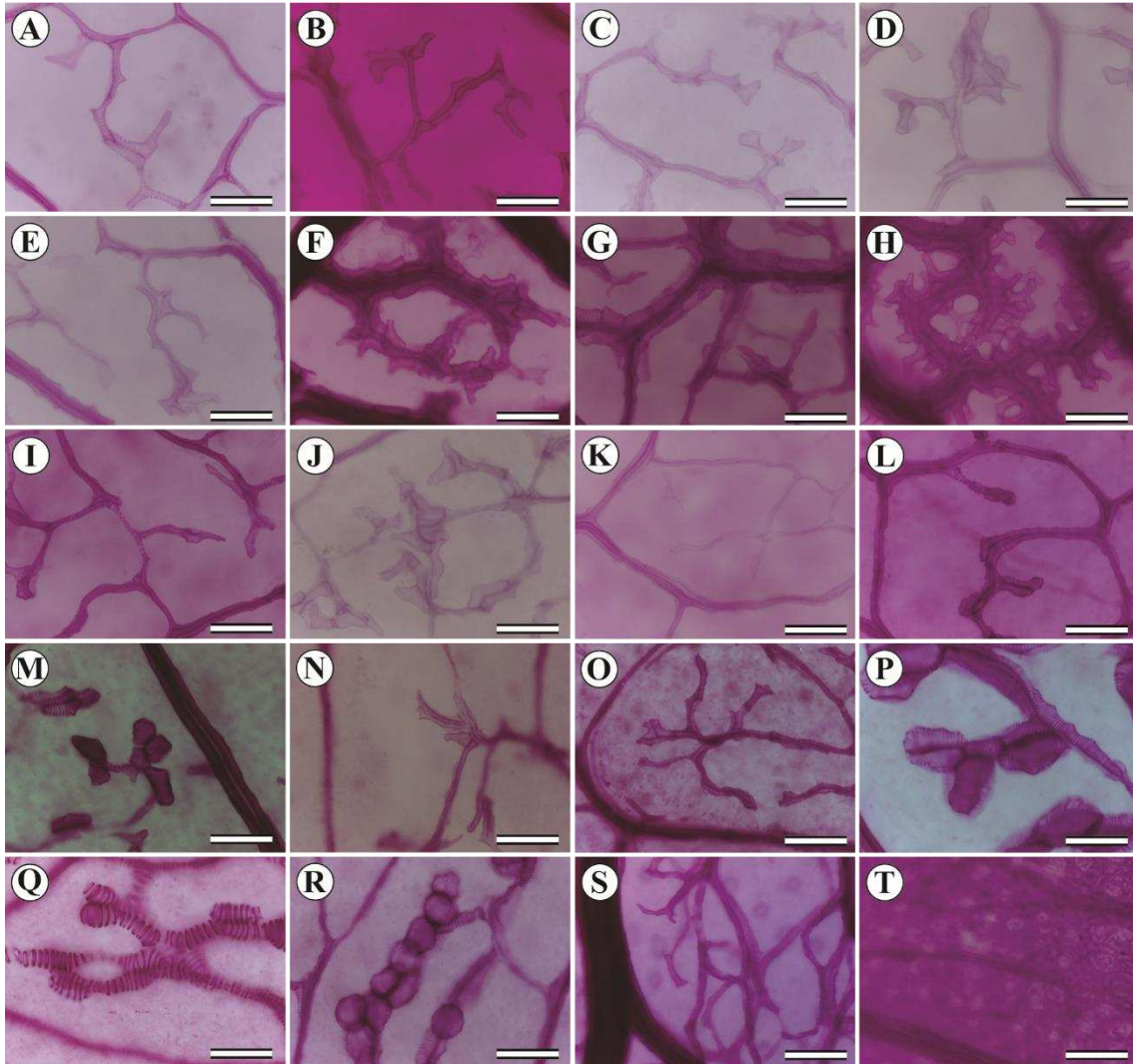
**Figura 2.** Margens foliares diafanizadas de *Sapium*. **A.** Dente teóides em *S. argutum*. **B.** Aparente cicatriz em *S. ciliatum*. **C.** Dente teóides em *S. glandulosum*. **D.** Dente teóides em *S. haemospermum*. Note a aparente cicatriz no ápice do dente, também observada em H, I e J. **E.** Cicatriz em *S. laurifolium*. **F.** Cicatriz em *S. marmieri*. **G.** Cicatriz em *S. obovatum*. **H.** Dente teóides em *S. pallidum*. **I.** Dente teóides em *S. paucinervium*. **J.** Dente teóides em *S. sceleratum*. **K.** Cicatriz em *S. sellowianum*. Coloração em fuccina alcoólica. Barras = 300  $\mu\text{m}$ .



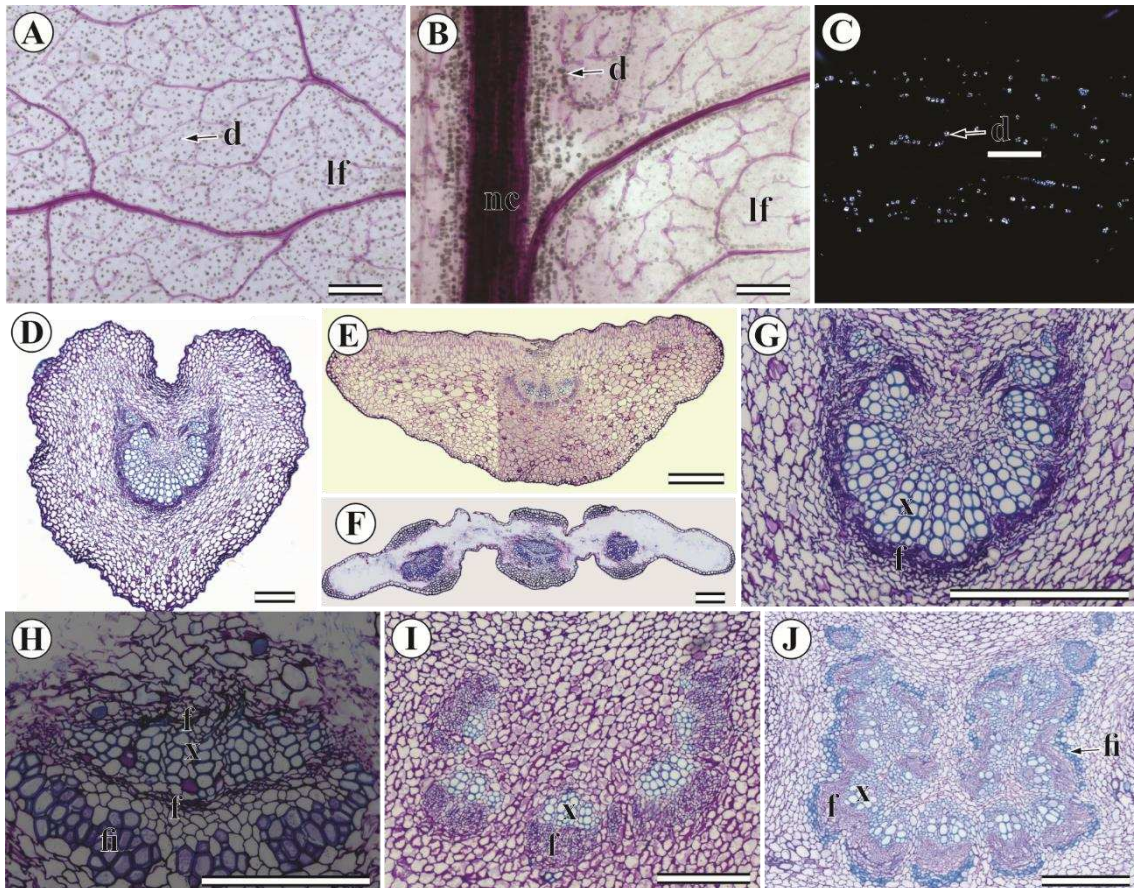
**Figura 3.** Margens foliares diafanizadas de *Stillingia* (A – G), *Gymnanthes klotzschiana* (H) e *Mabea fistulifera* (I) mostrando dentes teóides e/ou cicatrizes. **A.** Dente teóides em *S. argudentata*. **B.** Aparente cicatriz de coléter em *S. dichotoma*. **C.** *S. linearifolia* com cicatriz na margem (detalhe). **D.** Dente teóides com cicatriz em *S. peruviana*. **E.** *S. saxatilis*. **F.** *S. trapezoidea*. **G.** *S. uleana*. **H.** *G. klotzschiana*. **I.** *M. fistulifera*. Barras = 300  $\mu\text{m}$ .



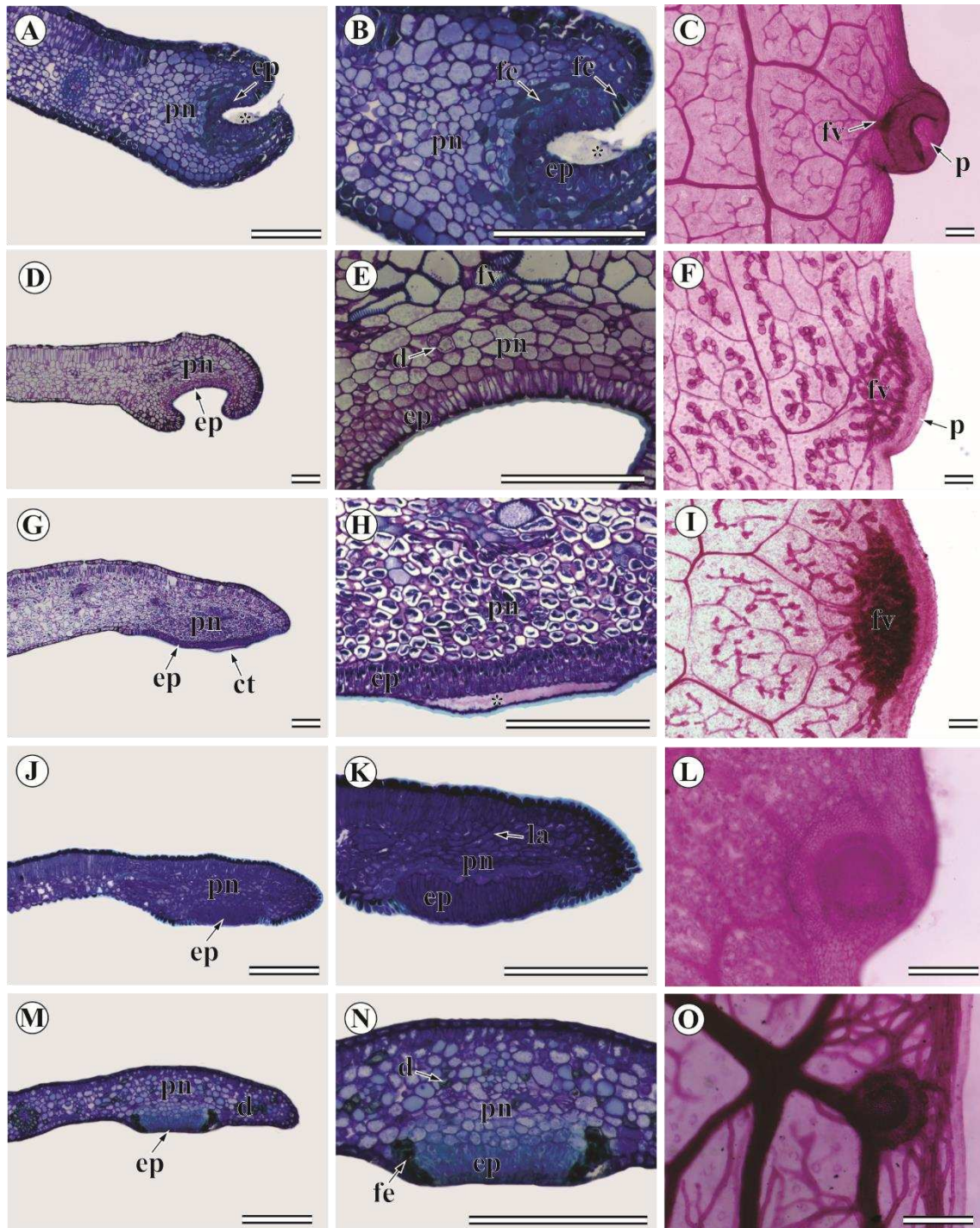
**Figura 4.** Padrão dendrítico das ramificações da venação visualizadas em amostras diafanizadas das espécies estudadas, exceto em *Mabea fistulifera* que possui padrão dicotômico (T). **A.** *Sapium argutum*. **B.** *Sapium ciliatum*. **C.** *Sapium glandulosum*. **D.** *Sapium haemospermum*. **E.** *Sapium laurifolium*. **F.** *Sapium marmieri*. **G.** *Sapium obovatum*. **H.** *Sapium pallidum*. **I.** *Sapium paucinervium*. **J.** *Sapium sceleratum*. **K.** *Sapium sellowianum*. **L.** *Stillingia argudentata*. **M.** *Stillingia dichotoma*. **N.** *Stillingia linearifolia*. **O.** *Stillingia peruviana*. **P.** *Stillingia saxatilis*. **Q.** *Stillingia trapezoidea*. **R.** *Stillingia uleana*. **S.** *Gymnanthes klotzschiana*. **T.** *Mabea fistulifera*. Coloração fucina-alcóolica. Barras = 300 µm.



**Figura 5.** Padrão simples (A – E, I – K, N, O, S) nas terminações vasculares livres das aréolas nas espécies amostradas visualizadas em diafanizações, com idioblastos traqueóides (L, M, P, Q, R) e com esclereides altamente ramificados (F – H). **A.** *Sapium argutum*. **B.** *Sapium ciliatum*. **C.** *Sapium glandulosum*. **D.** *Sapium haematospermum*. **E.** *Sapium laurifolium*. **F.** *Sapium marmieri*. **G.** *Sapium obovatum*. **H.** *Sapium pallidum*. **I.** *Sapium paucinervium*. **J.** *Sapium scleratum*. **K.** *Sapium sellowianum*. **L.** *Stillingia argudentata*. **M.** *Stillingia dichotoma*. **N.** *Stillingia linearifolia*. **O.** *Stillingia peruviana*. **P.** *Stillingia saxatilis*. **Q.** *Stillingia trapezoidea*. **R.** *Stillingia uleana*. **S.** *Gymnanthes klotzschiana*. **T.** *Mabea fistulifera*. Coloração fucina aleólica. Barras = 100  $\mu$ m.



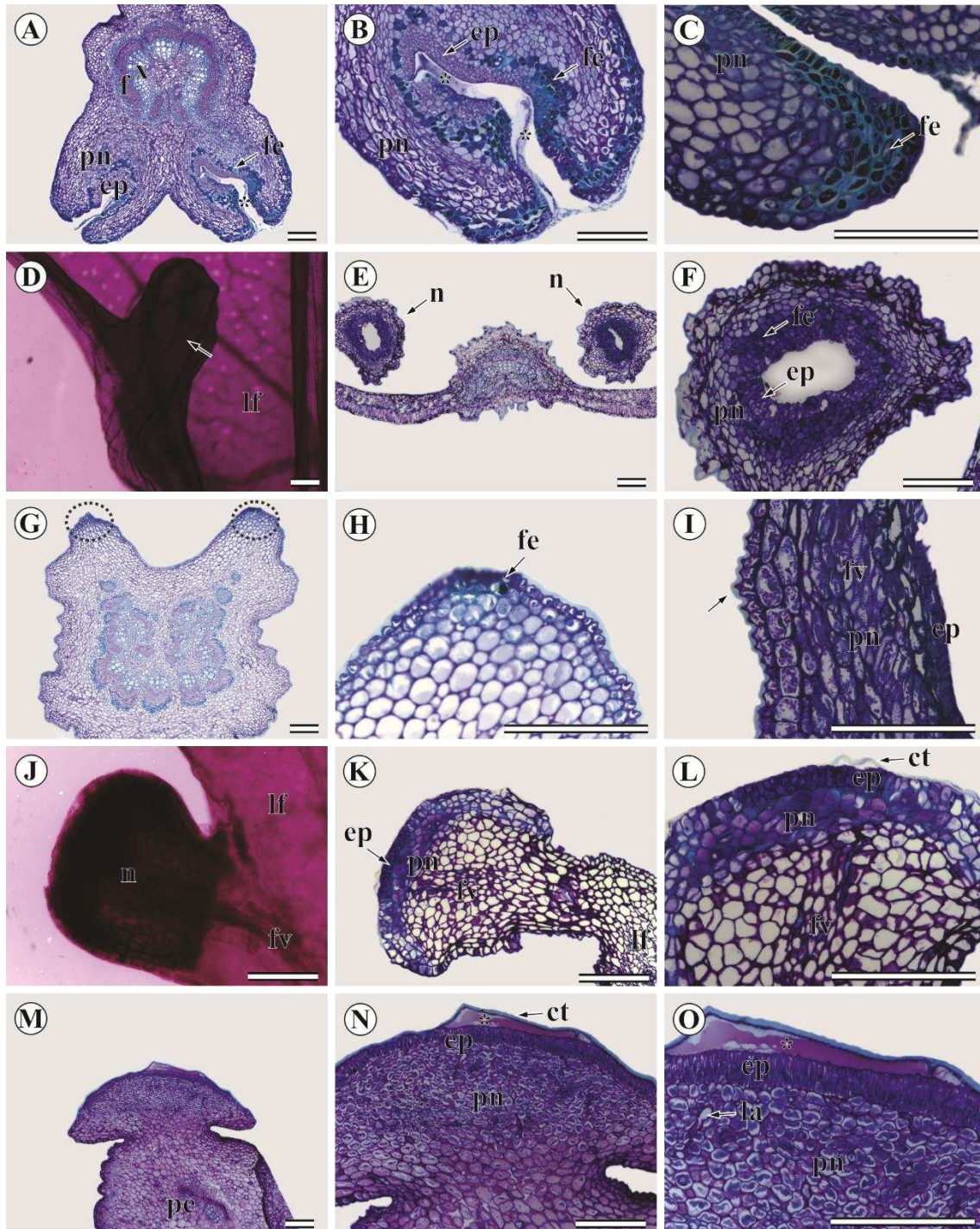
**Figura 6.** Distribuição de cristais (A – C) e anatomia da base da lâmina foliar (E, F) e do pecíolo (D, G – J) nas espécies analisadas. **A.** Drusas dispersas por toda a lâmina foliar de *Sapium sceleratum*. **B.** Drusas dispersas próximas aos feixes de maior e menor calibre em *Sapium haemospermum* e em detalhe sob luz polarizada na região da nervura de maior calibre (C). **D.** Pecíolo de *Sapium sceleratum* em corte transversal evidenciando o formato côncavo convexo. **E, F.** Base foliar das espécies sésseis *Stillingia uleana* (E) e *S. spinulosa* (F). **G.** Detalhe dos feixes vasculares do tipo colateral em *Sapium sceleratum* organizados em arco aberto. **H.** Detalhe dos feixes vasculares bicolaterais de *Stillingia spinulosa*. **I.** *Sapium haemospermum* mostrando feixe vascular colateral organizado em arco aberto sem extremidades convolutas e feixes separados por parênquima. **J.** *Sapium marmieri* com feixe vascular colateral organizado em arco aberto com extremidades convolutas e feixes separados por parênquima. Coloração fuccina alcoólica (A e B) e azul de toluidina (D - J). d= drusas, f= floema, fi= fibras, lf= lâmina foliar, nc= nervura central, x= xilema. Barras = 300 μm.



**Figura 7.** Nectários observados na margem foliar das espécies dos gêneros analisados.

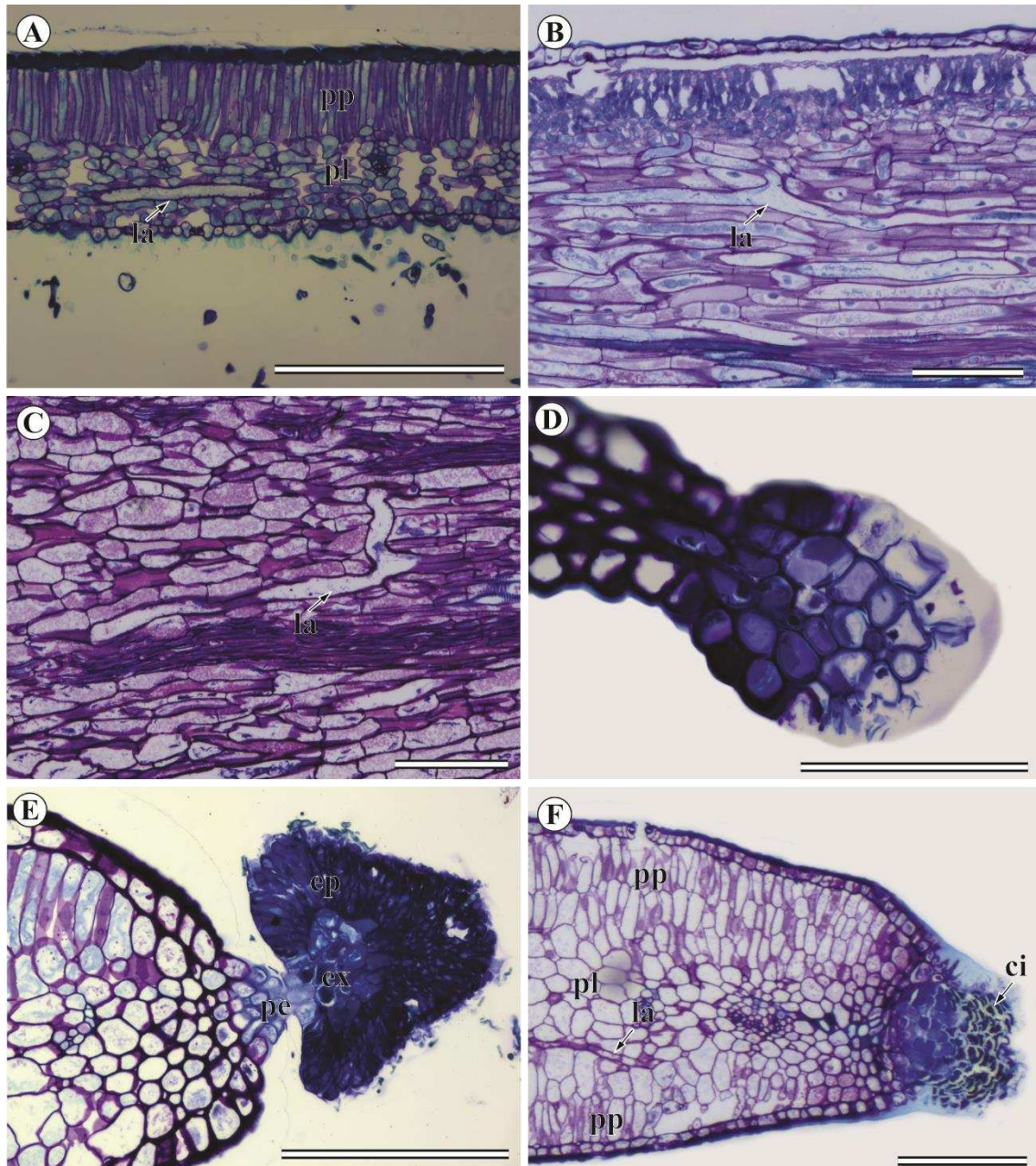
Nectários vascularizados cupuliformes (A - F) e verruciformes (G – O). **A, B, C.** Nectário de *Sapium marmieri* composto por uma epiderme em paliçada e parênquima nectarífero, ambas com células de compostos fenólicos. Note o exsudado (asterisco) em azul (B). **D, E, F.** Nectário de *Stillingia uleana* também composto por uma epiderme em paliçada e parênquima nectarífero. **G, H, I.** Nectário verruciforme em *Stillingia argentata* composto por epiderme em paliçada e parênquima nectarífero. Note a cutícula distendida pelo acúmulo de secreção (asterisco) (H) e a alta vascularização da glândula (I). **J, K, L.** Nectário presente em *Mabea fistulifera*,

composto por epiderme em paliçada e parênquima nectarífero. **M, N, O.** Nectário de *Gymnanthes klotzschiana* composto por epiderme em paliçada com conteúdo fenólico nas células mais externas e parênquima nectarífero. Coloração azul de toluidina (A, B, D, E, G, H, J, K, M, N) e fuccina alcoólica (C, F, I, L, O). ct= cutícula, d= drusa, ep= epiderme em paliçada, fe= fenóis, fv= feixe vascular, la= laticífero, p= poro, pn= parênquima nectarífero. Barras = 200  $\mu\text{m}$ .



**Figura 8.** Tipos de nectários acropetolares/basilaminares observados nos gêneros analisados. **A, B, C.** Par de nectários acropetolares em *Sapium pallidum*, com formato cupuliforme, epiderme em paliçada e conteúdo fenólico no parênquima nectarífero. **D, E, F.** Par de nectários basilaminares em *Sapium sellowianum*. **G, H.** Par de nectários avascularizados, reduzidos em *Sapium marmieri*, compostos por um pequeno conjunto de células fenólicas. **I.** Papilas epidérmicas (seta) no nectário acropetolar de *Sapium haemospermum*. **J, K, L.** Nectário basilaminar verruciforme em *Stillingia peruviana* composto por epiderme e parênquima nectarífero bem delimitado por células secretoras com aparente conteúdo fenólico. **M, N, O.**

Nectário acropetalar em *Stillingia argudentata* composto por epiderme em paliçada e um extenso parênquima nectarífero. É facilmente observada a distensão da cutícula causada pelo acúmulo de secreção (asterisco) no espaço subcuticular. Coloração azul de toluidine (A – C, E – I, K – O) e fúccina alcoólica (D e J). ct= cutícula, ep= epiderme em paliçada, f= floema, fe= fenóis, fv= feixe vascular, la= laticífero, lf= lâmina foliar, n= nectário, pe= pecíolo, pn= parênquima nectarífero, x= xilema. Barras = 200  $\mu\text{m}$ .



**Figura 9.** Caracterização dos laticíferos e dos coléteres. **A.** Laticífero presente no mesofilo de *Mabea fistulifera*. **B.** Laticíferos articulados na nervura central em corte longitudinal de *Sapium haematospermum*. **C.** Corte longitudinal do pecíolo de *Stillingia uleana* mostrando laticífero articulado. **D.** Coléter presente na margem de *Stillingia peruviana* composto por uma cabeça secretora multicelular. **E.** Coléter do tipo padrão em *Stillingia uleana*, composto por um eixo parenquimático recoberto por uma epiderme secretora em paliçada. **F.** Aparente cicatriz de coléter na margem de *Stillingia dichotoma*. Coloração azul de toluidina. ci= cicatriz, ep= epiderme em paliçada, ex= eixo parenquimático, la= laticífero, pe= pedúnculo, pl= parênquima lacunoso, pp= parênquima paliçádico. Barras = 200  $\mu$ m.

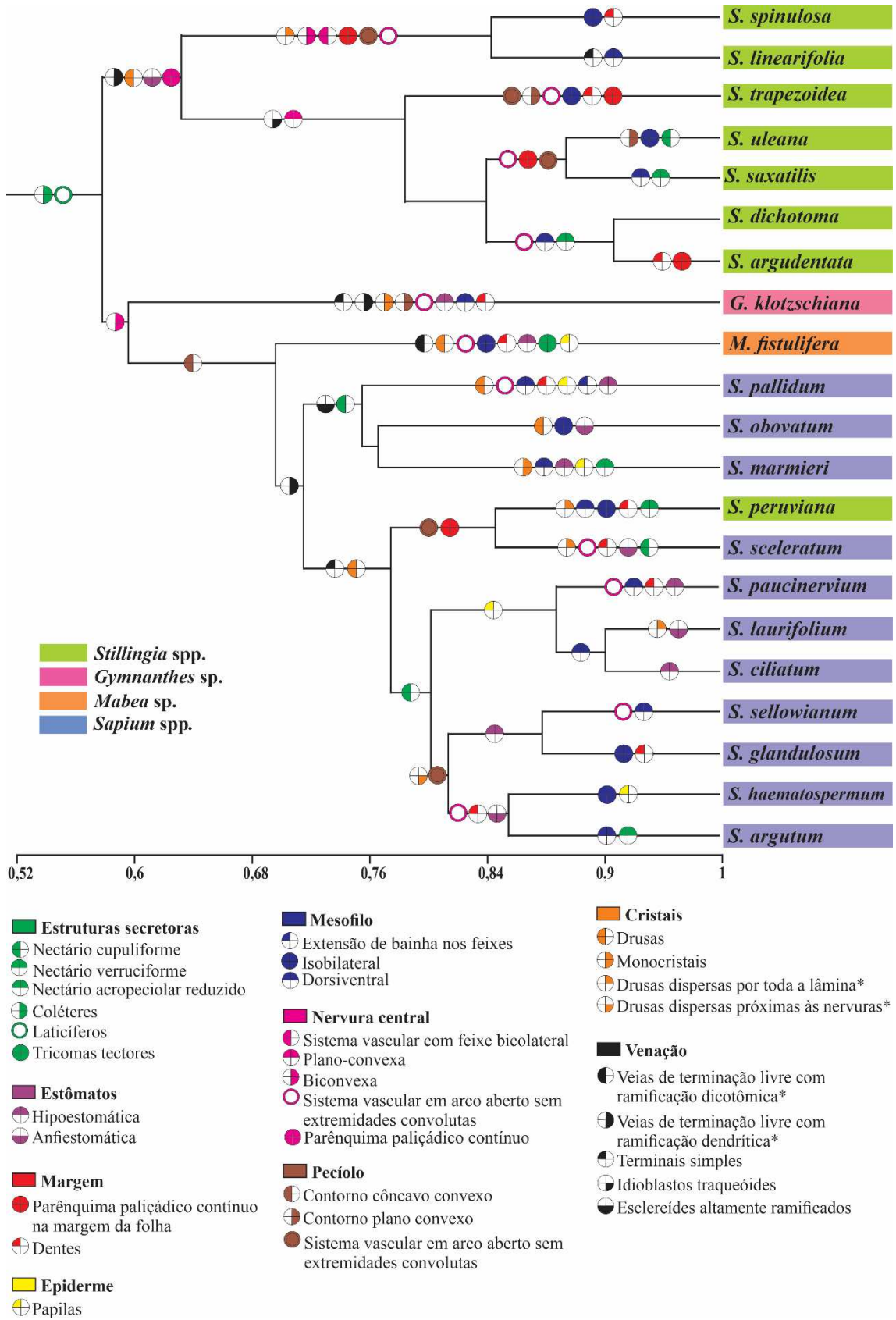


Figura 10. Dendrograma gerado a partir da análise dos dados anatômicos.

## ANEXOS

### 1. Chave anatômica de identificação para *Sapium*.

- 1-Nectário cupuliforme acropeciolar/basilaminar-----2  
 1'- Ausência de nectário cupuliforme acropeciolar/basilaminar -----*Sapium argutum*  
 2-Nectário acropeciolar avascularizado-----*Sapium marmieri*  
 2'- Nectário acropeciolar vascularizado-----3  
 3- Presença de papilas epidérmicas-----4  
 3'- Ausência de papilas epidérmicas-----8  
 4-Sistema vascular da nervura central em arco aberto com extremidades convolutas---5  
 4'- Sistema vascular da nervura central em arco aberto sem extremidades convolutas---6  
 5- Folha hipoestomática-----*Sapium ciliatum*  
 5'-Folha anfiestomática-----*Sapium laurifolium*  
 6- Mesofilo com extensão de bainha nos feixes vasculares-----*Sapium pallidum*  
 6'- Mesofilo sem extensão de bainha nos feixes vasculares-----7  
 7- Folha hipoestomática-----*Sapium paucinervium*  
 7'- Folha anfiestomática-----*Sapium haematospermum*  
 8- Sistema vascular do pecíolo em arco aberto com extremidades convolutas-----  
 -----*Sapium obovatum*  
 8'- Sistema vascular do pecíolo em arco aberto sem extremidades convolutas-----9  
 9- Margem foliar denteada-----*Sapium glandulosum*  
 9'- Margem foliar sem dentes-----*Sapium sellowianum*

### 2. Chave anatômica de identificação para *Stillingia*.

- 1- Parênquima paliçádico interrompido na nervura central-----*Stillingia peruviana*  
 1'- Parênquima paliçádico contínuo na nervura central-----2  
 2- Sistema vascular bicolateral-----3

2'- Sistema vascular colateral-----	4
3-Veias de terminação livre com terminais simples-----	<i>Stillingia linearifolia</i>
4- Mesófilo isobilateral-----	<i>Stillingia spinulosa</i>
5- Drusas no pecíolo-----	<i>Stillingia trapezoidea</i>
5'- Ausência de drusas no pecíolo-----	5
6- Sistema vascular do pecíolo em arco aberto com as extremidades convolutas-----	6
6'- Sistema vascular do pecíolo em arco aberto sem as extremidades convolutas-----	7
7- Parênquima paliçádico contínuo na margem-----	<i>Stillingia argudentata</i>
7'- Parênquima paliçádico interrompido na margem-----	<i>Stillingia dichotoma</i>
8- Nectário cupuliforme-----	<i>Stillingia uleana</i>
8'- Nectário verruciforme-----	<i>Stillingia saxatilis</i>

### 3. Quadros e Tabelas

Tabela 1. Lista de espécimes analisados.

<b>Espécime</b>	<b>Voucher</b>	<b>Coletor / Ano</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Determinador / Ano</b>
<i>Sapium argutum</i> (Müll. Arg.) Huber	HUEFS 119458	Conceição, A.A. 2091 (2007)	Caminho Caturama para Mateus., Paramirim, Bahia, Brasil (Caatinga)	* (2020)
	PEUFR 40654	A. Laurênio; A.P.S. Gomes 2057 (2003)	Fazenda Izabel Dias (Proprietário João Bezerra), Pesqueira, Pernambuco, Brasil	W. Cordeiro (2017)
	HUEFS 160442	Almeida, V.S. 32 (2009)	Comunidade Baixa dos Quelés, ca. 23 km de Jeremoabo, 351 Km de Salvador., Jeremoabo, Bahia, Brasil (Área de transição caatinga e cerrado)	W. Cordeiro (2016)
<i>Sapium ciliatum</i> Hemsl.	IAN 18091	Pires, JM; Black, GA 1111 (1946)	São Miguel do Guamá, Pará, Brasil	* (2021)
	IAN 18090	Pires, JM; Black, GA 1110 (1946)	São Miguel do Guamá, Pará, Brasil	* (2021)
<i>Sapium glandulosum</i> (L.) Morong	HUEFS 66896	Folli, D.A. 4094 (2001)	Reserva Natural da CVRD., Linhares, Bahia, Brasil (Várzea Periodicamente Inundável)	I. Cordeiro (2014)
	HUEFS 35022	Silva, M.M.da 126 (1998)	Trilha da Cachoeira do Fraga., Rio de Contas, Bahia, Brasil	I. Cordeiro (2014)
	HUEFS 63148	Stannard, B. PCD 5294 (1997)	Baixa Grande, caminho para Pajeú do Vento., Caetitê, Bahia, Brasil (Caatinga)	I. Cordeiro (2014)
<i>Sapium haemospermum</i> Müll. Arg.	HUEFS 86158	Christenson, G.M. 1165 (1979)	Chapada dos Guimarães., Conde, Bahia, Brasil	* (2020)
	HUEFS 133339	Arbo, M.M. 9427 (2006)	Parque Nacional Mburucuyá, Potrero 2 chico embarcadero., Mburucuyá, Corrientes, Argentina	* (2020)
	BHCB 79704	Viana, P.L. 376 (2001)	Serra da Calçada, Retiro das Pedras., Brumadinho, Minas Gerais, Brasil	* (2020)
<i>Sapium laurifolium</i> (A. Rich.) Griseb.	MO 6700074	Morales 10550 (2004)		* (2020)
	IAN 20158	Ducke, A 2024 (1946)	Boca do Solimões, terras cultivadas da margem do rio., Paraná do Muquita, Amazonas, Brasil	* (2021)
	IAN 16150	Fróes, RL 20387 (1945)	Paraiso., Gurupá, Pará, Brasil	* (2021)

<i>Sapium marmieri</i> Huber	SP 291941	Fróes, RL 20614 (1945)	Fonte Boa, Amazonas, Brasil (terra firme, mata)	* (2020)
<i>Sapium obovatum</i> Klotzsch ex Müll. Arg.	IAC 5219	A.S. Lima s/nº (1939)	Fazenda Campo Grande, Campinas, São Paulo, Brasil	D.A. Braz (2013)
	CEN 1864	Antônio Costa Allem 1664 (1978)	Várzea Comprida., POCONE, MT, Brasil	B. M. T. Walter (2014)
	HUEFS 132351	Neto, L. A. 785 (1998)	Próximo às margens do córrego do Barbado., Cuiabá, Mato Grosso, Brasil	W. Cordeiro (2016)
<i>Sapium pallidum</i> (Müll. Arg.) Huber	HERBAM 509824	Milliken, W. 4234	Parque Estadual do Xingu, Mato Grosso, Brasil.	W. Cordeiro 2016
	SP 212755	Romaniuc Neto, S; Toledo, CB; Sajo, MG; Silva Filho, NL; Scaff, F; Barbosa, LM 585 (1986)	Ilha Sete de Setembro, Rondônia, Brasil (Mata. Margem do rio Machado)	Pscheidt, AC (2009)
	SP 328411	Sousa Silva, S; Lemos, J; Dambrós, LA 36 (1996)	São Miguel do Araguaia, Goiás, Brasil (mata de galeria, ocorrendo nas areias da praia)	W. Cordeiro (2016)
<i>Sapium paucinervium</i> Hemsl.	IAN 142053	A. Ducke 20806	Mata em parte secundária da terra firme da estrada do Mampurú., Óbidos, Pará, Brasil	* (2021)
	IAN 11779	Archer, WA 8433 (1943)	Morro do Chapéu de Sol, 10k N da fazenda Urucurituba, Rio Tapajós, Pará, Brasil	* (2021)
	IAN 71637	Pires, JM 4032 (1952)	Alto Tapajós, Vila Nova, perto da cacjoeira do Chacorão, terra firme. Pará, Brasil	* (2021)
<i>Sapium sceleratum</i> Ridl.	HUEFS 22531	Thomas, W.W. 9645 (1993)	Juazeiro, Bahia, Brasil	* (2020)
	PEUFR 18042	S.I. Silva 502 (1994)	Pernambuco, Brasil	* (2020)
	HUEFS 122857	Miranda, A.M. 3273 (1999)	Forte de São Pedro., Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil	** (2020)
<i>Sapium sellowianum</i> (Müll. Arg.) Klotzsch ex Baill.	SPF 84318	Hoehne, W s.n. (1932)	Cidade Jardim., São Paulo, São Paulo, Brasil	Pscheidt, AC (2010)
	SPF 84315	Joly, AB 169 (1945)	Campus do Butantã., São Paulo, São Paulo, Brasil	Pscheidt, AC (2010)
	SPF 112701	Rossi, L 149 (1979)	Reserva da CUASO, Mata de Reserva da Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira - USP. Área 2., São Paulo, São Paulo, Brasil	Pscheidt, AC (2010)

<i>Stillingia argutedentata</i> Jabl.	BHCB 190434	Azevedo, LO; Paula, LFA de; Mauad, LP; Porembski, S 456 (2016)	Pedra do Kaladão, Carlos Chagas, Minas Gerais, Brasil	
	MBML 37292	L. Kollmann; A.P. Fontana, C. Esgario & E.Leme 11564 (2009)	São João do Sul, Corrego do Ouro, Faz. Sempre Viva, Guaratinga, Bahia, Brasil	Fraga & Kollmann (2016)
	MBML 39370	L. Kollmann; & E. Leme 11791 (2009)	Ecopóranga, Barra de São Francisco, Espírito Santo, Brasil	Fraga & Kollmann (2016)
<i>Stillingia dichotoma</i> Müll. Arg.	RB 598358	Forzza, R. C. 7752	Monumento Natural do Pontões Capixabas, Espírito Santo, Brasil (inselberg com capões de mata na base e no topo)	Cordeiro, I
	MBML 44940	L. Kollmann; A.P.Fontana, C.N.Fraga, E,J, de Lirio & V. Sarnaglia 12574 (2013)	Pedra da Onça, Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil	Fraga & Kollmann (2016)
<i>Stillingia linearifolia</i> S. Watson	SP 34668	Epling, C; Robinson, W s.n. (1932)	Barret, San Diego, California, Estados Unidos	
<i>Stillingia peruviana</i> D.J. Rogers	SP 350242	D.J.Rogers.	Florida, Santa Cruz, Bolívia (áreas abertas de pastagens e lavouras, antiga floresta)	Nee, M (1999)
<i>Stillingia saxatilis</i> Müll. Arg.	BHCB 131925	Mota, NFO; Viana, PL; Perillo, LN; Carmo, FF; Freitas, GHS; Jorge, TB; Leopoldo, BF 1450 (2009)	Pico da Formosa, Base do pico., Monte Azul, Minas Gerais, Brasil	
	SP 261977	Amorim, AM; et al. 1027 (1993)	Morro do Chapéu, Bahia, Brasil (Campo rupestre)	Cordeiro, I
	SP 311441	Stannard, BL; et al. H52740 (1992)	Campo da Mutuca, Abaíra, Bahia, Brasil (Solo arenoso, entre rochas)	Cordeiro, I
<i>Stillingia spinulosa</i> Torr.	SP	Epling, C; et al. 28 (1930)	Mohave Desert, Slate Mountains California, Estados Unidos	Cordeiro, I (2004)
<i>Stillingia trapezoidea</i> Ule	SP 384381	Souza, JP; et al. 4832 (2005)	Morro do Chapéu, Bahia, Brasil (Caatinga)	Cordeiro, I (2006)
	PEUFR 51337	S.M.A. Souza; A.S.A. Alves, M.A.I.L. Carvalho, E.L. Nascimento, M.F. Sales (2011)	Paraíso Selvagem, Serra de Jerusalém - Vale do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil	S.M.A. Souza (2011)
	PEUFR 51341	S.M.A. Souza; A.I.F.B. Lima, L. Lima, A.S.A. Alves, J.S. Santos 51 (2011)	Serra de Jerusalém, Buíque, Pernambuco, Brasil	S.M.A. Souza (2011)

<i>Stillingia uleana</i> Pax & K. Hoffm.	PEUFR 53310	S. Sousa Silva; L. A. Dambrós; E. C. Freire; M. M. Santos 627 (2015)	Projeto Sistematização IBGE; Estrada Andaraí/Mucegê (BA-142), Andaraí, Bahia, Brasil	R. A. Pereira-Silva (2015)
	SP 364413	Forzza, RC; et al. 1335 (1999)	Itaitu, Cachoeira do Véu da Noiva. Jacobina, Bahia, Brasil (campo pedregoso)	Cordeiro, I (2004)
	BHCB 46947	Cordeiro, I; Mello-Silva, R de CFCR10050 (1986)	Vale do riacho Ribeirão., Grão Mogol, Minas Gerais, Brasil	
<i>Mabea fistulifera</i> Mart.	VIC 28168	Lopes, W.P. de 366 (1997)	Parque Estadual do Rio Doce (PERD), Marliéria, Minas Gerais, Brasil	Silva, A.F.; Lopes, W.P. (1997)
	VIC 14449	Silveira, R.G.; Lisboa, M.L.G. s.n. (1993)	Mata do Morro do Redentor, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil	Meira Neto, J.A.A.
	VIC 26663	Valente, G.E. 907 (2002)	Alameda Roystonea, No platô do morro, próximo à torre perto do Castelo Antônio Chequer., Viçosa, Minas Gerais, Brasil	Valente, G.E. (2002)
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>	IAC 30798	L.C. Bernacci & P.R.P. Andrade 1930 (1995)	Parque Jambreiro, Campinas, São Paulo, Brasil	Oliveira, L. S. D. (2014)
	IAC 29426	S.L. Jung-Mendaçolli; C.A.F. Pinto-Maglio; P.R.P. Andrade & A.M.C. Silva 694 (1994)	Represa 1, Vinhedo, São Paulo, Brasil	Oliveira, L. S. D. (2014)
	PEUFR 51460	G.O. Romão; C.D. Rodrigues, A.P.T. Dantas 1833 (2006)	Bom Jesus, Rio Grande do Sul, Brasil	L. S. D. de Oliveira (2012)

Quadro 1: Diversidade de **estruturas secretoras** em *Sapium*, *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*.

A acropeciolar, B basilaminar, M margem, + presença, ++ abundantemente notável, +++ abundantemente notável em alguns indivíduos e presente em outros. Espaços vazios representam ausência do caractere.

Espécies	Margem foliar			Região acropetolar/ basilaminar			Laticíferos				
	Nectário cupuliforme	Nectário verruciforme	Coléteres	Par de nectários cupuliformes	Par de nectários verruciformes	Par de nectários reduzidos	Pecíolo	Mesofilo	Nervura central	Parênquima nectarífero	
										M	A/B
<i>Sapium argutum</i>	+		+			+ (A)	+	++/+	+	+	
<i>S. ciliatum</i>	+		+	+ (A)			+	+	+	+	+
<i>S. glandulosum</i>	+		+	+ (A)			+	+	+	+	+
<i>S. haematospermum</i>	+		+	+ (A)			++/+	+	++/+	+	+
<i>S. laurifolium</i>	+		+	+ (A)			+	+	+	+	+
<i>S. marmieri</i>	+		+			+ (A)	+	+	++	+	
<i>S. obovatum</i>	+		+	+ (A)			+	+	++/+	+	+
<i>S. pallidum</i>	+		+	+ (A)			+	+	++/+	+	+
<i>S. paucinervium</i>	+		+	+ (A)			+	+	+	+	+
<i>S. sceleratum</i>	+		+	+ (A)			+	+	++/+	+	+
<i>S. sellowianum</i>	+		+	+ (B)			+	+	+	+	+
<i>Stillingia argudentata</i>		+	+		+ (A)		+	+	++	+	+
<i>S. dichotoma</i>		+	+		+ (B)		+	+	+	+	+
<i>S. linearifolia</i>			+				+	+	+		
<i>S. peruviana</i>			+		+ (B)		+	+	++		+
<i>S. saxatilis</i>		+	+		+ (B)		+	+	++	+	+
<i>S. spinulosa</i>			+				+	+	+		
<i>S. trapezoidea</i>			+				+	++	++		
<i>S. uleana</i>	+		+	+ (B)			+	+	++	+	+
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>		+	+				+	+	+		
<i>Mabea fistulifera</i>		+	+				+	+	+	+	

Quadro 2: Caracteres da epiderme e margem foliar de *Sapium*, *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*.

Espécies	Estômatos		Tricomas tectores	Papilas na epiderme			Margem foliar			
	A	H		Nervura central	Nectário Margem	Nectário acropetolar /basilaminar	Colênquima	Parênquima paliçádico contínuo	Dentes	Cicatriz
<i>Sapium argutum</i>	+						+		+	
<i>S. ciliatum</i>		+		+/-			+			+
<i>S. glandulosum</i>		+					+		+	
<i>S. haematospermum</i>	+					+	+		+	
<i>S. laurifolium</i>	+			+/-		+	+			+
<i>S. marmieri</i>		+		+ (AB)			+			+
<i>S. obovatum</i>	+						+			+
<i>S. pallidum</i>		+				+	+		+	
<i>S. paucinervium</i>		+		+ (AD)			+		+	
<i>S. sceleratum</i>	+						+	+	+	
<i>S. sellowianum</i>		+					+			+
<i>Stillingia argudentata</i>	+						+	+	+	
<i>S. dichotoma</i>	+						+			+
<i>S. linearifolia</i>	+							+		+
<i>S. peruviana</i>	+						+		+	
<i>S. saxatilis</i>	+						+	+		+
<i>S. spinulosa</i>	+						+	+	+	
<i>S. trapezoidea</i>	+							+	+	
<i>S. uleana</i>	+						+	+		+
<i>Gymnanathes klotzschiana</i>		+							+	
<i>Mabea fistulifera</i>		+	+	+ (AB)			+		+	

A anfiestomática, H hipoestomática, AB face abaxial, AD face adaxial, + presença, +/- presente em alguns indivíduos e ausente em outros. Espaços vazios representam ausência do caractere.

Quadro 3: Caracteres do **mesofilo** de *Sapium*, *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*.

Espécies	Isobilateral						Dorsiventral			Mesofilo com extensão de bainha nos feixes vasculares
	Típico	PP menos desenvolvido na face AB	2 camadas de PP na face AD e 1 camada pouco desenvolvida na AB	2 camadas de PP na face AD e 2 camadas de PP menos desenvolvido na AB	2-3 camadas de PP na face AD e 2 camadas de PP menos desenvolvido na AB	2 camadas de PP na face AD e AB, sendo a mais interna menos desenvolvida	Típico	2-3 camadas de PP	PP tomando mais de 50% do mesofilo	
<i>Sapium argutum</i>							+			
<i>S. ciliatum</i>							+			
<i>S. glandulosum</i>		+								
<i>S. haematospermum</i>	+									
<i>S. laurifolium</i>							+			
<i>S. marmieri</i>							+			
<i>S. obovatum</i>			+							
<i>S. pallidum</i>									+	+
<i>S. paucinervium</i>							+			
<i>S. sceleratum</i>	+									
<i>S. sellowianum</i>							+			
<i>Stillingia argudentata</i>							+			
<i>S. dichotoma</i>								+		
<i>S. linearifolia</i>						+				
<i>S. peruviana</i>							+			
<i>S. saxatilis</i>					+					
<i>S. spinulosa</i>	+									
<i>S. trapezoidea</i>				+						
<i>S. uleana</i>			+							
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>							+			
<i>Mabea fistulifera</i>		+								

AB face foliar abaxial, AD face foliar adaxial, PP parênquima paliçádico, + presença, +/- presente em alguns indivíduos e ausente em outros. Espaços vazios representam ausência do caractere.

Quadro 4: Caracteres da nervura central de *Sapium*, *Stillingia* e *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*.

Espécies	Formato		Feixes		Organização do sistema vascular		Parênquima paliçádico na face adaxial	
	Biconvexo	Plano convexo	Colaterais	Bicolaterais	Arco aberto sem extremidades convolutas	Arco aberto com extremidades convolutas	Interrompido	Contínuo
<i>Sapium argutum</i>	+		+		+		+	
<i>S. ciliatum</i>	+		+			+	+	
<i>S. glandulosum</i>	+		+			+	+	
<i>S. haemospermum</i>	+		+		+		+	
<i>S. laurifolium</i>	+		+			+	+	
<i>S. marmieri</i>	+		+			+	+	
<i>S. obovatum</i>	+		+			+	+	
<i>S. pallidum</i>	+		+		+		+	
<i>S. paucinervium</i>	+		+		+		+	
<i>S. sceleratum</i>	+		+		+		+	
<i>S. sellowianum</i>	+		+		+		+	
<i>Stillingia argudentata</i>		+	+		+			+
<i>S. dichotoma</i>		+	+		+			+
<i>S. linearifolia</i>	+			+	+			+
<i>S. peruviana</i>	+		+			+	+	
<i>S. saxatilis</i>		+	+		+			+
<i>S. spinulosa</i>	+			+	+			+
<i>S. trapezoidea</i>		+	+		+			+
<i>S. uleana</i>		+	+		+			+
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>	+		+		+		+	
<i>Mabea fistulifera</i>	+		+		+		+	

+presença. Espaços vazios representam ausência do caractere.

Quadro 5: Caracteres do pecíolo de *Sapium*, *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*

Espécies	Formato			Tipo de feixes		Organização do sistema vascular			
	Côncavo convexo	Plano convexo	Pecíolo ausente	Colateral	Bicolateral	Arco aberto sem extremidades convolutas	Arco aberto com extremidades convolutas	Feixes separados por parênquima	Feixe contínuo
<i>Sapium argutum</i>	+			+		+		+	
<i>S. ciliatum</i>	+			+			+	+	
<i>S. glandulosum</i>	+			+		+			+
<i>S. haematospermum</i>	+			+		+		+	
<i>S. laurifolium</i>	+			+			+	+	
<i>S. marmieri</i>	+			+			+	+	
<i>S. obovatum</i>	+			+			+	+	
<i>S. pallidum</i>	+			+			+	+	
<i>S. paucinervium</i>	+			+			+	+	
<i>S. sceleratum</i>	+			+		+			+
<i>S. sellowianum</i>	+			+		+			+
<i>Stillingia argudentata</i>	+			+			+	+	
<i>S. dichotoma</i>	+			+			+	+	
<i>S. linearifolia</i>			+		+	+			+
<i>S. peruviana</i>	+			+		+		+	
<i>S. saxatilis</i>	+			+		+		+	
<i>S. spinulosa</i>			+		+	+			+
<i>S. trapezoidea</i>		+		+		+		+	
<i>S. uleana</i>		+		+		+		+	
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>		+		+		+			+
<i>Mabea fistulifera</i>	+			+		+		+	

+ presença. Espaços vazios representam ausência do caractere.

Quadro 6: Presença e disposição de cristais nas folhas de *Sapium*, *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*.

Espécies	Drusas								Monocrostaís
	Dispersas em toda lâmina foliar*	Dispersas próximas às nervuras*	Córtex da nervura mediana	Floema da nervura mediana	Mesofilo	Peciolo	Parênquima nectarífero/subnectarífero		
							Nectário acropeciolar /basilaminar	Nectário da margem	
<i>Sapium argutum</i>		+	+	+	+	+		+	
<i>S. ciliatum</i>			+	+	+	+	++	+	
<i>S. glandulosum</i>		+	+	+	+	+	+	+	
<i>S. haematospermum</i>		+	+	+	+	+	+	+	
<i>S. laurifolium</i>	+		+	+	+	++	+	+	
<i>S. marmieri</i>			+	+	+	+		+	+**
<i>S. obovatum</i>				+	+	+	+	+	
<i>S. pallidum</i>			+	+	+	+	+	+	
<i>S. paucinervium</i>			+	+	+	+	+	+	
<i>S. sceleratum</i>	+		+	+	+	+	+	++/+	
<i>S. sellowianum</i>		+	+	+	+	+	+	+	
<i>Stillingia argudentata</i>					+		+	+	
<i>S. dichotoma</i>					+		+	+	
<i>S. linearifolia</i>	+		+	+	+				
<i>S. peruviana</i>	+		+	+	+	+			
<i>S. saxatilis</i>							+	+	
<i>S. spinulosa</i>	+				+				
<i>S. trapezoidea</i>						+			
<i>S. uleana</i>							+	+	
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>			+	+	+	+		+	+***
<i>Mabea fistulifera</i>			+	+	+	+		+	

+ presença, ++ abundantemente notável, ++/+ abundantemente notável em alguns indivíduos e presente em outros, \*observado em peças diafanizadas, \*\*observado no floema da nervura central, \*\*\*observado juntamente com as drusas. Espaços vazios representam ausência do caractere.

Quadro 7: Caracteres de venação nas folhas de *Sapium*, *Stillingia*, *Gymnanthes klotzschiana* e *Mabea fistulifera*.

Espécies	Ramificação das veias de terminação livre		Terminais das veias de terminação livre		
	Dicotômica	Dendrítica	Simples	Idioblastos traqueóides	Esclereídes altamente ramificados
<i>Sapium argutum</i>		+	+		
<i>S. ciliatum</i>		+	+		
<i>S. glandulosum</i>		+	+		
<i>S. haematospermum</i>		+	+		
<i>S. laurifolium</i>		+	+		
<i>S. marmieri</i>		+			+
<i>S. obovatum</i>		+			+
<i>S. pallidum</i>		+			+
<i>S. paucinervium</i>		+	+		
<i>S. sceleratum</i>		+	+		
<i>S. sellowianum</i>		+	+		
<i>Stillingia argudentata</i>		+		+	
<i>S. dichotoma</i>		+		+	
<i>S. linearifolia</i>		+	+		
<i>S. peruviana</i>		+	+		
<i>S. saxatilis</i>		+		+	
<i>S. spinulosa</i>		+			
<i>S. trapezoidea</i>		+		+	
<i>S. uleana</i>		+		+	
<i>Gymnanthes klotzschiana</i>		+	+		
<i>Mabea fistulifera</i>	+	+			

+ presença. Espaços vazios representam ausência do caractere.

## CAPÍTULO 2

Ontogenia, histoquímica e ultraestrutura dos laticíferos em *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): considerações sobre a sistemática de Hippomaneae.

### Resumo

Laticíferos são estruturas secretoras internas formadas por uma ou um conjunto de células que adquirem o formato de tubo e são responsáveis pela produção e armazenamento de látex. Esse exsudado é composto por substâncias complexas e atua na cicatrização de lesões e proteção contra herbivoria em algumas espécies. Dados como distribuição, tipologia e composição química do latex são úteis para estudos sistemáticos e contribuem para compreensão das relações entre espécies. Foram aplicadas técnicas de microscopia de luz e eletrônica de transmissão para avaliação ontogenética, histoquímica e ultraestrutural dos laticíferos de *Sapium glandulosum* (L.) Morong circunscrito na subfamília Euphorbioideae. Essa espécie, utilizada tradicionalmente em tratamentos cicatrizantes, é conhecida popularmente como leiteiro, devido a exsudação de látex esbranquiçado e volumoso quando ocorre ferimento. Foram descritos laticíferos articulados, anteriormente considerados ausentes no gênero e raros na subfamília. Os dados obtidos são promissores e responderam perguntas acerca dos compostos químicos presentes no látex, o processo de secreção e as organelas envolvidas na síntese.

Palavras-chave: látex, laticíferos articulados anastomosados.

## 1 – Introdução

Laticíferos são estruturas secretoras internas formadas por uma ou um conjunto de células internas ao corpo da planta, que adquirem o formato de tubo (Metcalf 1967; Evert 2006; Hagel et al. 2008) e foram reportados para cerca de 40 famílias (Prado e Demarco 2018; Teixeira et al. 2020). Laticíferos são responsáveis pela produção e armazenamento de látex (Fahn 1979), que ao final do desenvolvimento constitui todo o protoplasto do laticífero (Demarco et al., 2006). Etimologicamente a palavra “látex” deriva do latim, *lactis*, que significa leite, em referência ao aspecto do exsudado branco leitoso (Rizzini, 1955), embora o látex possa ser também translúcido, avermelhado, alaranjado ou amarelado (Endress e Bruyns 2000). Esse exsudado pode ser composto por alcaloides, terpenoides, polissacarídeos, compostos fenólicos, proteínas, amido, lipídeos, ácidos graxos (Yoder e Mahlberg 1976; Fahn 1979; Biesboer e Mahlberg 1981) e atua na cicatrização de lesões e proteção contra herbivoria (Fahn 1979, 1990; Farrell et al. 1991; Konno et al. 2004; 2006; Konno 2011, Prado e Demarco, 2018).

A presença e a tipologia dos laticíferos, bem como a composição química do exsudado são caracteres úteis para estudos sistemáticos e contribui para compreensão das relações evolutivas entre diferentes taxa (Dehgan, 1978; Mahlberg, 1987; Rudall, 1994; Demarco et al., 2013; Mouzella, 2020). Para a família Euphorbiaceae, laticíferos foram considerados comuns nas subfamílias Euphorbioideae e Crotonoideae e raros em Acalyphoideae (Rudall, 1987) e são estruturas que podem contribuir para compreensão da história evolutiva da família (Vitarelli et al., 2015).

Deve ser considerado que muitas descrições de ocorrência de laticíferos se baseiam na presença de látex (Teixeira et al. 2020), que alcança a superfície do corpo vegetal após injúrias (Mahlberg, 1987). No entanto, a exsudação de látex não é uma evidência indubitável da presença de laticíferos. O látex também pode ser resultado da atividade de células individuais e que não formam sistemas de canais, como descrito para *Croton draco* Schltldl. & Cham. (Farias et al., 2009). Além disso, o produto da atividade de ductos resiníferos pode ser interpretado erroneamente com o látex (Prado e Demarco, 2018). Adicionalmente, há registros de “canais laticíferos” resultantes de um processo de morte celular programada, que armazena ao final do desenvolvimento um exsudado com constituição semelhante ao látex (Zhou e Li, 2011).

Os laticíferos podem ser classificados como articulados, não articulados, anastomosados e ramificados (Evert, 2006; Hagel et al. 2008). Em *Sapium haemospermum* Müll. Arg. foram

registrados dois sistemas de laticíferos (Demarco et al. 2013), um dado incomum, visto que na maioria dos casos ocorre um tipo de laticífero por espécie.

*Sapium glandulosum* (L.) Morong circunscrito na subfamília Euphorbioideae (Webster, 2014), utilizada tradicionalmente em tratamentos cicatrizantes (Andrade et al., 2017), é uma espécie conhecida popularmente como leiteiro, devido a exsudação de látex esbranquiçado e volumoso quando ocorre ferimento (Al Muqarrabun et al. 2014). Andrade et al. (2017) descreveu os laticíferos de *S. glandulosum* como não articulados, porém não foram feitos estudos ontogenéticos que confirmassem essa informação. O presente trabalho propõe um estudo anatômico, histoquímico e ultraestrutural acerca dos laticíferos de *S. glandulosum* num esforço para elucidar as seguintes lacunas: como ocorre o processo inicial de desenvolvimento dos laticíferos? Os laticíferos são do tipo articulado, não articulado ou ambos? Quais são os grupos de compostos químicos presentes no látex? Como se dá o processo de secreção e quais as organelas envolvidas na síntese e armazenamento do látex?

## 2 - Material e métodos

### 2.1 - Microscopia de luz

Amostras de ápices caulinares e folhas expandidas de *Sapium glandulosum* foram coletadas no Horto Botânico da Universidade Federal de Viçosa. O material foi fixado em formalina neutra tamponada (FNT) por 72 horas e estocado em etanol 70% (Kraus e Arduin 1997). Para as análises anatômicas, as amostras foram submetidas à desidratação em série etanólica e incluídas em historesina (Historesin, Leica). Cortes transversais e longitudinais com 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo (Leica RM2265, Deerfield, IL, USA), corados com azul de Toluidina em pH 4.4 (O'Brien e McCully 1981) e as lâminas ordenadas em série foram montadas com resina sintética Permount (Fisher ®, Alemanha).

Para caracterizar os compostos presentes nos laticíferos, foram utilizadas amostras frescas, cortadas a mão livre com lâmina aquecida, evitando, assim, o extravasamento do conteúdo celular. Tais secções foram submetidas a testes histoquímicos para evidenciar polissacarídeos totais (McManus, 1948), proteínas (O'Brien e McCully 1981), pectinas/mucilagem (Johansen, 1940), compostos fenólicos (Johansen 1940), lipídeos totais (Brundrett et al., 1991). Foram testados terpenóides com o reagente de NADI (David e Carde 1964), borracha com oil red (Pearse, 1968) e alcalóides com reagente de Wagner (Furr e Mahlberg 1981). Esses mesmos testes foram também aplicados em peças diafanizadas.

Fragmentos foram submetidos ao hidróxido de sódio 5% por 30 minutos, lavados em água destilada e clarificados com hipoclorito de sódio 20% por, aproximadamente, 1 hora até ficarem opacos (Kraus e Arduin 1997). Depois de lavados, esses fragmentos foram submetidos aos testes histoquímicos e as lâminas montadas com água glicerizada. As observações e captura das imagens foram realizadas em um fotomicroscópio (Olympus AX 70, Tóquio, Japão) equipado com sistema U-Photo e câmara digital (AxioCam HRc; Zeiss, Gottingen, Alemanha), no laboratório da Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, MG.

### ***2.2 - Microscopia eletrônica de transmissão (MET)***

Para a microscopia eletrônica de transmissão (MET), amostras dos ápices meristemáticos foram fixadas em glutaraldeído 2,5 % em tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2 (10-12 horas), pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% por 2 horas, desidratadas em série acetônica e incluídas em resina LR White. Secções de 60-70 nm foram obtidas em ultramicrotomo (modelo LEICA EM FC6), e contrastadas com acetato de uranila 5%, em solução aquosa, e citrato de chumbo (Reynolds 1963).

A captura de imagens foi realizada em microscópio eletrônico de transmissão (modelo Zeiss EM 109), com câmera digital acoplada no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (NMM-UFV).

## **3 - Resultados**

Em ápices caulinares foi possível observar os laticíferos em diferentes estádios de diferenciação (Fig. 1A), o que demonstra o desenvolvimento assincrônico dessas estruturas. Os laticíferos se diferenciam do procâmbio (Fig. 1B), em células que se dividem, sofrem citocinese e formam fileiras articuladas (Fig. 1 C, D). Desde o início, as células estavam em alta de atividade, sendo possível verificar a presença do látex ocupando o protoplasma dos laticíferos (Fig. 1C, D), o que auxilia no seu reconhecimento.

A organela mais conspícua do laticífero é o vacúolo (Fig. 1E), o qual é originado da fusão de pequenos e numerosos vacúolos (Fig. 1F). O desenvolvimento do vacúolo é o principal responsável pelas modificações no formato e localização do núcleo. No início o núcleo é esférico ocupando a região central da célula (Fig. 2A, B). Posteriormente, são deslocados para a periferia da célula e adquirem formato elíptico, apresentam cromatina descondensada e

nucléolos evidentes (Fig. 2C), o aumento de volume do vacúolo resulta na compressão do núcleo contra a parede (Fig. 2C).

Durante o desenvolvimento das células laticíferas, os núcleos se dividem e ocorre citocinese (Fig. 2A), portanto os laticíferos são articulados. Entretanto, as paredes terminais dessas sequências de células se dissolvem precocemente e de forma centrífuga (Fig. 1D). Além disso, ocorrem anastomoses laterais, que permeiam os tecidos em uma rede de tubos conectados (Fig. 1D, 2E). Novas células são incorporadas ao sistema de laticíferos, as paredes do laticífero em contato com as células vizinhas apresentam aspecto oblíquo e despontado (Fig. 2D), o que evidencia o crescimento intrusivo dessa estrutura. Durante a diferenciação, as células laticíferas mantêm contato com as células circunvizinhas via plasmodesmos, que podem ser simples ou ramificados (Fig. 2F). Os laticíferos em desenvolvimento, apresentam numerosas mitocôndrias, que parecem ser empurradas para a periferia da célula (Fig. 2G) e figuras mielínicas (Fig. 2I). O retículo endoplasmático granular é evidente e desenvolvido no estágio de síntese (Fig. 2B).

Nos meristemas, os laticíferos em desenvolvimento podem apresentar diferenças no diâmetro, sendo observados estruturas estreitas e outras com o calibre maior (Fig. 1C, D; 2E). Em órgãos maduros não se observou a formação de sistemas distintos, mas uma diferença no diâmetro quando comparadas algumas regiões no mesmo sistema de tubos ramificados (Fig. 2H). A rede formada pelos laticíferos é encontrada nos tecidos fundamentais da medula e córtex e também associado ao sistema vascular do caule e da folha.

Os testes histoquímicos realizados em folhas expandidas, para identificação de lignina tiveram resultados negativos, logo, os laticíferos não possuem parede secundária. As principais classes de constituintes do látex são borracha (Fig. 3A), polissacarídeos (Fig. 3B), amido (Fig. 3C, D), proteínas (Fig. 3E), lipídios (Fig. 3F), alcalóides (Fig. 3G) e oleorresinas (Fig. 3H). Grãos de amido com o formato de bastão foram detectados no citoplasma dos laticíferos (Fig. 3C, D), um formato diferente daqueles observados nas células parenquimáticas circunvizinhas, as quais apresentam no formato esférico (fig. 3C).

#### 4 – Discussão

A presença de laticíferos articulados anastomosados em *S. glandulosum* reforça o relatado para os laticíferos de *S. haematospermum* (Demarco et al. 2013). Estes resultados indicam a necessidade de uma revisão acurada sobre o tipo de laticífero em Hippomaneae, uma vez que laticíferos não articulados foram descritos como uma característica comum em *Sapium*

(Rudall 1987; Pompert 1989) e na tribo (Esser, 2001). Adicionalmente, os tipos articulados foram considerados raros ou ausentes na subfamília Euphorbioideae (Mahlberg et al. 1987; Rudall 1987, 1994; Pompert 1989).

Para *S. glandulosum* o mecanismo de incorporação de novas células foi a principal forma de crescimento do sistema de laticíferos. A presença de paredes dissolvidas e com aspectos flácidos, assim como foi verificado nesse trabalho foi descrita por Canaveze et al. (2018) em *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Apocynaceae). Para esses autores, os contornos da parede celular dos laticíferos em desenvolvimento, são evidências seguras para confirmar o crescimento intrusivo, o que corrobora nossos resultados. Em *S. glandulosum* foi característico o crescimento intrusivo dos laticíferos em meio as células parenquimáticas e as células do sistema vascular. A presença de numerosos plasmodesmos realizando a comunicação das células laticíferas com as parenquimáticas circunvizinhas foi interpretada como uma forma de isolar substâncias potencialmente tóxicas para os tecidos vegetais, considerando que essa comunicação é obstruída com o alongamento do laticífero (Farrell et al. 1991). Esse processo de isolamento de substâncias pode justificar a grande diversidade de metabólitos que podem ser encontradas no látex de folhas completamente expandidas, considerando que durante o desenvolvimento ontogenético observamos a presença de RER e os vacúolos que apresentam conteúdo predominantemente proteico.

O volume de látex produzido e mantido dentro dos laticíferos exerce força de pressão sobre as paredes celulares e organelas (Agrawal e Konno 2009). A dissolução das paredes transversais, a integração do protoplasma das células adjacentes (Fahn, 1979), e a fusão dos vacúolos pertencentes as células recém divididas, resultam em um vacúolo proeminente (Wilson e Mahlberg 1978; Fineran 1983; da Cunha et al. 1998; Demarco et al. 2013). Tais evidências foram observadas no presente trabalho durante o desenvolvimento dos laticíferos, que ao final da diferenciação exibem núcleos com disposição parietal e dissolução das paredes terminais. A reação negativa para detecção de lignina confirma a natureza primária e pectocelulósica das paredes dos laticíferos de *S. glandulosum*, característica considerada majoritária em laticíferos (Fahn 1979; Fineran 1983).

A presença de um sistema de laticíferos bem desenvolvido, como observado em *S. glandulosum*, e com uma diversidade de metabólitos secundários constituindo o látex tem grande importância na cicatrização de ferimentos no corpo vegetal, assim como proteção contra herbivoria, como foi reportado em outros trabalhos (Mahlberg et al. 1987; Fahn 1979, 1990;

Farrel et al. 1991; Demarco et al. 2006; Konno et al. 2004; 2006; Konno 2011), e que foi confirmado com as observações em campo, não sendo registrados evidências de herbivoria.

Em *S. glandulosum*, foi verificado uma exsudação abundante e com uma constituição química diversa, destacando-se a presença de borracha. A presença de borracha como constituinte do látex, já foi referida como um importante mediador, auxiliando na imobilização de metabolitos, que de outra forma poderiam ser tóxicos para a célula vegetal (Mahlberg et al. 1987), sobretudo se pensarmos no volume e na composição da secreção produzidos e armazenados nos laticíferos. Assim, dada as funções atribuídas do látex, ele é apontado como um dos responsáveis pelo sucesso evolutivo de plantas latescentes (Fahn 1979, 1990; Farrell et al. 1991).

A presença e o tipo de grão de amido são um importante auxiliar na compreensão da história filogenética de grupos vegetais e na evolução dos laticíferos (Mahlberg, 1975). Os grãos de amido em forma de bastão nos laticíferos são considerados uma forma ancestral e conservativa em Euphorbioideae (Biesboer e Mahlberg 1981). Além disso, a análise da distribuição dos laticíferos nos órgãos de *S. glandulosum*, juntamente com o estudo histoquímico, evidenciaram diferenças, quando comparado com *S. haematospermum*, que ao contrário de *S. glandulosum* não apresenta laticíferos na medula e alcalóides não foram identificados no látex (Demarco et al. 2013), ou seja, essas características podem auxiliar na distinção das duas espécies, assim como já foi registrado por Sacchetti et al. (1999) para espécies de Apocynaceae.

## 5 – Conclusões

*Sapium glandulosum* possui laticíferos articulados anastomosados com desenvolvimento precoce e alta atividade metabólica. Os resultados do presente trabalho são promissores uma vez que laticíferos articulados foram citados como ausentes em *Sapium* e raros na subfamília Euphorbioideae. A localização dos laticíferos e a composição química do látex permite distinguir *S. glandulosum* de *S. haematospermum*. Os dados reforçam a importância dos estudos ontogenéticos na caracterização do tipo de laticífero para a taxonomia e compreensão da tribo Hippomaneae.

## 6 - Referências

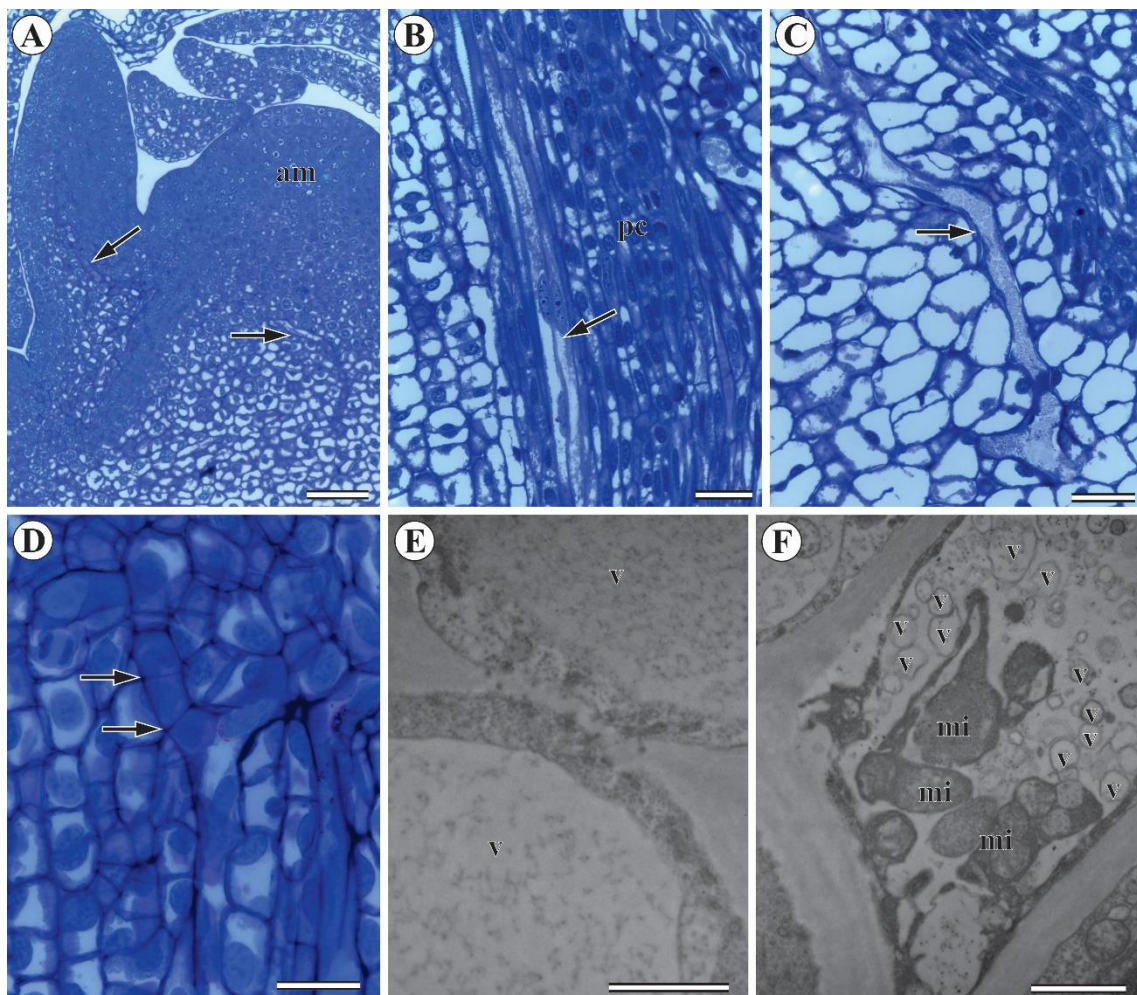
- Agrawal, A.A, Konno, K. 2009. Latex: a model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 311-331.
- Andrade, E.A.D., Folquitto, D.G., Luz, L.E.C., Paludo, K.S., Farago, P.V., Budel, J.M. 2017. Anatomy and histochemistry of leaves and stems of *Sapium glandulosum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27: 282-289.
- Al Muqarrabun, L.M.R., Ahmat, N., Aris, S.R.S. 2014. A review of the medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Sapium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1): 9-20.
- APG IV. Angiosperm Phylogeny Group, Chase, M.W., Christenhusz, M.J., Fay, M.F., Byng, J.W., Judd, W.S., ...Stevens, P.F. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical journal of the Linnean Society*, 181(1): 1-20.
- Canaveze, Y., Mastroberti, A.A., Mariath, J.E.D.A., Machado, S.R. 2019. Cytological differentiation and cell wall involvement in the growth mechanisms of articulated laticifers in *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Apocynaceae). *Protoplasma*, 256(1): 131-146.
- Biesboer, D.D., Mahlberg, P.G. 1981. Laticifer starch grain morphology and laticifer evolution in *Euphorbia* (Euphorbiaceae). *Nordic Journal of Botany*, 1: 447-457.
- Brundrett, M.C., Kendrick, B., Peterson, C.A. 1991. Efficient lipid staining in plant material with sudan red 7B or fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic e Histochemistry*, 66: 111-116.
- Da Cunha, M., Costa, C.G., Machado, R.D., Miguens, F.C. 1998. Distribution and differentiation of the laticifer system in *Chamaesyce thymifolia* (L.) Millsp. (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Neerlandica*, 47: 209-218.
- David, R., Carde, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris, Série D* 258: 1338-1340.
- Dehgan, B., Craig, M.E. 1978. Types of laticifers and crystals in *Jatropha* and their taxonomic implications. *American Journal of Botany*, 65(3): 345-352.
- Demarco, D., Kinoshita, L.S., Castro, M.M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 29:133-144.
- Demarco, D., de Moraes Castro, M., Ascensão, L. 2013. Two laticifer systems in *Sapium haematospermum*—new records for Euphorbiaceae. *Botany*, 91(8): 545-554.

- Endress, M.E., Bruyns, P.V. 2000. A Revised Classification of Apocynaceae s.l. *The Botanical Review*, 66:1-56.
- Evert, R.F. 2006. *Esau's plant anatomy*. Ed. 3. Wiley, New York.
- Fahn, A. 1990. *Plant anatomy*. 4th ed., Oxford, Pergamon Press.
- Fahn, A. 1979. *Secretory Tissues in Plants*. London: Academic Press. p. 302
- Farias, F.R., Williamsson, J.S., Rodríguez, S.V., Angeles, G., Portugal, V.O. 2009. Bark anatomy in *Croton draco* var. *draco* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany*, 96: 2155-2167.
- Farrell, B.D., Dussourd, D.E., Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? *American Naturalist*, 138: 881-900.
- Fineran, B.A. 1983. Differentiation of non-articulated laticifers in *Poinsettia* (Euphorbia pulcherrima Willd.). *Annals of Botany*, 52: 279-293.
- Furr, M., Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44(2): 153-159.
- Hagel, J.M., Yeung, E.C., Facchini, P.J. 2008. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends in plant Science*, 13(12): 631-639.
- Johansen, D.A. 1940. 'Plant microtechnique.' (McGraw-Hill Books: New York).
- Konno, K. 2011. Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. *Phytochemistry*, 72: 1510-1530.
- Konno, K., Hirayama, C., Nakamura, M., Tateishi, K., Tamura, Y., Hattori, M. 2004. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. *The Plant Journal*, 37: 370-378.
- Konno, K., Ono, H., Nakamura, M., Tateishi, K., Hirayama, C., Tamura, Y., Kohno, K. 2006. Mulberry latex rich in antidiabetic sugar-mimic alkaloids forces dieting on caterpillars. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103:1337-1341.
- Kraus, J.E., Arduin, M. 1997. *Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal*. Seropédica, Editora Universidade Rural.
- Mahlberg, P.G. 1975. Evolution of the laticifer in *Euphorbia* as interpreted from starch grain morphology. *American Journal of Botany*, 62: 577-583.
- Mahlberg, P.G., Davis, D.G., Galitz, D.S., Manners, G.D. 1987. Laticifers and the classification of *Euphorbia*: the chemotaxonomy of *Euphorbia esula* L. *Botanical journal of the Linnean Society*, 94(1-2): 165-180.

- McManus, J.F.A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99–108.
- Metcalfe, C.R. 1967. Distribution of latex in the plant kingdom. *Economic Botany*, 21(2): 115-127.
- Mouzella, C.P. 2020. Laticíferos são incomuns em Acalyphoideae? Contribuições da anatomia foliar para taxonomia de Euphorbiaceae. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- O'Brien, T.P.E., McCully, M.E. 1981. The study of plant structure principles and select methods. Melbourne, Termarcaphi Pty.
- Pearse, A.G.E. 1968. 'Histochemistry: theoretical and applied. Vol. 2' 4<sup>a</sup>.ed. (Churchill Livingston, Edinburgh).
- Pompert, M.G. 1989. Estudio morfo-anatomico de dos especies de *Sapium* (Euphorbiaceae). *Bonplandia*, 6: 197–210.
- Prado, E., Demarco, D. 2018. Chapter 6: Laticifers and secretory ducts: Similarities and Differences. In L. Hufnagel (Ed.), *Ecosystem services and global ecology*. London, United Kingdom: Szent Istvan University. IntechOpen Limited.
- Rizzini, C.T. 1955. *Latim para botânicos*. Fundação Gonçalo Moniz, 226 p.
- Rudall, P. 1994. Laticifers in Crotonoideae (Euphorbiaceae): homology and evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 81: 270-282.
- Rudall, P.J. 1987. Laticifers in Euphorbiaceae—a conspectus. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 94(1-2): 143-163.
- Sacchetti, G., Ballero, M., Serafin, M., Romagnoli, C., Bruni, A., Poli, F. 1999. Laticifer tissue distribution and alkaloid location in *Vinca sardoa* (Stearn) Pign.(Apocynaceae), an endemic plant of Sardinia (Italy). In *Phyton-Annales Rei Botanicae*, 39: 265-275.
- Teixeira, S.P., Marinho, C.R., Leme, F.M. 2020. Structural diversity and distribution of laticifers. In *Advances in Botanical Research*. Vol. 93, pp. 27-54. Academic Press.
- Vitarelli, N.C., Riina, R., Caruzo, M.B.R., Cordeiro, I., Fuertes-Aguilar, J., Meira, R.M.S.A. 2015. Foliar secretory structures in Crotonoideae (Euphorbiaceae): diversity, anatomy, and evolutionary significance. *American Journal of Botany*, 102(6): 833-847.
- Wilson, K.J., Mahlberg, P.G. 1978 Ultrastructure of non-articulated laticifers in mature embryos and seedlings of *Asclepias syriaca* L. (Asclepiadaceae). *American Journal of Botany*, 65: 98-109.

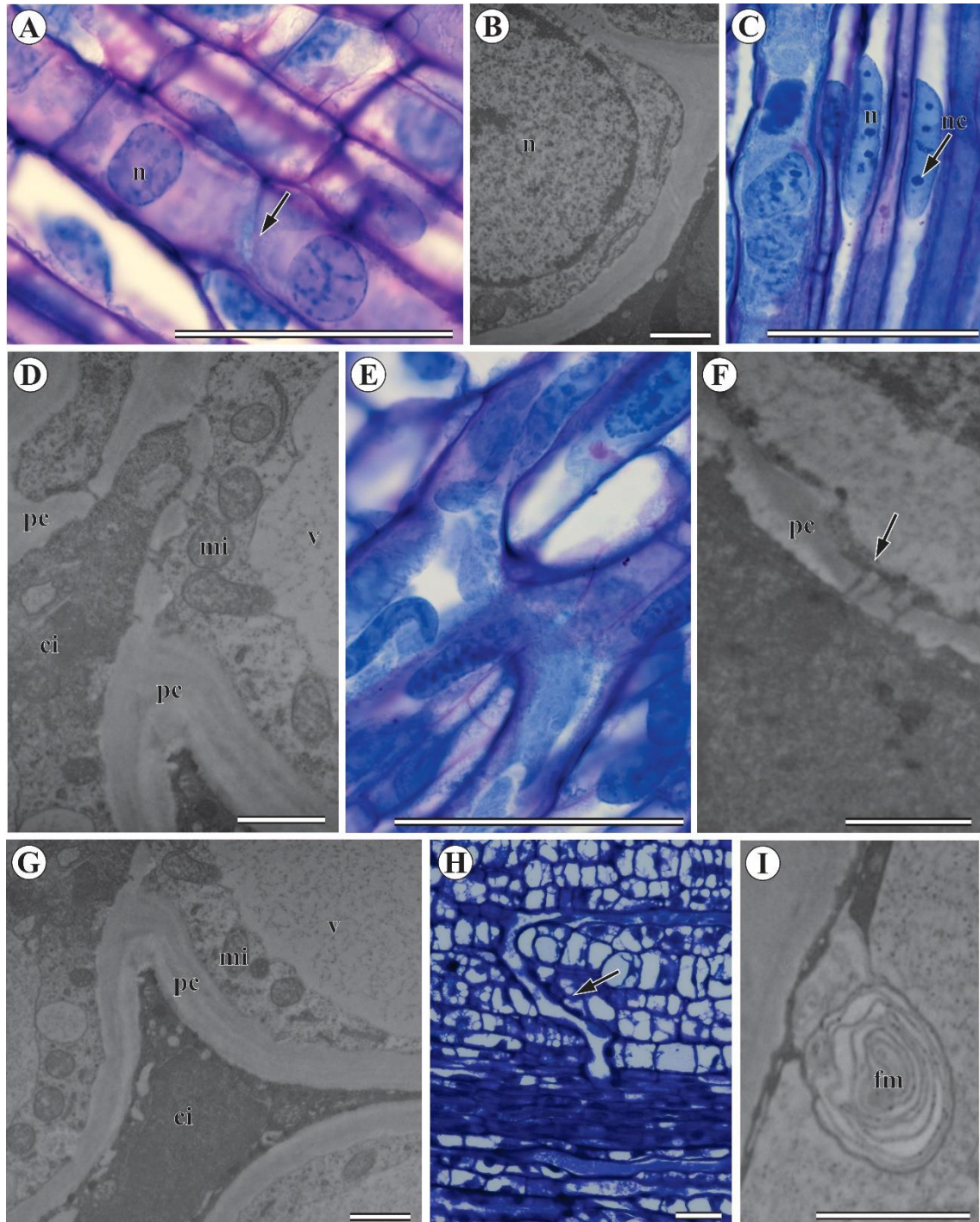
Yoder, L.R., Mahlberg, P.G. 1976. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). *American Journal of Botany*, 63: 1167-1173.

## FIGURAS



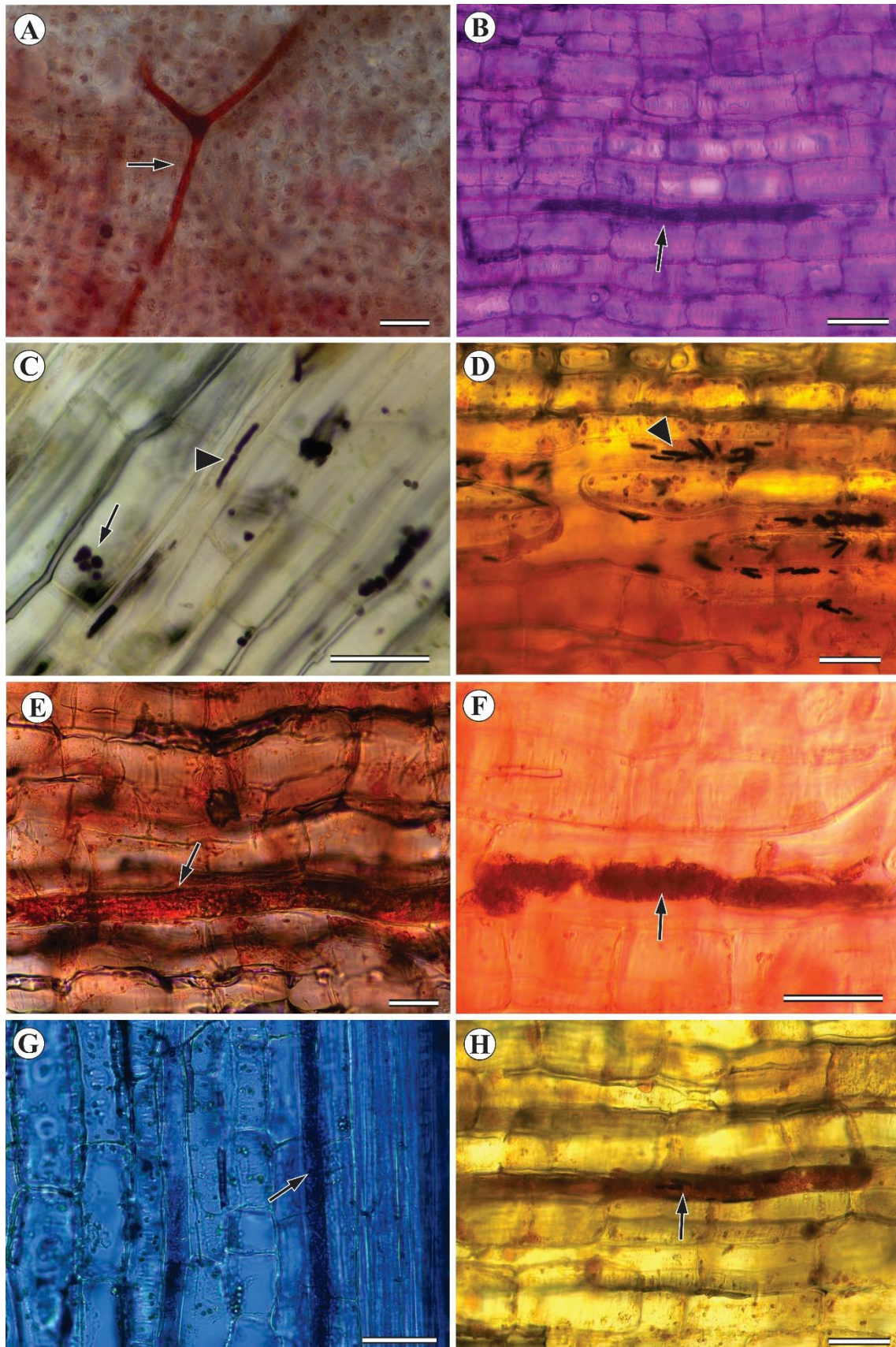
**Figura 1.** Desenvolvimento dos laticíferos articulados anastomosados dos ápices caulinares de *Sapium glandulosum* em cortes longitudinais em microscopia de luz e eletrônica de transmissão (A-C, D) e eletromicrografia (E, F). **A.** Detalhe do ápice meristemático, evidenciando os laticíferos originários do procâmbio e do meristema fundamental. **B.** Detalhe do procâmbio com

laticíferos no início do desenvolvimento (seta), note a presença de látex. **C, D.** Paredes transversais de laticíferos (seta) e o conteúdo citoplasmático **E.** Vacúolos proeminentes no citoplasma. **F.** Múltiplos vacúolos menores antes da fusão resultando um vacúolo maior. am= ápice meristemático, mi= mitocôndria, pc= procâmbio, v= vacúolo. Barras: A-D= 50  $\mu\text{m}$ , E, F= 1  $\mu\text{m}$ .



**Figura 2.** Desenvolvimento dos laticíferos articulados anastomosados em *Sapium glandulosum* em cortes longitudinais corados em azul de toluidina (A, C, E, H) e ultramicrografia celular (B, D, F, G, I).

D, F, G, I). **A.** Laticíferos com núcleos na região central e paredes terminais no início da dissolução (seta). **B.** Núcleo proeminente com cromatina descondensada ocupando posição parietal. **C.** Núcleos elípticos com cromatina descondensada e disposição parietal. **D.** Incorporação de novas células ao sistema de laticíferos, note o crescimento intrusivo dessa estrutura. **E, H.** Laticíferos anastomosados, note a conexão entre dois laticíferos (E). **F.** Plasmodesmos permitindo a passagem de substâncias entre as células antes da obliteração. **G.** Numerosas mitocôndrias em posição parietal pela pressão causada pelo vacúolo. **I.** Figuras mielínicas dentro do vacúolo. ci= citoplasma, fm= figura mielínica, mi= mitocôndria, n= núcleo, nc= nucléolo, pc= parede celular, v= vacúolo. Barra: A, C, E, H = 50  $\mu\text{m}$ , B, D, F, G, I = 1  $\mu\text{m}$ .



**Figura 3.** Resultados histoquímicos em folhas de *Sapium glandulosum* em cortes longitudinais e amostras clarificadas. **A.** Amostras submetidas ao Oil red detectando borracha no látex, note

as ramificações (seta). **B.** Polissacarídeos totais evidenciados pelo PAS. **C.** Amostras submetidas ao lugol detectando os grãos de amido com forma de bastão nos laticíferos e esféricos nas células parenquimáticas (seta). **D.** Material submetido ao reagente de Wagner, observe os grãos de amido em formato de bastão (seta) e anastomose (\*). **E.** Proteínas totais evidenciadas pelo Xilidine Ponceau (seta). **F.** Lipídios detectados pelo sudan red (seta). **G.** Alcalóides evidenciados pelo Reagente de Wagner (seta). **H.** Oleoresinas identificados com o Reagente de NADI (seta). Barras = 50  $\mu\text{m}$ .

## CONCLUSÕES GERAIS

Foram descritos caracteres úteis para o estudo taxonômico de *Sapium* e *Stillingia* e relevantes para a resolução de problemas taxonômicos em Hippomaneae. Estudos futuros devem ser considerados para avaliar o posicionamento de *Stillingia peruviana*.

Dados sobre os laticíferos de *Sapium glandulosum* permitiram reavaliar a ocorrência de laticíferos articulados anastomosados em Hippomaneae e na subfamília Euphorbioideae além de permitir a distinção entre *S. glandulosum* de *S. haematospermum*.

O trabalho reforça a necessidade de estudos moleculares futuros na avaliação do posicionamento das espécies e a importância de estudos anatômicos e histoquímicos aplicado a taxonomia dos gêneros.