

KARINA LUCAS BARBOSA LOPES

**MORFOANATOMIA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE
Mandevilla atrovioacea (STADELM.) WOODSON
(APOCYNACEAE, APOCYNOIDAE) EM UM
AFLORAMENTO ROCHOSO NO PARQUE ESTADUAL
DA SERRA DO BRIGADEIRO – MG.**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

KARINA LUCAS BARBOSA LOPES

**MORFOANATOMIA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE
Mandevilla atrovioleacea (STADELM.) WOODSON
(APOCYNACEAE, APOCYNACEAE) EM UM
AFLOREAMENTO ROCHOSO NO PARQUE ESTADUAL
DA SERRA DO BRIGADEIRO – MG.**

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

APROVADA: 5 de março de 2007

Prof^ª. Aristéia Alves Azevedo
(Co-orientadora)

Prof^ª. Arlete Aparecida Soares
(Co-orientadora)

Prof. Fernando Henrique Aguiar Vale

Prof^ª. Luzimar Campos da Silva

Prof^ª. Renata Maria Strozi Alves Meira
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Depto. de Biologia Vegetal pela oportunidade da realização deste curso.

A CAPES pela bolsa concedida durante a realização do curso de Mestrado.

Ao IEF-MG pela licença para a execução do trabalho no PESB

A Deus por toda saúde, força e paz espiritual.

Aos meus pais queridos, por todo apoio, amor e compreensão. Muito obrigada pela realização dos meus sonhos, mesmo que muitas vezes por sacrifício dos seus.

Ao Luiz Carlos, por todo amor, carinho e compreensão.

Aos meus irmãos Karla, Karolina e Júnior e minha cunhada Yabetama, pelo incentivo, amizade e carinho, e a minha sobrinha Lara, pelos agradáveis momentos de descontração.

Aos meus familiares, em especial, ao tio Steves, tia Suzana, Fernanda e vó Elza.

À minha orientadora Renata Maria Strozi Alves Meira, pela orientação, pelo carinho e simpatia, por toda amizade e por ser um exemplo de profissional.

As minhas co-orientadoras Aristéa Alves Azevedo e Arlete Aparecida Soares, pela amizade, pelas sugestões e críticas no decorrer do trabalho.

À Banca examinadora, pelas valiosas sugestões.

À Luiza Sumiko Kinoshita, pela identificação do material botânico.

À Gilmar Valente, pelas fotos no campo.

Aos meus amigos de turma: Jaqueline, Débora, Fernanda, Cléber e Flávia pelos momentos agradáveis que passamos juntos.

Aos colegas de laboratório: Bruno, Cléber, Cláudio, Cristina, Diego, Diogo, Flávia, Jaqueline, Josiane, Kellen, Lourdes, Marina e Marcela.

À Marcela Thadeo, pela ajuda na histoquímica do trabalho e pelas inúmeras ajudas no laboratório.

À Vânia Maria Valente, pelo auxílio técnico no laboratório.

E a todos que, direta ou indiretamente, incentivaram e colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

KARINA LUCAS BARBOSA LOPES, filha de José Carlos Lopes da Silva e Sandra Lucas Barbosa Lopes, nasceu no dia 03 de julho de 1980, em Fortaleza-Ceará.

Em Julho de 2004, graduou-se em Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Em Fevereiro de 2005, iniciou o curso de Mestrado em Botânica na Universidade Federal de Viçosa (UFV) – MG.

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	04

CAPÍTULO I

Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Mandevilla atrovioleacea* (Apocynaceae, Apocynoideae) em um afloramento rochoso no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro – MG.

RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	09
INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	24
CONCLUSÕES.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

CAPÍTULO II

Laticíferos articulados nos órgãos vegetativos de *Mandevilla atrovioleacea* (Apocynaceae, Apocynoideae)

RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	33
INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAL E MÉTODOS.....	36
RESULTADOS.....	38
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

RESUMO

LOPES, Karina Lucas Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2007. **Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Mandevilla atroviolacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae) em um afloramento rochoso no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro – MG.** Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-Orientadoras: Aristéa Alves Azevedo e Arlete Aparecida Soares.

Mandevilla atroviolacea (Apocynaceae, Apocynoideae) é uma liana caracterizada pela presença de látex nos órgãos vegetativos, pelas flores vistosas e por sistema subterrâneo desenvolvido. No Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), *M. atroviolacea* ocorre de forma isolada ou formando populações de indivíduos em um afloramento rochoso a 1400m de altitude. Normalmente as plantas ocorrentes nesses locais apresentam adaptações à falta de água e à escassez de substrato. O trabalho teve como objetivo caracterizar morfo-anatomicamente os órgãos vegetativos de *M. atroviolacea* ocorrente em um campo de altitude no (PESB), com ênfase na caracterização do sistema de laticíferos e do sistema subterrâneo, visando identificar estruturas que possam auxiliar na interpretação das estratégias adaptativas da espécie, bem como aquelas de valor taxonômico. Amostras de ápice caulinar e radicular, folha, caule e raízes tuberosas, bem como regiões do hipocótilo e do órgão tuberoso de plantas obtidas de indivíduos jovens e adultos foram coletados num afloramento rochoso do PESB. Posteriormente, essas amostras foram fixadas em glutaraldeído 2% em solução tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,0 de Sorenson, desidratadas em série etílica e incluídas em historresina. Foram realizadas secções com auxílio de micrótomo rotatório, entre 7-10µm de espessura, os cortes corados com azul de toluidina em pH ácido e as lâminas montadas com resina sintética. Testes histoquímicos foram realizados em amostras frescas de folhas, caules e raízes, seccionadas em micrótomo de mesa e as lâminas montadas com glicerina 50%. O sistema subterrâneo de *M. atroviolacea* corresponde a um xilopódio na porção proximal com auto-enxertia de ramos e elevada capacidade gemífera e na porção distal um órgão tuberoso de origem caulinar, associado às raízes laterais tuberosas. Nestas, ocorre proliferação das células parenquimáticas corticais e daquelas do floema secundário, formando um tecido relacionado à reserva de água (são raízes

suculentas) e de substâncias, principalmente o amido. Os laticíferos de *M. atrovioacea* são do tipo articulado anastomosado; se originam da atividade do meristema fundamental e/ou do procâmbio e já se encontram em fase secretora desde a sua formação na região meristemática. Nas raízes tuberosas, os laticíferos são originados a partir da atividade do câmbio e/ou felogênio e da desdiferenciação de células parenquimáticas do córtex. A parede dos laticíferos é mais espessa que a das células adjacentes, sendo exclusivamente primária e pectocelulósica. A secreção dos laticíferos contém uma emulsão de substâncias lipofílicas, rica em lipídios neutros, óleo-resinas e borracha. O elevado potencial gemífero e o acúmulo de água e de substâncias de reserva observados no sistema subterrâneo de *M. atrovioacea*, bem como a presença do látex nos órgãos vegetativos atuando na proteção contra patógenos e herbívoros, representam importantes estratégias para a sobrevivência da espécie às condições adversas as quais está submetida.

ABSTRACT

LOPES, Karina Lucas Barbosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2007. **Morphoanatomy of vegetative organs of *Mandevilla atroviolacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae) of on rock outcrops in the Serra do Brigadeiro State Park – MG.** Adviser: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-Advisers: Aristéa Alves Azevedo e Arlete Aparecida Soares.

Mandevilla atroviolacea (Apocynaceae, Apocynoideae) is a vine species characterized by the presence of latex in the vegetative organs, stunning flowers and well-developed underground system. In the Serra do Brigadeiro State Park - MG (PESB), *M. atroviolacea* occurs in an isolated or forming population of individuals on rock outcrops at 1400m of altitude. Plants occurring in these environments usually show adaptations to water and substratum shortage. The objective of this work was the morpho-anatomical characterization of vegetative organs of *M. atroviolacea* occurring in an altitude field of the PESB, emphasizing the characterization of the laticiferous and underground systems, in order to identify structures that can assist the interpretation of adaptative strategies, as well as those of taxonomic value. Samples of stem and root apexes, leaves, stems and tuberous roots, as well as parts of hypocotyls and tuberous organs from young and adult plants were collected from a rock outcrop in the PESB. These samples were then fixed with 2% glutaraldehyde in 0.1 M Sorenson's sodium phosphate buffer, pH 7, dehydrated with an ethanol series and embedded in historesin. Sections (7-10mm thick) were made with a rotative microtome, stained with Toluidine Blue in acid pH and slides were mounted in synthetic resin. Histochemical tests were carried out in samples of leaves, stems and roots, sectioned in a table microtome and the slides were mounted in 50% glycerin. The underground system of *M. atroviolacea* corresponds to a xylopodium in the proximal portion with self-grafting of shoots and high shoot-forming capacity, and in the distal portion a tuberous organ of stem origin, associated with tuberous lateral roots. In these roots, there is proliferation of cortical parenchyma cells and secondary phloem, forming a tissue related with storage of water (succulent roots) and reserve substances, mainly starch. *M. atroviolacea* has articulated anastomosing laticifers originated from the activity of the primary meristem and/or the procambium that show secretory activity early in their formation in the meristematic region. In

tuberous roots, the laticifers are originated from the activity of the cambium and/or phellogen and dedifferentiation of cortex parenchyma cells. The laticifers present exclusively primary pectocellulose walls thicker than the adjacent cell walls. The laticifer secretion contains an emulsion of lipophilic substances, rich in neutral lipids, oil-resins and rubber. The high shoot-forming potential and storage of water and reserve substances of the *M. atrovioacea* underground system, as well as the presence of latex in vegetative organs conferring protection against pathogens and herbivores, represent important strategies for the species survival in these adverse conditions.

INTRODUÇÃO GERAL

Segundo a delimitação taxonômica vigente (Endress & Bruyns 2000), a família Apocynaceae consiste de 424 gêneros distribuídos em cinco subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae. Possui 3700 espécies inseridas em 355 gêneros (Judd *et al.* 1999), sendo no Brasil representada por cerca de 41 gêneros e 376 espécies (Barroso 1991). Espécies de Apocynaceae desenvolvem-se em vários habitats, desde florestas tropicais úmidas até regiões semi-áridas; ao nível do mar e em topos de montanha, em solos secos, afloramentos rochosos, áreas inundadas e algumas vezes nas margens dos rios (Rapini 2004).

Dentre os caracteres anatômicos presentes na família, a presença de laticíferos nos órgãos vegetativos e reprodutivos e floema intraxilemático são constantes (Judd *et al.* 1999; Rapini 2004). Algumas espécies de Apocynaceae possuem importância econômica e/ou medicinal devido à presença de metabólitos secundários no látex, tais como alcalóides e borracha (Metcalf & Chalk 1950, Yoder & Mahlberg 1976), além de muitos membros da família apresentar natureza tóxica (Schvartsman 1979). Ao látex é ainda atribuída a importância de proteção contra herbivoria e selagem de ferimentos (Fahn 1979, 1990).

O gênero *Mandevilla* Lind. (Apocynaceae, Apocynoideae) é constituído de arbustos, lianas e ervas de ocorrência neotropical, compreendendo cerca de 120 espécies distribuídas do México à Argentina. No entanto, alguns representantes ocorrem em áreas subtropicais. A maior parte das espécies está na América do Sul, onde cerca de 90 foram descritas. *Mandevilla* é distinguível pela presença de coléteres que ocorrem ao longo da nervura mediana ou na base da lâmina foliar (Morales 1998). Muitas espécies de *Mandevilla*, tais como em *M. illustris*, *M. novocapitalis*, *M. spigeliiflora*, *M. tenuifolia* e *M. velutina*, apresentam xilopódios e raízes tuberosas (Simões 2000).

Mandevilla atrovioleacea (Stadelm) Woodson é uma liana caracterizada pela presença de látex nos órgãos vegetativos, pelas flores vistosas e por sistema subterrâneo desenvolvido (formado por xilopódio e raízes tuberosas). A espécie

ocorre no Sul e Sudeste do Brasil, especialmente na Floresta Atlântica de encosta, alcançando o interior a partir de matas de altitude; no estado de Minas Gerais também ocorre em afloramentos rochosos (Simões & Kinoshita 2002). Na literatura, têm-se registros de sua ocorrência em áreas florestais e rupícolas, em altitudes acima de 1300m, na Serra de Bicas, município de Carrancas-MG (Simões & Kinoshita 2002).

No Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) foi encontrada uma população de *M. atrovioleacea* ocorrendo de forma isolada ou formando populações de indivíduos com flores vistosas em um afloramento rochoso a 1400m de altitude. O Parque (criado por meio do Decreto N° 38.319 de 27/07/1996) situa-se no Maciço Mantiqueira, entre os meridianos 42°20` e 42°40`S, estando inserido na Zona da Mata de Minas Gerais (Engevix 1995). Ocupa uma área de 13.210 ha, abrangendo oito municípios. O relevo e a altitude variam entre 1.000 e 1.995m, exercendo importante influência nas características climáticas do parque, amenizando as temperaturas e criando um clima tipicamente serrano nas regiões mais elevadas. O PESB representa uma das últimas áreas de Mata Atlântica em Minas Gerais, constituída por florestas de encosta (Floresta Estacional Semidecidual Montana) e Campos de Altitude (Costa *et al.* 1998).

Os campos de altitude são observados ocupando os platôs e as escarpas isoladas, em algumas áreas acima da cota de 1.600m, onde os afloramentos rochosos podem ser encontrados, com uma vegetação formada por mosaicos de arbustos e pequenas árvores, inseridas em uma matriz de touceiras de gramíneas, esparsas ervas e pteridófitas (Safford 1999). Os campos de altitude encontram-se em bom estado de conservação e representam cerca de 10% da vegetação da área do PESB (Paula 1998).

Nos afloramentos rochosos, em geral, as condições microclimáticas e pedológicas são peculiares. Normalmente as plantas ocorrentes nesses locais apresentam adaptações à falta de água e à escassez de substrato. As espécies características dos afloramentos rochosos do sudeste do Brasil exibem vários mecanismos de tolerância ou evitação da perda de água, incluindo a suculência, metabolismo ácido das crassuláceas (MAC), tolerância à dessecação, deciduidade, dormência e adoção de um ciclo de vida anual ou pseudoanual (Safford & Martinelli 2000).

Dentre alguns estudos realizados nos campos de altitude, destacam-se os realizados no PESB, sobre a composição florística (Caiafa & Silva 2005) e anatomia foliar e radicular de algumas espécies de Orchidaceae (Silva 2005) e Asteraceae (Smiljanic 2005).

Apesar do elevado número de espécies de *Mandevilla* e a diversidade de biomas em que ocorrem, os trabalhos sobre a morfo-anatomia de espécies do gênero são poucos. Destacam-se os estudos morfo-anatômicos dos órgãos vegetativos e subterrâneos realizados por Apezato-da-Glória (1988, 2003), Apezato-da-Glória *et al.* (1992) e Apezato-da-Glória & Estelita (1997, 2000) com *M. illustris* e *M. velutina*, no Cerrado, e em *M. tenuifolia* em afloramentos rochosos denominados *inselbergs*, na Caatinga (Costa 2002). Até o momento, não foram localizados estudos com abordagem anatômica dos órgãos vegetativos de *M. atrovioleacea*, especialmente do sistema subterrâneo. Desse modo, esses conhecimentos são relevantes, pois contribuem para a compreensão da estrutura e funcionamento das formações vegetacionais do PESB, área prioritária de conservação por possuir alta riqueza de espécies endêmicas da fauna e flora, além de representar uma das últimas áreas de mata atlântica em Minas Gerais.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo geral caracterizar morfo-anatomicamente os órgãos vegetativos de *M. atrovioleacea* ocorrente em um afloramento rochoso de um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), com ênfase no sistema de laticíferos e sistema subterrâneo, visando identificar estruturas que possam auxiliar na interpretação das estratégias adaptativas da espécie e ser útil como ferramenta para a taxonomia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPEZATO-DA-GLÓRIA, B. 1988. Desenvolvimento Anatômico e Propagação vegetativa de *Mandevilla velutina* var. *glabra* (Muell.-Arg.) Woodson-Apocynaceae. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 1997. Laticifers systems in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* Apocynaceae. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 66:301-306.
- APPEZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 2000. The development anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson and *M. Velutina* (Mart. ex. Stadelm.) Woodson (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23:27-35.
- APPEZATO-DA-GLÓRIA, B. 2003. Morfologia de Sistemas Subterrâneos- histórico e evolução do conhecimento no Brasil. A.S. Pinto, Ribeirão Preto.
- APPEZATO-DA-GLÓRIA, B. TEIXEIRA, M.E. & ESTELITA. 1992. Anatomia do sistema aéreo de *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. Gentry (Apocynaceae). *Hoehnea* 19:39-50.
- BARROSO, G. M. B. 1991. Sistemática de Angiospermas do Brasil. UFV, Viçosa.
- CAIAFA, A. N. & SILVA, A.F. da 2005. Composição florística e espectro biológico de um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais – Brasil. *Rodriguésia* 56:163-173.
- COSTA, A.T.L. 2002. Adaptações Morfo-anatômicas da folha e do sistema subterrâneo de *Mandevilla tenuifolia* (Mikan) Woodson (Apocynaceae). Monografia de Graduação – Universidade Federal do Ceará, Ceará.
- COSTA, C.M.R., HERMANN, G., MARTINS, P.S., LINS, L.V. & LAMAS, I.R. 1998. Biodiversidade em Minas Gerais. Um Atlas para sua Conservação. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte.
- ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. *The Botanical Review* 66:1-56.
- ENGEVIX.1995. Caracterização do Meio Físico da Área Autorizada para a criação do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro- Relatório técnico final dos estudos-8296-RE-H4-003/94 “VER”. 1. Instituto Estadual da Floresta, BIRD/PRÓ-FLORESTA/ SEPLAN.

- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- FAHN, A. 1990. Plant Anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- JUDD, W.S., CHRISTOPHER, S.C., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. Sinauer Associates, Sunderland (USA).
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. v. 2, Clarendon Press, Oxford.
- MORALES, J.F. 1998. A synopsis of the genus *Mandevilla* (Apocynaceae) in Mexico and Central America. *Brittonia* 50:214-232.
- PAULA, C.C. 1998. Florística da Família Bromeliaceae no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG-Brasil. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP.
- RAPINI, A. 2004. Apocynaceae: Dogbane or Milkweed family. In: SMITH, N. *et al.* Flowerings Plants of the neotropics. Princeton University Press, Oxford.
- SAFFORD, H.D. & MARTINELLI, G. 2000. Southeast Brazil. In: Inselbergs: Biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions. Springer, Alemanha.
- SAFFORD, H.D. 1999. Brazilian Páramos I: An introduction to the physical environment and vegetation of the campos de altitude. *Journal of Biogeography* 26:693-712.
- SCHVARTSMAN, S. 1979. Plantas Venenosas. Sarvier, São Paulo.
- SILVA, I.V. 2005. Anatomia Foliar e Radicular de Espécies de Orchidaceae de um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (MG). Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- SIMÕES, A.O. 2000. As Apocynaceae *s.str.* da região de Carrancas, MG. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- SIMÕES, A.O. & KINOSHITA, L.S. 2002. The Apocynaceae of the Carrancas region, Minas Gerais, Brazil. *Darwiniana* 40:127-169.
- SMILJANIC, K.B.A. 2005. Anatomia Foliar de Espécies de Asteraceae de um Afloramento Rochoso no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (MG). Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

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.

CAPÍTULO I

Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Mandevilla atrovioleacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae) em um afloramento rochoso no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro – MG

RESUMO

Os sistemas subterrâneos das plantas apresentam as mais diversas estruturas que permitem a sobrevivência em condições desfavoráveis do ambiente, tais como secas prolongadas e queimadas, através do armazenamento de água, substâncias de reserva e estruturas de propagação vegetativa. O objetivo do trabalho foi fornecer informações sobre a morfo-anatomia do sistema subterrâneo de *Mandevilla atrovioleacea* que possam auxiliar na interpretação das estratégias adaptativas da espécie. Amostras do hipocótilo e de regiões do órgão tuberoso, obtido de plantas jovens e adultas coletadas em campo foram seccionadas, fixadas em glutaraldeído 2% em solução tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,0 de Sorenson, desidratadas em série etílica e incluídas em historresina. Secções realizadas com auxílio de micrótomo rotativo, entre 7-10µm de espessura, foram coradas com azul de toluidina em pH ácido e montadas com resina sintética. Testes histoquímicos foram realizados em amostras de raízes tuberosas de plantas adultas, seccionadas em micrótomo de mesa e montadas com glicerina 50%. A presença de lipídios totais foi evidenciada pela utilização de sudan vermelho escarlate; amido por lugol; mucilagem por vermelho de rutênio; compostos fenólicos gerais por dicromato de potássio. O sistema subterrâneo de *M. atrovioleacea* corresponde a um xilopódio na porção proximal com auto-enxertia de ramos e elevada capacidade gemífera e na porção distal a um órgão tuberoso de origem caulinar, associado às raízes laterais tuberosas. Nestas, ocorre proliferação das células parenquimáticas corticais e do floema secundário, relacionado à reserva de água (são raízes suculentas) e de substâncias, principalmente o amido. O elevado potencial gemífero, o acúmulo de água e de substâncias de reserva observados no sistema subterrâneo de *M. atrovioleacea* representa caracteres

relevantes como estratégia para a sobrevivência da espécie às condições adversas as quais está submetida.

ABSTRACT

The underground systems of plants show the most varied structures adapted to survival in unfavorable environmental conditions, such as long-term droughts and burnings, by storing water and reserve substances and as vegetative structures. The objective of this work was to provide information on the morpho-anatomy of the underground system of *Mandevilla atroviolacea* that can assist in the interpretation of adaptive strategies in species. Hypocotyl and tuberous organ samples obtained from young and adult plants collected in field were sectioned, fixed with 2% glutaraldehyde in 0.1 M Sorenson's sodium phosphate buffer, pH 7, dehydrated with an ethanol series and embedded in historesin. Sections (7-10mm thick) were made with a rotative microtome, stained with Toluidine Blue in acid pH and mounted in synthetic resin. Histochemical tests were carried out in samples of tuberous roots from adult plants, sectioned in a table microtome and mounted in 50% glycerin. Presence of total lipids was revealed by staining with scarlet red sudan (Johansen 1940); starch by Lugol (Jensen 1962); mucilage by ruthenium red (Johansen 1940); general phenolic compounds by potassium dichromate (Gabe 1968). The underground system of *M. atroviolacea* corresponds to a xylopodium in the proximal portion with self-grafting of shoots and high shoot-forming capacity, and in the distal portion a tuberous organ of stem origin, associated with tuberous lateral roots. The roots show proliferation of cortical parenchyma cells and secondary phloem, which is related to storage of water (succulent roots) and substances, mainly starch. The high shoot-forming potential and storage of water and reserve substances observed in the underground system of *M. atroviolacea* are important strategies for the species survival in these adverse conditions.

INTRODUÇÃO

Em algumas formações vegetais brasileiras, principalmente nos cerrados, caatingas e nos campos rupestres, ocorrem plantas com sistemas subterrâneos espessados (Menezes *et al.* 1979). Estes apresentam as mais diversas formas e se constituem em notáveis adaptações às condições ambientais (Paviani & Haridasan 1988). Dentre as estruturas subterrâneas encontradas no cerrado e afloramentos rochosos (campos de altitude e campos rupestres), podemos citar os xilopódios, as raízes gemíferas, as raízes tuberosas, os sóboles e os rizóforos (Rizzini & Heringer 1961, 1962, 1966; Paviani 1977, 1978, 1987; Menezes *et al.* 1979; Sajo & Menezes 1986a, b; Dietrich & Figueiredo - Ribeiro 1985; Appezzato-da-Glória & Estelita 1995, 2000). Estas estruturas subterrâneas capacitam à sobrevivência das plantas em condições desfavoráveis, tais como altas temperaturas (Rawistcher & Rachid 1946) e secas prolongadas (Rizzini 1965), através do armazenamento de água e substâncias de reserva (Rizzini & Heringer 1966; Figueiredo-Ribeiro *et al.* 1986) e como estruturas de propagação vegetativa (Rizzini & Heringer 1966).

Em geral, produtos estocados como a água, lipídios, carboidratos, proteínas e compostos nitrogenados são periodicamente acumulados em resposta às condições ambientais ou estados fisiológicos característicos de cada espécie (Figueiredo-Ribeiro *et al.* 1986).

A respeito dos xilopódios, trata-se de um órgão lenhoso, perene, gemífero, formado pela tuberização do hipocótilo ou deste juntamente com a porção superior da raiz primária. Sobrevive às estações secas e rebrota no início das estações chuvosas, a partir dos restos de ramos persistentes da porção superior do órgão, se a parte aérea for eliminada durante o período da seca (Rizzini 1965).

Os estudos com ontogênese dos xilopódios permitiram verificar que existe um padrão de formação inicial destas estruturas e que este processo relaciona-se à complexidade estrutural dos xilopódios (Appezzato-da-Glória 2003). Em *Brasilia sickii* (Asteraceae), o sistema subterrâneo pode ser considerado como uma unidade morfológica, mas não anatômica; sendo a estrutura anatômica radicular em xilopódios novos, mas apresentando-se caular em xilopódios adultos (Paviani 1977, 1978); em *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Apocynaceae), o processo de formação do

xilopódio é similar. Tanto nestas espécies citadas como em *Pachyrhizus ahipa* (Fabaceae), o sistema subterrâneo se constitui por um xilopódio gemífero sob o qual ocorre a raiz tuberosa (Milanez & Moraes-Dallaqua 2003).

O xilopódio, em geral, possui mais de um eixo de simetria devido ao processo de auto-enxertia natural da base dos ramos aéreos (Appezato-da-Glória 2003). Tal processo pode ser verificado em *Brasilia sickii* (Paviani 1977), *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezato-da-Glória & Estelita 2000), *Calea verticillata* e *Isostigma megapotamicum* (Vilhalva & Appezato-da-Glória 2006).

Já as raízes tuberosas são órgãos de consistência macia e succulenta, com predominância de parênquima de armazenamento; não raramente suprido de amido e água; basicamente um produto do crescimento secundário da raiz primária (Rizzini & Heringer 1961).

Um dos aspectos pouco explorado pelos pesquisadores trata-se da natureza dos sistemas subterrâneos, tanto em relação aos estudos organográficos como anatômicos (Andreata & Menezes 1999). Em geral, as observações morfológicas externas utilizadas para a classificação de tais sistemas não são esclarecedoras, além de existir uma ampla variedade de termos para designar as estruturas subterrâneas (Hayashi 2003). Os sistemas subterrâneos possuem diferentes características morfo-anatômicas e vasta complexidade estrutural (origem radicular, caulinar ou mista), e, em consequência, apenas observações baseadas na morfologia externa são insuficientes, fazendo-se necessários estudos anatômicos para caracterização adequada do órgão.

Os campos de altitude são observados ocupando os platôs e as escarpas isoladas, em áreas acima da cota de 1.600m, onde os afloramentos rochosos podem ser encontrados, com uma vegetação formada por mosaicos de arbustos e pequenas árvores, inseridas em uma matriz de touceiras de gramíneas, esparsas ervas e pteridófitas (Safford 1999). Apesar dos campos de altitude serem comuns nas paisagens do sudeste brasileiro (Caiafa & Silva 2005), com a vegetação exibindo vários mecanismos ecofisiológicos, tais como, succulência, metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), tolerância à dessecação, deciduidade, dormência e adoção de um ciclo de vida anual ou pseudoanual (Safford & Martinelli 2000), estudos sobre a

morfo-anatomia dos sistemas subterrâneos de espécies nativas destes ambientes são escassos. Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo fornecer informações sobre a morfo-anatomia do sistema subterrâneo de *Mandevilla atrovioleacea* (Apocynaceae) ocorrente no PESB, visando identificar estruturas que possam auxiliar na interpretação das estratégias adaptativas da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico e caracterização da área de coleta

Espécimes jovens e adultos de *Mandevilla atrovioleacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae) foram coletadas em um afloramento rochoso de um campo de altitude localizado na região denominada, pela população local, de “**totem deitado**” (20°42' 21,1" S 42°28' 46,8" W, 1.514m de altitude). Esse local se constitui em uma das três subserras (“cabeça de elefante”, “cabeça de mamute” e “**totem deitado**”) cujo conjunto é denominado de Serra das Cabeças, do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro-MG.

O clima da região é mesotérmico, onde os verões são brandos até quentes e úmidos. O regime pluviométrico é caracterizado por um período chuvoso, durante os meses de novembro a março, e por um período seco, de abril a outubro. A precipitação média anual varia em torno de 1.300 mm (Engevix 1995).

Expedições mensais (Fevereiro a Dezembro de 2006) foram realizadas para coletas de materiais vegetativos (folhas, caules, raízes tuberosas) e reprodutivos (sementes), bem como para o acompanhamento da população de *M. atrovioleacea*.

Ramos férteis foram herborizados e a excicata (VIC 27.620) depositada no herbário da Universidade Federal de Viçosa, tendo sido a sua identidade confirmada por especialista.

Avaliação morfológica

Para a investigação da morfologia do sistema subterrâneo, plantas jovens e adultas foram analisadas quanto aos seguintes aspectos: presença de protuberâncias (as quais podem estar associadas à saída de raízes laterais ou gemas), textura, suculência, rigidez e formato dos órgãos. Foi anotada a orientação dos órgãos, profundidade alcançada pelas raízes e presença/ausência de parte aérea. Todas as informações foram registradas em fotografias digitalizadas.

Avaliação anatômica

Cerca de 60 sementes provenientes do campo (no período de junho) foram previamente desinfetadas em hipoclorito de sódio a 20% da solução comercial, lavadas em água corrente e, posteriormente colocadas em caixas "gerbox" sobre papel de filtro umedecido com água destilada, a 30°C, sob iluminação fluorescente branca contínua. As plântulas, sete dias após a germinação, foram transplantadas para vasos contendo uma mistura de terra (proveniente do local da coleta) e areia (2:1), sendo mantidas em casa de vegetação e regadas diariamente com água.

Para o estudo anatômico do sistema subterrâneo, foram retiradas amostras do hipocótilo e do órgão tuberoso, em diferentes fases do desenvolvimento, das plântulas (com dois meses) obtidas no experimento de germinação das sementes e de plantas jovens e adultas coletadas em campo. Os materiais foram fixados em solução de glutaraldeído 2% em tampão fosfato de sódio de Sorenson 0,1 M pH 7,0 (Gabriel 1982), desidratados em série etílica e incluídos em historresina (Historesin Leica). Cortes transversais e longitudinais seriados, de 7-10 µm de espessura, foram obtidos com auxílio de micrótomo rotativo com avanço automático (RM-2155 Leica). Os cortes foram corados com azul de toluidina em pH ácido (O'Brien e McCully 1981) e as lâminas montadas com resina sintética (Permout).

Testes histoquímicos foram realizados em secções frescas de raízes tuberosas de plantas adultas, obtidas em micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA) e as lâminas montadas com glicerina 50%. A presença de lipídios totais foi evidenciada por sudan vermelho escarlata (Johansen 1940); amido por Lugol (Jensen 1962); mucilagem por vermelho de rutênio (Johansen 1940); compostos fenólicos gerais por dicromato de potássio (Gabe 1968). As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical) equipado com sistema U-Photo.

RESULTADOS

Caracterização morfológica do sistema subterrâneo

No afloramento rochoso (figura 1), o sistema subterrâneo de *M. atrovioacea* é orientado verticalmente e atinge aproximadamente 30 cm de profundidade. Entretanto, devido ao pouco substrato presente, muitos indivíduos crescem horizontalmente sobre a rocha, sem o aprofundamento do sistema subterrâneo (figura 2,3).

O sistema subterrâneo de *M. atrovioacea* consiste de três porções (figura 4): um xilopódio, que se caracteriza como uma porção superior cilíndrica, lenhosa e lignificada, situada superficialmente no solo e da qual surgem novos ramos (figura 5), uma porção inferior tuberosa de origem caulinar (figura 4) e uma porção formada por raízes laterais tuberosas (figura 4).

As raízes laterais tuberosas correspondem a grande parte do sistema subterrâneo (figura 4), sendo inicialmente fusiformes, adquirindo formas irregulares e variáveis na maturidade. Apresentam uma superfície irregular devido a protuberâncias semelhantes a calos (figura 6). Destas raízes tuberosas partem várias raízes delgadas não tuberizadas relacionadas à absorção.

Caracterização anatômica da raiz primária e desenvolvimento do órgão subterrâneo tuberoso

O processo de tuberização, que ocorre através do intumescimento do hipocótilo, ocorre cedo no desenvolvimento do sistema subterrâneo, como pode ser observado em uma planta com 2 meses obtida a partir da germinação da semente (figura 7).

A raiz em estrutura primária (figura 8) é revestida por epiderme unisseriada, cujas células têm paredes delgadas e no córtex ocorrem cerca de 7 camadas de parênquima formadas por células volumosas, vacuolizadas, com núcleo periférico e paredes delgadas. Neste estágio de desenvolvimento é comum observar a saída de

raízes laterais (figura 9). O cilindro vascular é formado por cordões de floema que se alternam com os pólos de protoxilema em estrutura geralmente tetraarca (figuras 8, 11), mas ocasionalmente poliarca em estádios mais avançados de desenvolvimento. No centro destas raízes forma-se uma medula parenquimática cujas células são volumosas, vacuolizadas, sendo também comum nesta região divisões celulares (figuras 11).

O início da formação do câmbio precede o desenvolvimento completo do xilema primário, como pode ser observado em detalhe na figura 11. Subseqüentes atividades cambiais produzem uma maior proporção de parênquima oriundo do floema secundário em relação ao xilema secundário. Em acomodação a larga circunferência do cilindro vascular, as células do córtex se dividem anticlinalmente e periclinalmente e posteriormente se expandem (figura 10). Nesta mesma região, é possível observar que as células corticais mais externas se dividem periclinalmente formando camadas adicionais ao tecido de revestimento (figura 12).

Em estágios mais avançados do desenvolvimento do sistema subterrâneo, de uma planta obtida em campo (figura 13), observa-se que a porção superior do órgão corresponde ao xilopódio, (figura 13) com predominante estrutura caulinar (figura 14). A auto-enxertia natural de ramos pode ser observada na porção proximal do xilopódio (figura 15), resultado da produção periódica de novos ramos durante as estações favoráveis. Assim, o xilopódio é caracterizado por mais de um eixo de simetria. Ainda na região do xilopódio, verifica-se a presença de gema (figura 16) cuja origem é exógena, sendo formada a partir do parênquima periférico.

As análises anatômicas de secções inferiores do órgão tuberoso revelam que se trata de um sistema subterrâneo caulinar (figura 17, secções 1,2,3), pois no centro da estrutura observa-se o xilema primário com maturação centrífuga (figuras 19, 21). O desenvolvimento e intumescimento do órgão resultam da atividade contínua do câmbio vascular, bem como de uma produção não usual do parênquima do raio e da medula (18). Observa-se inicialmente uma predominância de divisões anticlinais das células do raio, que alongam e expandem em direção a medula (18). Nesta, as divisões ocorrem tanto anticlinalmente como periclinalmente, ampliando o diâmetro do órgão (18). Como resultado desses eventos, ocorre a fragmentação do cilindro

vascular (20) com posterior isolamento das unidades vasculares (21). Nesse órgão tuberoso, observa-se a saída de raízes adventícias (figura 22).

Desenvolvimento das raízes tuberosas laterais

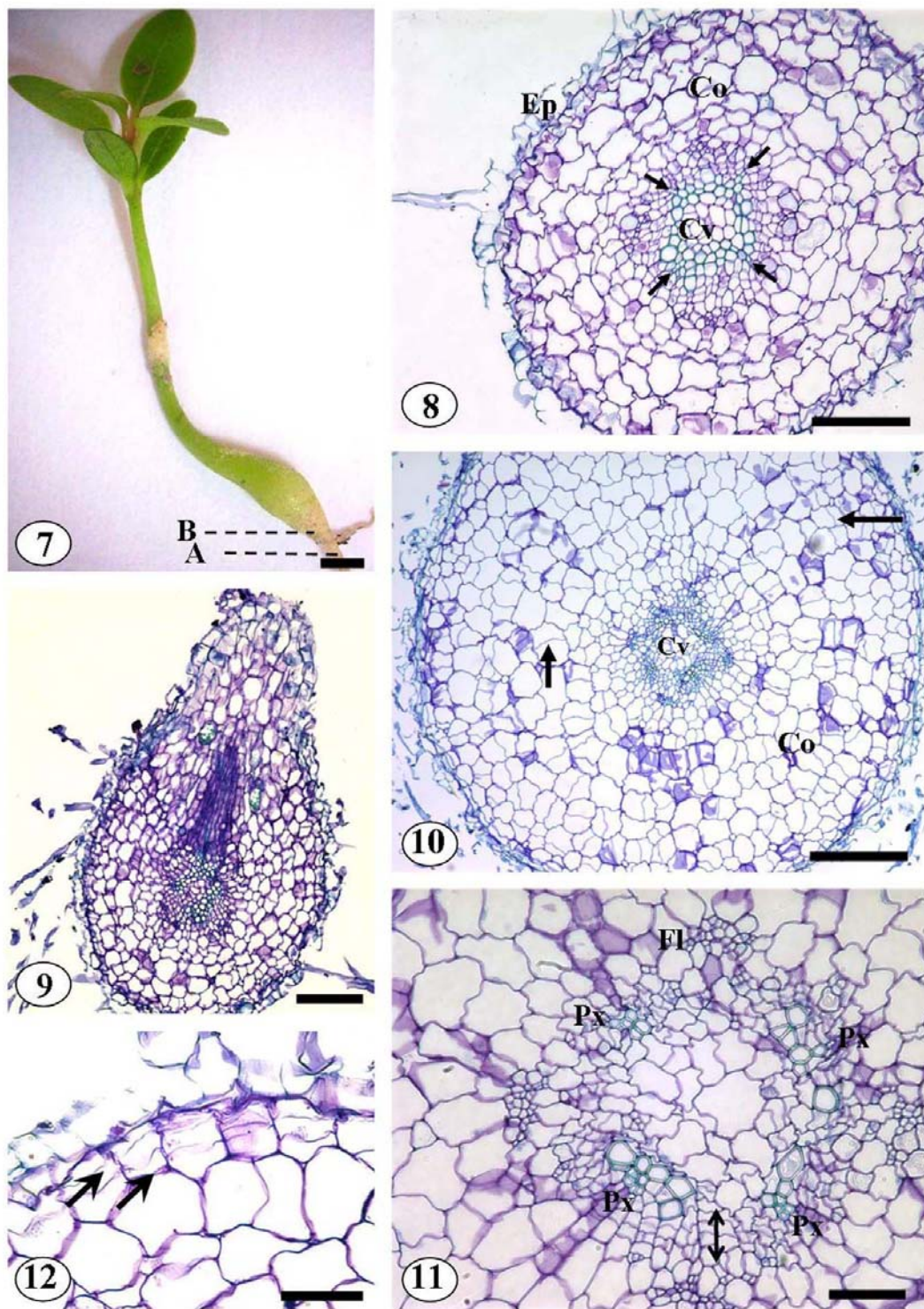
Em cortes transversais de raízes laterais em diferentes estádios de desenvolvimento, (figuras 23-26) observa-se a periderme como um tecido de revestimento (figura 26), produzida pelo felogênio a partir de camadas mais externas do córtex. O intumescimento das raízes (figuras 23-26) decorre principalmente da divisão e expansão das células parenquimáticas corticais e como contribuição daquelas do floema secundário, originadas de um câmbio vascular típico. Em raízes mais intumescidas, verifica-se uma desproporcional produção de células parenquimáticas corticais em relação ao tecido vascular secundário (figura 27). Estas células parenquimáticas formam um tecido de reserva (amido) e de água. Idioblastos contendo compostos fenólicos foram encontrados com frequência no córtex (figuras 27, 28, 29). No floema secundário, os raios parenquimáticos são evidentes (figura 28). Idioblastos cristalíferos estão associados ao parênquima do floema, aparecendo isolados ou em série. Internamente, encontra-se o xilema secundário, com raios parenquimáticos (figura 28) associados à reserva de amido.

Protusões ou calos estão presentes na superfície das raízes tuberosas, sendo delimitada externamente pela periderme (figura 29). O início da formação do calo foi observado nas raízes tuberosas mais jovens, pela divisão das células corticais mais externas, que se avolumam em direção a periferia do órgão. Na raiz adulta, estas células estão ordenadas em fileiras radiais sendo delimitadas externamente pela periderme e internamente pelo parênquima cortical (figura 29). Algumas células parenquimáticas do calo contêm compostos fenólicos e cristais (figura 29). A presença do calo pode estar associada à saída de raízes laterais.

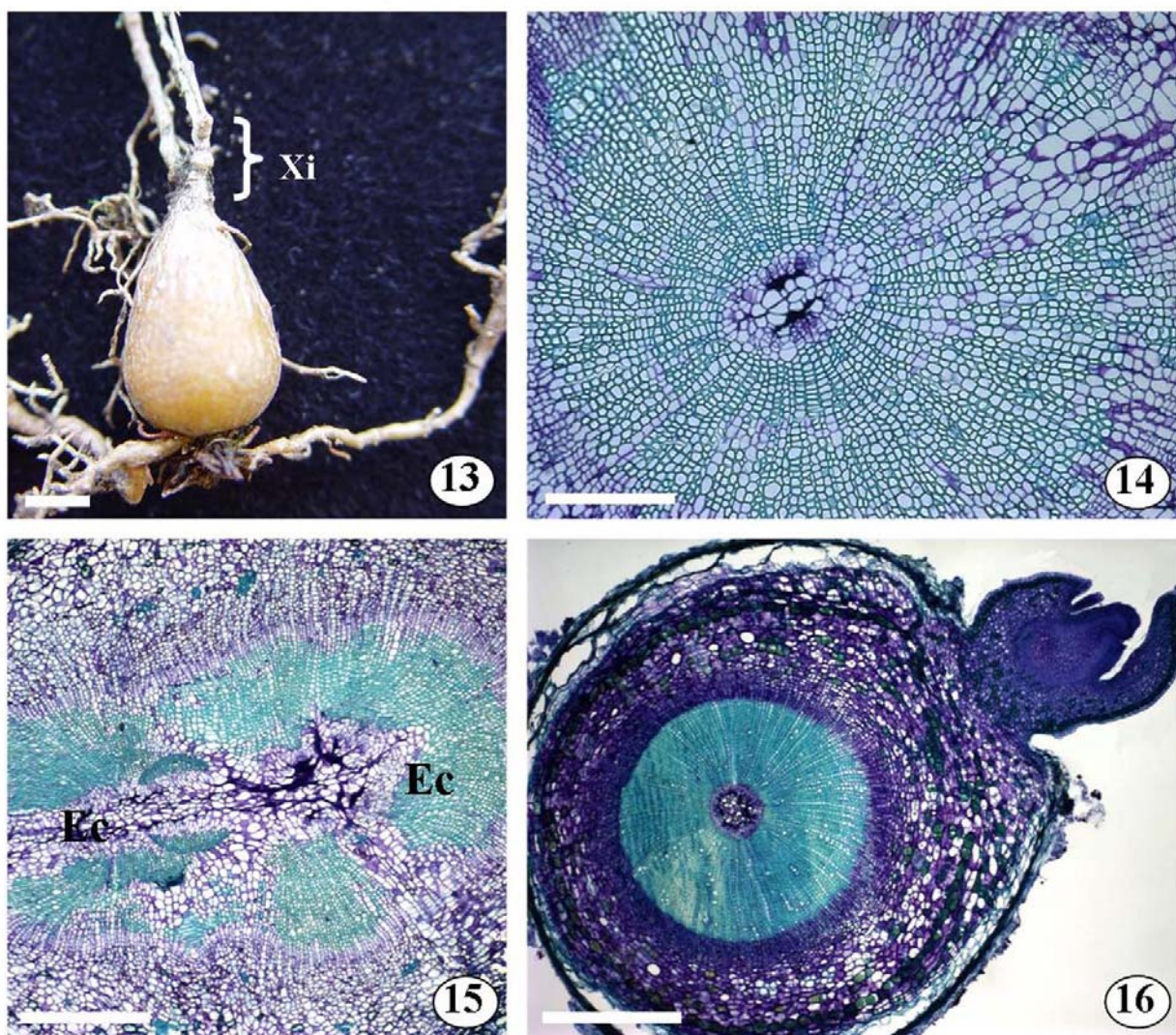
Laticíferos são observados em todos os estádios de desenvolvimento da raiz tuberosa, sendo nas mais jovens distribuídos predominante nas proximidades do floema secundário e no córtex, enquanto naquelas de maior diâmetro, estas estruturas se concentram na periferia do córtex (figura 30), formando longas fileiras paralelas ao tecido de revestimento.



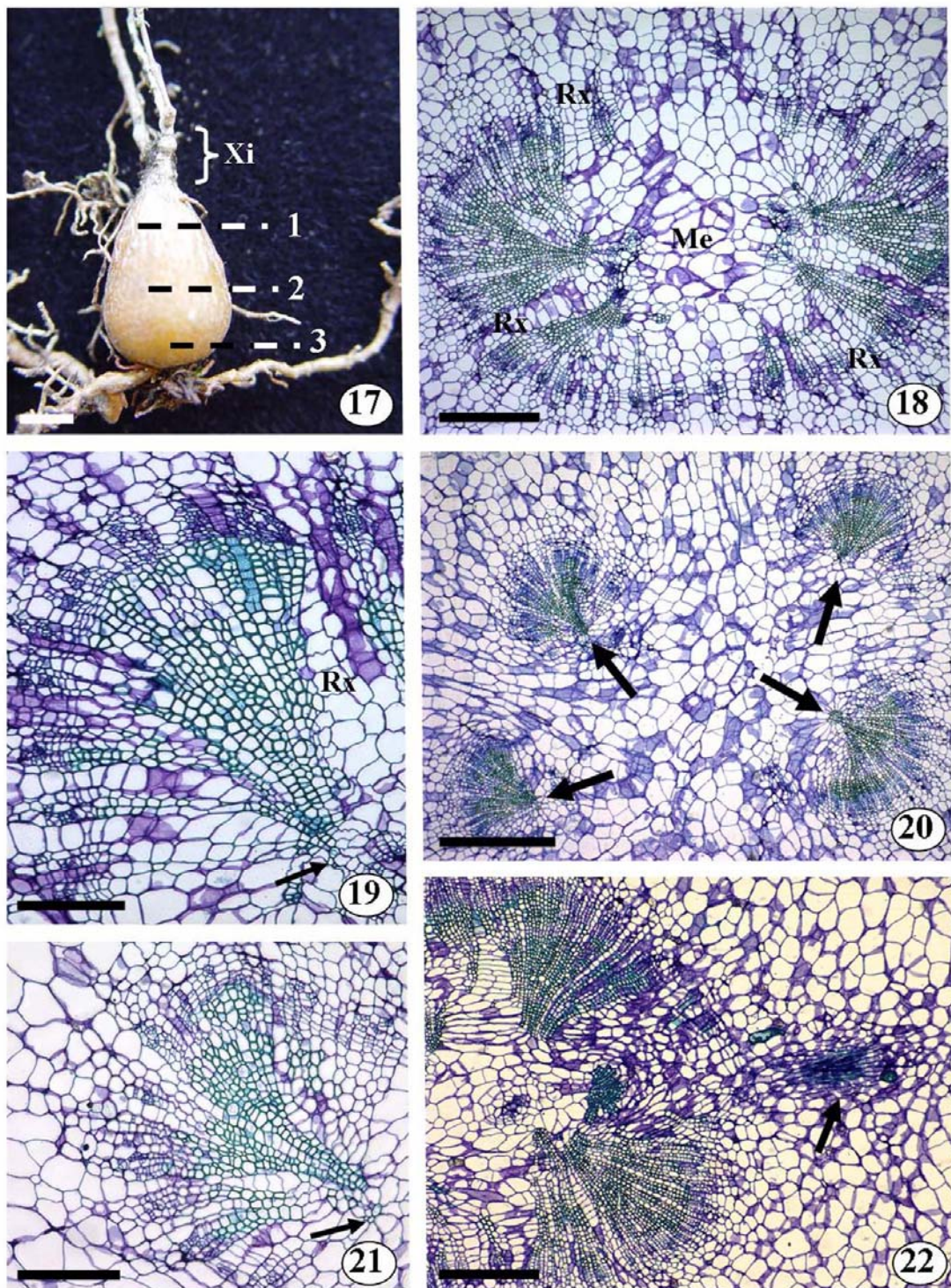
Figura 1. Vista geral do afloramento rochoso estudado no PESB. Figuras 2-6. Sistema subterrâneo de *Mandevilla atrovioacea*. 2. Sistema subterrâneo adulto crescendo sobre a rocha, sem o aprofundamento do sistema subterrâneo (substrato foi removido) (figura 2,3). 3. Detalhe das raízes tuberosas. 4. Aspecto geral, mostrando xilopódio (Xi), órgão tuberoso (seta dupla) e raízes tuberosas (Rt). 5. detalhe da gema na região do xilopódio. 6. Vista frontal das protuberâncias (seta) na raiz tuberosa. Barras= 13 cm (2), 6 cm (3), 0,75 cm (4), 0,5 cm (5), 1,35 cm (6).



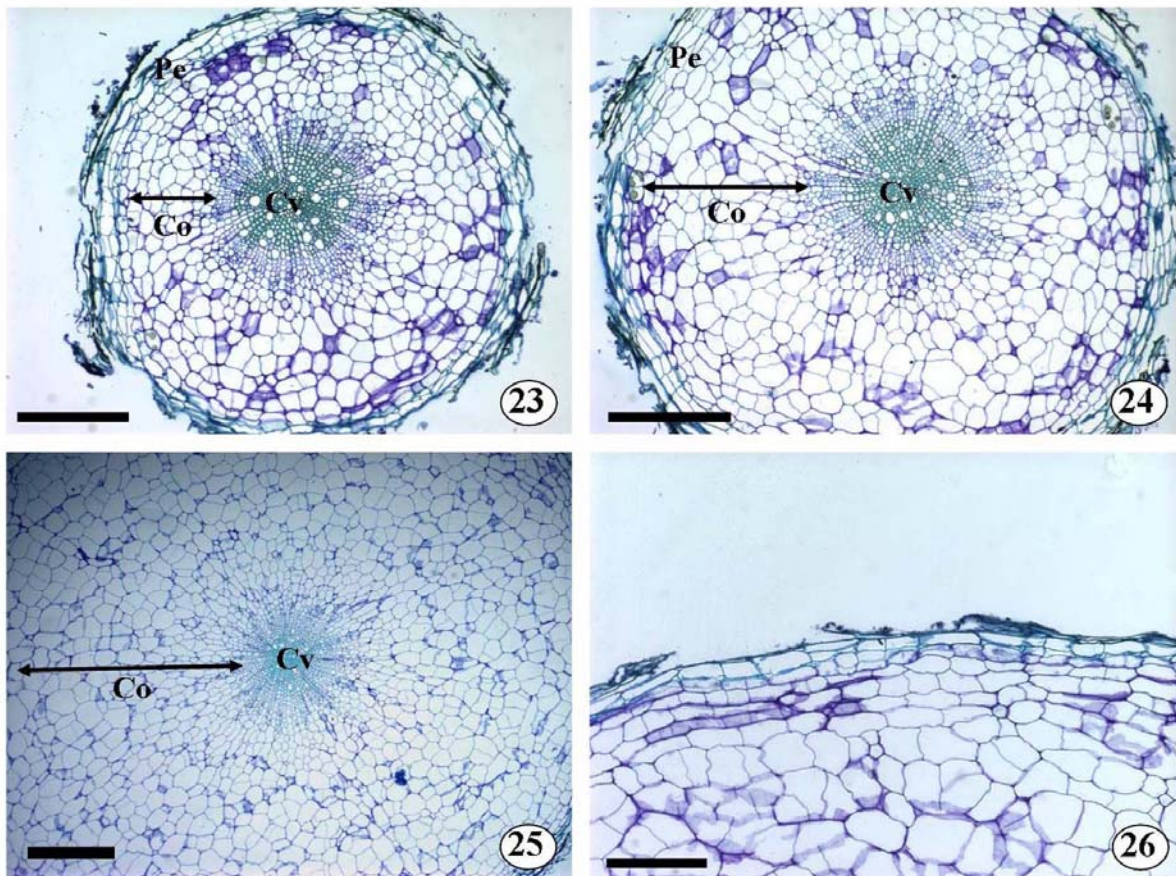
Figuras 7-12. Sistema subterrâneo de *Mandevilla atrovioleacea*. 7. Vista geral de uma planta com 2 meses. As letras A e B indicam as regiões analisadas anatomicamente. 8. Diferenciação da raiz primária (região A) evidenciando epiderme, córtex, cilindro vascular (seta= protoxilema). 9. Emergência de uma raiz lateral. 10. Região B, divisões anticlinais e periclinais (seta) ocorrentes no parênquima cortical. 11. Detalhe da figura anterior evidenciando raiz tetrarca e início da instalação cambial (seta dupla). 12. Detalhe das células parenquimáticas mais externas em divisão (seta) formando camadas adicionais ao tecido de revestimento. (Ep= epiderme; Co= córtex; Cv= cilindro vascular; Fl= floema; Px= protoxilema). Barras= 0,8 cm (7), 100µm (8), 140µm (9), 250µm (10), 52µm (11), 42µm (12).



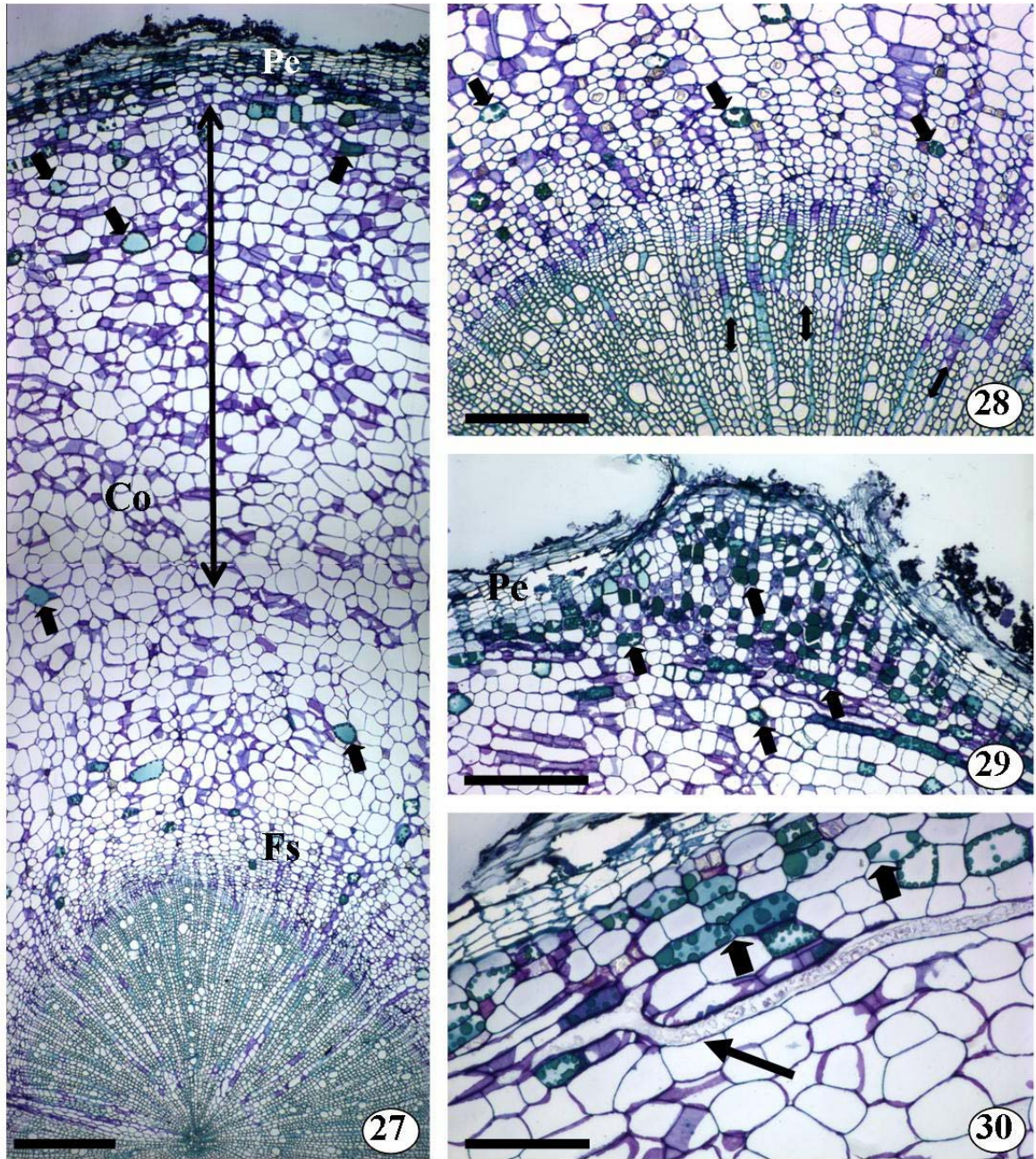
Figuras 13-16. 13. Xilopódio adulto (Xi) de *Mandevilla atrovioacea*. 14. Estrutura caular do xilopódio. 15. Eixos caulares (Ec) enxertados naturalmente. 16. Gema caular na região do xilopódio. Barras= 0,6cm (13), 180 μ m (14), 450 μ m (15), 600 μ m (16).



Figuras 17-22. Sistema subterrâneo adulto de *Mandevilla atrovilacea*. 17. Vista geral, eixo superior corresponde ao xilopódio (Xi) e o eixo inferior ao órgão tuberoso caulinar. Os números 1,2,3 indicam os planos de corte mostrados nas figuras 18, 20 e 22, respectivamente. 18. Cilindro vascular com proliferação anômala do parênquima do raio e da medula. 19. Detalhe da figura anterior (seta= protoxilema). 20. Fragmentação do cilindro vascular com o isolamento das unidades vasculares (seta). 21. Detalhe de uma unidade vascular (seta= protoxilema). 22. Detalhe da saída de raiz adventícia (Seta). (Me= medula; Rx= raio xilemático). Barras= 0,6 cm (17), 350µm (18), 150µm (19), 600µm (20), 170µm (21), 350µm (22).



Figuras 23-26. Secções transversais das raízes tuberosas laterais de *Mandevilla atrovioleacea*. 23,24,25. Notar o aumento na espessura do córtex (seta dupla), responsável pelo intumescimento da raiz. 26. Detalhe da figura anterior evidenciando a periderme. (Co=córtex; Cv= cilindro vascular; Pe= periderme). Barras= 280µm (23), 310µm (24), 430µm (25), 200µm (26).



Figuras 27-30. Raiz tuberosa lateral de *Mandevilla atrovioleacea*. 27. Córtex volumoso (seta dupla) cujas células parenquimáticas formam um tecido de reserva. 28. Detalhe dos raios do xilema (seta dupla). 29. Ao longo das raízes tuberosas ocorrem protusões semelhantes a calos. 30. Detalhe do laticífero na periferia do córtex (seta). (seta = idioblasto; Co= córtex; Fs= floema secundário; Pe= periderme). Barras= 500 μ m (27), 310 μ m (28), 410 μ m (29), 200 μ m (30).

DISCUSSÃO

Com base na literatura disponível sobre sistemas subterrâneos, a terminologia mais adequada para a caracterização morfo-anatômica do sistema subterrâneo gemífero de *M. atrovioleacea* é um xilopódio.

O xilopódio é essencialmente um órgão tuberoso-lignificado, gemífero, com anatomia complexa, podendo ser de origem caulinar, radicular ou misto (Rachid 1947; Rizzini & Heringer 1961, 1966; Paviani 1978; Appezzato-da-Glória & Estelita 2000). É formado pelo espessamento do hipocótilo e da raiz principal, e embora o caule seja muitas vezes citado como parte da estrutura do xilopódio, ele não está envolvido na sua ontogênese (Rizzini & Heringer 1961). Na espécie em estudo, o xilopódio é predominantemente caulinar, formado pelo espessamento do hipocótilo, como já relatado para outras duas espécies de *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezzato-da-Glória & Estelita 2000).

A complexidade estrutural dos xilopódios está relacionada ao processo natural de auto-enxertia dos ramos que surgem periodicamente durante as estações favoráveis (Paviani 1977). Esse processo de auto-enxertia pode ser verificado nos xilopódios adultos de *M. atrovioleacea*, bem como nos xilopódios de muitas plantas ocorrentes em Cerrado, tais como *Brasilia sickii* (Paviani 1977), *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezzato-da-Glória & Estelita 2000), *Calea verticillata* e *Isostigma megapotamicum* (Vilhalva & Appezzato-da-Glória 2006).

A capacidade gemífera é uma característica marcante dos xilopódios (Rizzini & Heringer 1961), funcionando como uma estratégia adaptativa das plantas aos períodos de déficit hídrico e à ação periódica do fogo (Rizzini 1965; Rizzini & Heringer 1961, 1962, 1966; Rachid-Edwards 1956). Em *M. atrovioleacea*, a emissão periódica de ramos aéreos produzidos pelo xilopódio confere à espécie maior capacidade de sobrevivência aos períodos de seca e de restrição hídrica ocorrentes nos afloramentos rochosos.

Em *M. atrovioleacea*, as gemas oriundas do xilopódio são exógenas e formadas a partir da desdiferenciação do parênquima periférico. Segundo Esau (1965), o estabelecimento da conexão vascular entre a gema e a estrutura de origem, em geral, ocorre pela diferenciação dos tecidos vasculares da gema em direção ao sistema

vascular existente, fato este observado na espécie em estudo. Em *Brasilia sickii* (Paviani 1987), as gemas do xilopódio também se originam a partir da desdiferenciação de células parenquimáticas, já em *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezato-da-Glória & Estelita 1995, 2000), *Calea verticillata* e *Isostigma megapotamicum* (Vilhalva & Appezato-da-Glória 2006), as gemas presentes nos xilopódios têm origem cambial.

As raízes primárias de *M. atrovioleacea* são normalmente tetrarcas, podendo em alguns espécimes ser poliarca, como relatado para outras Apocynaceae, tais como ocorre em *M. illustris* e *M. velutina* (Appezato-da-glória & Estelita 2000). Em *Pyrostegia venusta* (Gabrielli 1992), Bignoniaceae, a variação dos números de pólos de protoxilema pode ocorrer na raiz de uma mesma planta, tendo inicialmente estrutura pentarca, posteriormente tetrarca e voltando a pentarca na porção basal. A variação anatômica do número dos pólos de protoxilema pode ser encontrada na maioria das espécies, variando entre plantas diferentes ou em raízes diferentes de uma mesma planta, apresentando considerável valor taxonômico (Esau 1965; Fahn 1990; Solereder 1908).

A estrutura tuberosa do sistema subterrâneo de *M. atrovioleacea* é de origem caulinar, com o desenvolvimento da túbera resultante da atividade de um câmbio vascular com produção não-usual de parênquima. Em *Ocimum nudicaule* (Figueiredo 1971), também foi encontrado uma estrutura subterrânea de natureza caulinar, com uma desproporcional quantidade de parênquima. Tanto na espécie em estudo como em *Ocimum nudicaule* (Figueiredo 1971), o aumento da espessura do órgão é proporcionado pela proliferação não-usual de parênquima, o que resulta na fragmentação do cilindro vascular.

As raízes laterais tuberosas correspondem a grande parte do sistema subterrâneo da planta, ocorrendo grande proliferação das células parenquimáticas corticais e como contribuição daquelas do floema secundário, relacionado à reserva de água e de substâncias, principalmente o amido. Um caráter comum a todos os órgãos tuberosos é a presença abundante de parênquima de reserva, ocorrendo numerosas variações estruturais (Esau 1998). Estas variações estruturais podem ser observadas em várias espécies, tais como em *Pachyrhizus erosus* (Dabydeen & Sirju-Charran 1990) e *Pachyrhizus ahipa* (Milanez & Moraes-Dallaqua 2003) (Fabaceae),

com o surgimento de câmbios a partir do parênquima do xilema secundário. Já em *Oxalis* (Estelita-Teixeira 1982), *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appenzato-da-Glória & Estelita 2000), o processo de tuberização das raízes decorre de um crescimento secundário comum.

Ainda sobre as raízes laterais tuberosas, verifica-se que a suculência e o armazenamento de substâncias favorecem a sobrevivência dos indivíduos de *M. atrovioleacea* que crescem expostos nos afloramentos rochosos sob períodos de fortes estresses hídricos. A função de reserva dos órgãos tuberosos é aceita para plantas pertencentes aos mais diversos tipos de vegetação (Paviani & Haridasan 1988). A suculência e reserva de substâncias tem sido verificado em espécies ocorrentes em afloramentos rochosos submetidos à sazonalidade, tais como nas Apocynaceae *Marsdenia virgultorum*, espécie do cerrado (Rizzini 1965) e *M. megalantha*, espécie da caatinga (Goyder & Morillo 1994). Portanto, pode-se propor que a suculência, armazenamento de substâncias e presença de órgão gemífero seja um padrão morfo-anatômico relacionado à sobrevivência de espécies em ambientes submetidos a fortes fatores edáficos e climáticos.

CONCLUSÕES

As adaptações morfo-anatômicas de *M. atrovioacea* ao ambiente peculiar dos afloramentos rochosos em campos de altitude estão relacionadas à capacidade do sistema subterrâneo de acumular água e substâncias de reserva nas raízes tuberosas, bem como a emissão periódica de ramos aéreos produzidos pelo xilopódio em sucessivas estações favoráveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREATA, R.H.P. & MENEZES, N.L. 1999. Morfoanatomia do embrião, desenvolvimento pósseminar e origem do rizóforo de *Smilax quinquenervia* Vell. (Smilacaceae). Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 18:39-51.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2003. Morfologia de sistemas subterrâneos: histórico e evolução do conhecimento no Brasil. Ed. Alexandre Sene Pinto, Ribeirão Preto.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 1995. Caracteres anatômicos da propagação vegetativa de *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e de *M. velutina* (Mart. ex Stadelm.) Woodson – Apocynaceae. In Anais do IX Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Ilha Solteira, p.5-13.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 2000. The development anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson and *M. Velutina* (Mart. ex. Stadelm.) Woodson (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 23:27-35.
- CAIAFA, A. N. & SILVA, A.F. da 2005. Composição florística e espectro biológico de um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais – Brasil. Rodriguésia 87:163-173.
- DABYDEEN, S. & SIRJU-CHARRAN, G. 1990. The development anatomy of the root system in yam bean, *Pachyrhizus erosus* Urban. Annals of Botany 66:313-320.
- DIETRICH, S.M.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1985. Organos subterrâneos y propagacion vegetativa em plantas de los cerrados brasileiros. Medio Ambiente 7:45-52.
- ENGEVIX.1995. Caracterização do Meio Físico da Área Autorizada para a criação do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro- Relatório técnico final dos estudos-8296-RE-H4-003/94 “VER”. 1. Instituto Estadual da Floresta, BIRD/PRÓ-FLORESTA/ SEPLAN.
- ESAU, K. 1965. Plant anatomy. John Wiley, New York.
- ESAU, K. 1998. Anatomia das plantas com sementes. Edgard Blücher, São Paulo.

- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. 1982. Shoot anatomy three bulbous species of *Oxalis*. *Annals of Botany* 49:805-813.
- FAHN, A. 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press, Oxford.
- FIGUEIREDO, R.C.L. 1971. Sobre a anatomia dos órgãos vegetativos de *Ocimum nudicaule* Benth. (Labiatae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 44:549-570.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L., DIETRICH, S.M.S., CHU, E.P., MACHADO DE CARVALHO, M.A., VIEIRA, C.C.J. & GRAZIANO, T.T. 1986. Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. *Revista Brasileira de Botânica* 9:159-166.
- GABE, M. 1968. *Techniques Histologiques*. Masson & Cie, Paris.
- GABRIEL, B.L. 1982. *Biological Electron Microscopy*. Van Nostrand Reinhold Company Inc, England.
- GABRIELLI, A.C. 1992. Contribuição ao estudo anatômico de *Pyrostegia venusta* (Ker) Miers – Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 15:95-104.
- GOYDER, D. & MORILLO, G. 1994. A new species of *Marsdenia* (asclepiadaceae) from N.E. Brazil. *Asclepios* 63:18-23.
- HAYASHI, A.H. 2003. Morfo-anatomia de sistemas subterrâneos de espécies herbáceo-subarborescentes e arbóreas, enfatizando a origem das gemas caulinares. Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry*. H. Freeman and Co., San Francisco.
- MENEZES, N.L., MULLER, C. & SAJO, M.G. 1979. Um novo e peculiar tipo de sistema subterrâneo em espécies de *Vernonia* da serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil). *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 7:33-38.
- MILANEZ, C.R.D. & MORAES-DALLAQUA, M.A. 2003. Ontogênese do sistema subterrâneo de *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi (Fabaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26:415-427.
- O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. 1981. *The Study of Plant Structure Principles and selected methods*. Termarcaphi Pty. Ltda., Melbourne.

- PAVIANI, T.I. 1977. Estudo morfológico e anatômico de *Brasilia sickii* G. M. Barroso. II: Anatomia da raiz, do xilopódio e do caule. Revista Brasileira de Biologia 37:307-324.
- PAVIANI, T.I. 1978. Anatomia vegetal e cerrado. Ciência e Cultura 30: 1076-1086.
- PAVIANI, T.I. 1987. Anatomia do desenvolvimento do xilopódio de *Brasilia sickii* G.M. Barroso. Estágio inicial. Ciência e Cultura 39:399-405.
- PAVIANI, T.I. & HARIDASAN, M. 1988. Tuberosidade em *Vochysia thyrsoidea* Pohl (Vochysiaceae). Ciência e Cultura 40:998-1003.
- RACHID-EDWARDS, M. 1956. Alguns dispositivos para proteção de plantas contra a seca e o fogo. Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, 13 (Botânica) 209:35-68.
- RACHID, M. 1947. Transpiração e sistemas subterrâneos da vegetação de verão dos campos Cerrados de Emas. Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, 80 (Botânica) 5:5-140.
- RAWITSCHER, F. & RACHID, M. 1946. Troncos subterrâneos de plantas brasileiras. Anais da Academia Brasileira de Ciências 18:261-280.
- RIZZINI, C.T. & HERINGER, E.P. 1961. Underground organs of plants from some southern Brazilian savannas, with special reference to the xylopodium. Phytion 17:105-124.
- RIZZINI, C.T. & HERINGER, E.P. 1962. Studies on the underground organs of trees and shrubs from some southern Brazilian savannas. Anais da Academia Brasileira de Ciências 34:235-247.
- RIZZINI, C.T. & HERINGER, E.P. 1966. Estudo sobre os sistemas subterrâneos difusos de plantas campestres. Anais da Academia Brasileira de Ciências 38: 85-112.
- RIZZINI, C.T. 1965. Estudos experimentais sobre o xilopódio e outros órgãos tuberosos de plantas do Cerrado. Anais da Academia Brasileira de Ciências 35: 87-113.
- SAFFORD, H.D. 1999. Brazilian Páramos I: AN introduction to the physical environment and vegetation of the campos de altitude. Journal of Biogeography 26:693-712.

- SAFFORD, H.D. & MARTINELLI, G. 2000. Southeast Brazil. In: Inselbergs: Biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions. Springer, Alemanha.
- SAJO, M.G. & MENEZES, N.L. 1986a. Anatomia do rizóforo de espécies de *Vernonia Screb.* (Compositae) da serra do Cipó, MG. *Revista Brasileira de Biologia* 46:189-196.
- SAJO, M.G. & MENEZES, N.L. 1986b. Origem e crescimento do rizóforo em espécies de *Vernonia Screb.* (Compositae) da serra do Cipó, MG. *Revista Brasileira de Biologia* 46:197-202.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press, Oxford.
- VILHALVA, D.A.A. & APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2006. Morfo-anatomia do sistema subterrâneo de *Calea verticillata* (Klatt) Pruski e *Isostigma megapotamicum* (Spreng.) Sherff – Asteraceae. *Revista Brasileira de Botânica* 29:39-47.

CAPÍTULO II

Laticíferos articulados nos órgãos vegetativos de *Mandevilla atrovioleacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae)

RESUMO

A ocorrência de laticíferos do tipo não articulado está registrada na literatura para as Apocynaceae, sendo encontradas poucas informações quanto à natureza química do látex. O objetivo do presente trabalho foi descrever anatômica e histoquimicamente os laticíferos das raízes, caules e folhas de *Mandevilla atrovioleacea*. Em *M. atrovioleacea* os laticíferos são do tipo articulado anastomosado. O sistema laticífero é originado da atividade do meristema fundamental e/ou do procâmbio e já se encontra em fase secretora desde a sua formação na região meristemática. Entretanto, nas raízes tuberosas, os laticíferos são originados a partir da atividade do câmbio e/ou felogênio e da desdiferenciação de células parenquimáticas do córtex. A parede dos laticíferos é mais espessa que a das células adjacentes, sendo de natureza primária e pectocelulósica. A secreção dos laticíferos contém uma emulsão de substâncias lipofílicas, rica em lipídios neutros, óleo-resinas e borracha. Gotículas lipídicas foram evidenciadas no citoplasma dos laticíferos, tendo sido identificada uma reação semelhante no lume dos elementos traqueais. O látex tem função de proteção contra patógenos e herbívoros, podendo também atuar na cicatrização de ferimentos, funções importantes para as plantas de *M. atrovioleacea*, que crescem expostas nos afloramentos rochosos, num ambiente submetido a fortes estresses edáficos e climáticos.

ABSTRACT

Occurrence of nonarticulated laticifers is recorded in the literature on Apocynaceae, with little information being available on the chemical nature of the latex exuded. The objective of this work was to anatomically and histochemically describe the laticifer found in the roots, stems and leaves of *Mandevilla atrovioleacea*. In *M. atrovioleacea*, laticifers are anastomizing and non-articulated. The lactiferous system is originated from the activity of fundamental meristem activity and /or procambium and already found in a secretory phase since its formation in the meristematic region. However, in the tuberous roots, the laticifers are originated from the activity of the cambium and/or phelogeny and undifferentiation of parenchymatic cortex cells. The laticiferous wall is thicker than that of the adjacent cells, being primary and pectocellulosic. Laticifer secretion contains an emulsion of lipophylic substances rich in neutral lipids, resin oils and rubber. Lipidic drops were seen in the laticifer cytoplasm, with a similar reaction being identified in the lumen of the tracheal elements. Latex exerts a protective function against pathogens and herbivores, also acting upon wound cicatrization, important functions for the *M. atrovioleacea*, plants that grow exposed to rocky formations.

INTRODUÇÃO

Laticíferos são estruturas secretoras internas especializadas ocorrentes em 20 famílias de angiospermas, dentre as quais Apocynaceae é citada, com frequência, por ter laticíferos distribuídos em todos os órgãos da planta ou restritos a certos tecidos (Solender 1908; Metcalfe 1967; Fahn, 1979). Nesta família, laticíferos não-articulados têm sido registrados em várias espécies como *Nerium oleander* (Mahberg 1961), *Vallaris solanacea* (Murugan and Inandar 1987a), *Allamanda violacea* (Inamdar *et al.* 1988), *Calotropis gigantea* (Roy & De 1992), *Mandevilla illustris*, *M. velutina* (Appezato-da-Glória and Estelita 1997), *Vinca sardoa* (Sacchetti *et al.* 1999) e *Asclepias speciosa* (Serpe *et al.* 2001).

Segundo a delimitação taxonômica vigente (Endress & Bruyns 2000) a família Apocynaceae consiste de 424 gêneros distribuídos em cinco subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae. Embora as Asclepiadaceae seja tradicionalmente separada das Apocynaceae devido à presença de translator e formação de polínia (Endress & Bruyns 2000), análises cladísticas com base em caracteres morfológicos e dados moleculares não sustentam a manutenção de Apocynaceae e Asclepiadaceae como famílias separadas (Judd *et al.* 1999; Endress & Bruyns 2000). Recentemente, Demarco *et al.* (2006) relataram uma nova ocorrência de laticíferos articulados anastomosados em *Aspidosperma australe* (Rauvolfioideae) e *Blepharodon bicuspidatum* (Asclepiadoideae), incluídas nas Apocynaceae (Endress & Bruyns 2000), destacando que essa característica constitui-se em mais uma evidência da proximidade entre estes clados.

Estudos sobre a morfologia e anatomia dos órgãos vegetativos, especialmente das folhas, são reconhecidamente ferramentas de utilidade para a taxonomia (Metcalfe & Chalk 1979, 1983).

Informações sobre a estrutura morfológica do laticífero e a natureza química do látex de apocináceas são escassas. Destacam-se os resultados apresentados para *Catharanthus roseus* (Yoder & Mahlberg 1976), *Vallaris solanacea* (Roth) (Murugan & Inamdar 1987a), *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezato-da-Glória & Estelita 1997), *Aspidosperma australe* e *Blepharodon bicuspidatum* (Demarco *et al.* 2006). Desse modo, o presente trabalho teve por objetivo descrever a distribuição organográfica, a ontogênese e caracterizar a estrutura e a natureza química do látex de

Mandevilla atrovioleacea (Apocynaceae). As informações aqui apresentadas poderão contribuir na compreensão das afinidades filogenéticas entre as subfamílias de Apocynaceae.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas em uma população de *M. atrovioleacea* nativa de um afloramento rochoso no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (MG) nas coordenadas geográficas S 20°42' 21,1'' WO 42°28'46,8'', a 1514 m de altitude. O material testemunho foi depositado no Herbário da Universidade Federal de Viçosa sob o número VIC 27.620. Ápices caulinares e radiculares, folhas, caules e raízes tuberosas de cinco plantas adultas foram fixados em glutaraldeído 2% em solução tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,0 de Sorenson (Gabriel 1982), desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historesin, Leica Instruments). Para caracterização estrutural foram obtidos cortes transversais (5-9 µm de espessura), em um micrótomo rotativo (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc.), os quais foram corados com azul de toluidina pH 4,0 (O'Brien and McCully, 1981) e as lâminas montadas com resina sintética (Permout).

Para a obtenção das lâminas semipermanentes destinadas à caracterização histoquímica foram utilizadas amostras frescas das folhas, caules e raízes, seccionadas transversalmente num micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA) e as lâminas montadas em água glicerizada. As principais classes de metabólitos foram investigadas usando os testes histoquímicos apresentados na Tabela 1. Secções controle foram realizadas simultaneamente, de acordo com as recomendações dos respectivos autores.

As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical) equipado com sistema U-Photo. O sistema de classificação adotado foi o proposto por Endress & Bruyns (2000).

Tabela 1. Metodologias utilizadas para a detecção das principais classes de metabólitos.

	Grupos de Metabólitos	Teste Aplicado
Lipídios	Lipídios Totais	Sudan Vermelho Escarlate (Pearse 1980)
	Lipídios Ácidos e Neutros	Sulfato Azul de Nilo (Cain 1947)
	Ácidos Graxos	Acetato de Cobre/Ácido Rubiânico (Ganter & Jollés 1969)
Terpenóides	Óleos essenciais e Óleo-resinas	Reagente de Nadi (David & Carde 1964)
	Lactonas	Ácido Sulfúrico
	Sesquiterpénicas	(Geissmen & Griffin 1971)
Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos Gerais	Dicromato de Potássio (Gabe 1968)
	Taninos	Vanilina Clorídrica (Mace & Howell 1974)
	Lignina	Floroglucinol (Johansen 1940)
Proteínas		Xilidine Pounceau (XP) (O'Brien & McCully 1981)
Alcalóides		Reagente de Wagner (Furr & Mahlberg 1981)
Polissacarídeos	Amido	Lugol (Jensen 1962)
	Polissacarídeos gerais	PAS (O'Brien & McCully 1981)
	Pectinas	Vermelho de rutênio (Johansen 1940)

RESULTADOS

Os laticíferos de *M. atrovioleacea* são articulados e presentes em todos os órgãos vegetativos da planta (figuras 1-19). No ápice caulinar (figuras 1-2) e radicular (figuras 6-7), são originados de células do meristema fundamental e do procâmbio. Os laticíferos se diferenciam rapidamente, com a fase meristemática muito breve. Enquanto a maioria dos tecidos ainda está meristemática, os sistemas de laticíferos já se encontram diferenciados e em fase secretora, identificada pelo conteúdo granuloso no citoplasma (figuras 3-5, 7-9) e alongam-se verticalmente acompanhando o eixo longitudinal da planta.

Nas regiões mais apicais do meristema, os laticíferos são formados pela adição de células cujas paredes dissolvem rapidamente. Nas regiões meristemáticas é observada uma intensa fusão de células adjacentes, originando laticíferos contínuos ou sistemas laticíferos (figuras 4, 8 e 9). O crescimento dos laticíferos é contínuo graças à expansão e acréscimo de novas células do meristema apical no sistema.

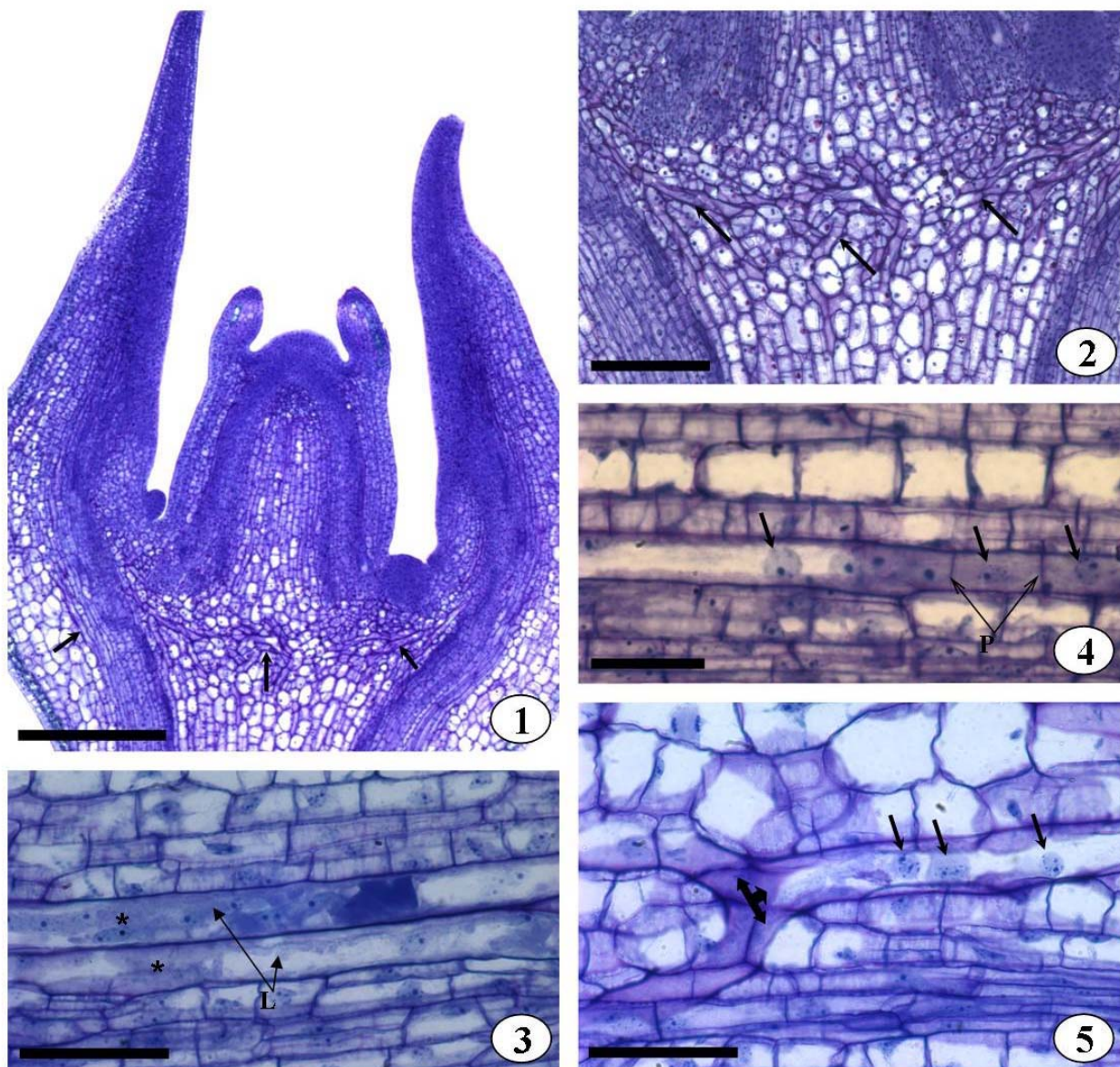
Em todos os estádios de desenvolvimento dos laticíferos estes são estruturalmente diferenciados das células vizinhas por sua forma alongada, diâmetro (que variou em diferentes partes da planta), espessura da parede e natureza química da secreção. A parede dos laticíferos é mais espessa que a das células adjacentes, sendo de natureza primária e pectocelulósica. Cada laticífero apresenta vários núcleos de contorno esférico com distintos nucléolos (figura 5).

Verificou-se anastomose de sistemas laticíferos laterais, originando os laticíferos do tipo ramificado. Este evento foi visualizado tanto nas porções meristemáticas (figuras 5, 7-8) quanto nas regiões mais velhas dos órgãos aéreos e subterrâneos (figuras 10, 16-17). Geralmente, os laticíferos se ramificam formando configurações em formato-Y (figuras 16-17) e ocasionalmente formato-H.

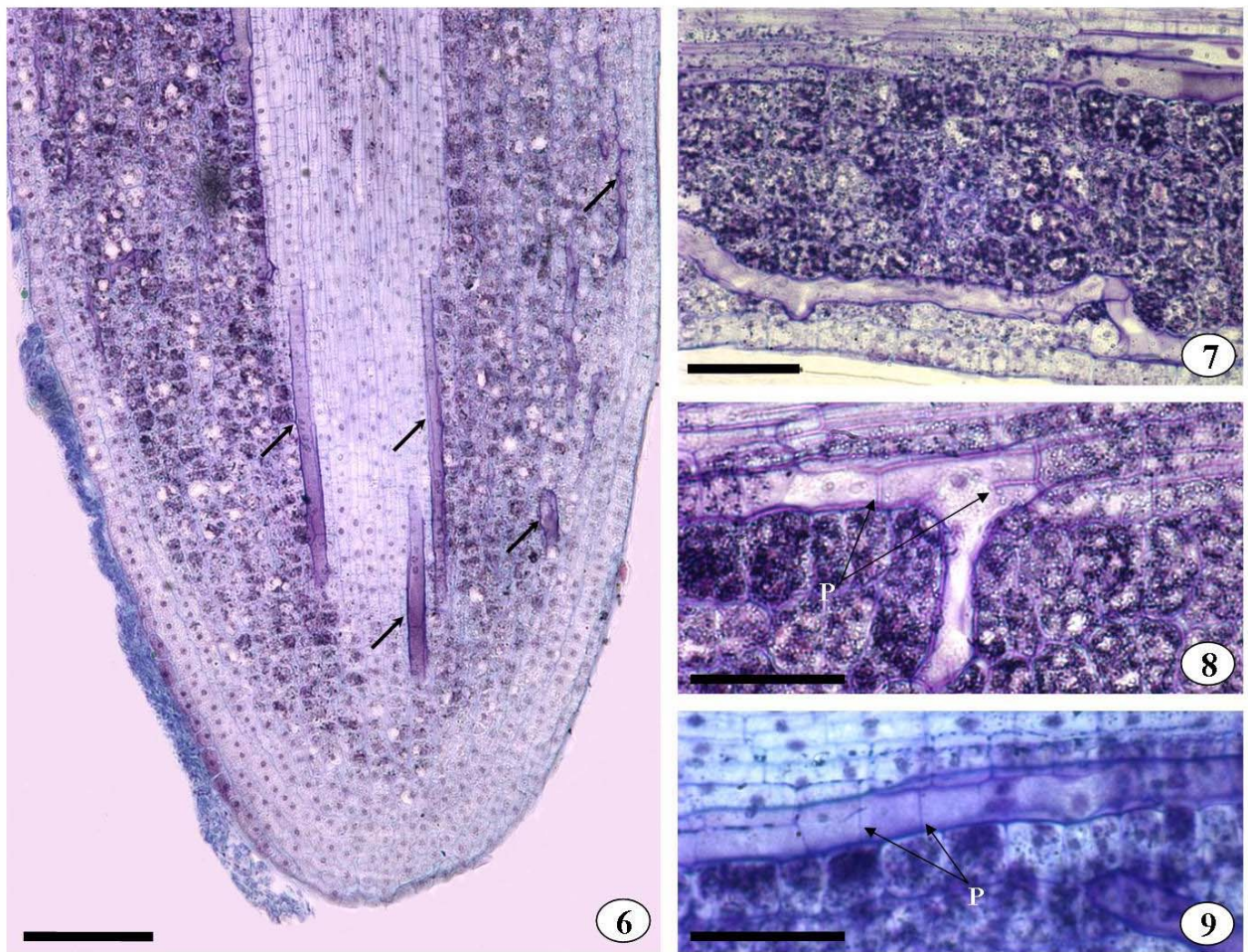
No caule (figuras 12-13) e pecíolo, os laticíferos foram observados no córtex, na medula e nas proximidades do cilindro vascular, especialmente no floema. A parede dos laticíferos na medula do caule é espessa e apresenta estriações na face voltada para o lume celular (figuras 13-14). Na lâmina foliar, os laticíferos ocorrem associados aos feixes vasculares (figura 11), ramificando-se por entre os espaços intercelulares, na interface do parênquima paliçádico e o esponjoso, podendo inclusive chegar até a epiderme (figura 10).

Nas raízes tuberosas, em adição ao sistema primário de laticíferos, são produzidos laticíferos a partir da atividade do câmbio e/ou felogênio (figura 19) e da desdiferenciação das células parenquimáticas do córtex (figuras 15-18). Nas raízes mais jovens os laticíferos ocorrem predominante nas proximidades do floema secundário e no córtex (figura 22). Já nas raízes de maior diâmetro, tais estruturas formam longas fileiras paralelas à periderme (figura 23), concentrando-se na periferia o que dificulta concluir quanto a sua origem pela desdiferenciação do parênquima cortical e/ou pela atividade do felogênio. Já nos órgãos aéreos, os laticíferos aparentemente se formam apenas pela atividade dos meristemas apicais (sistema primário de laticíferos).

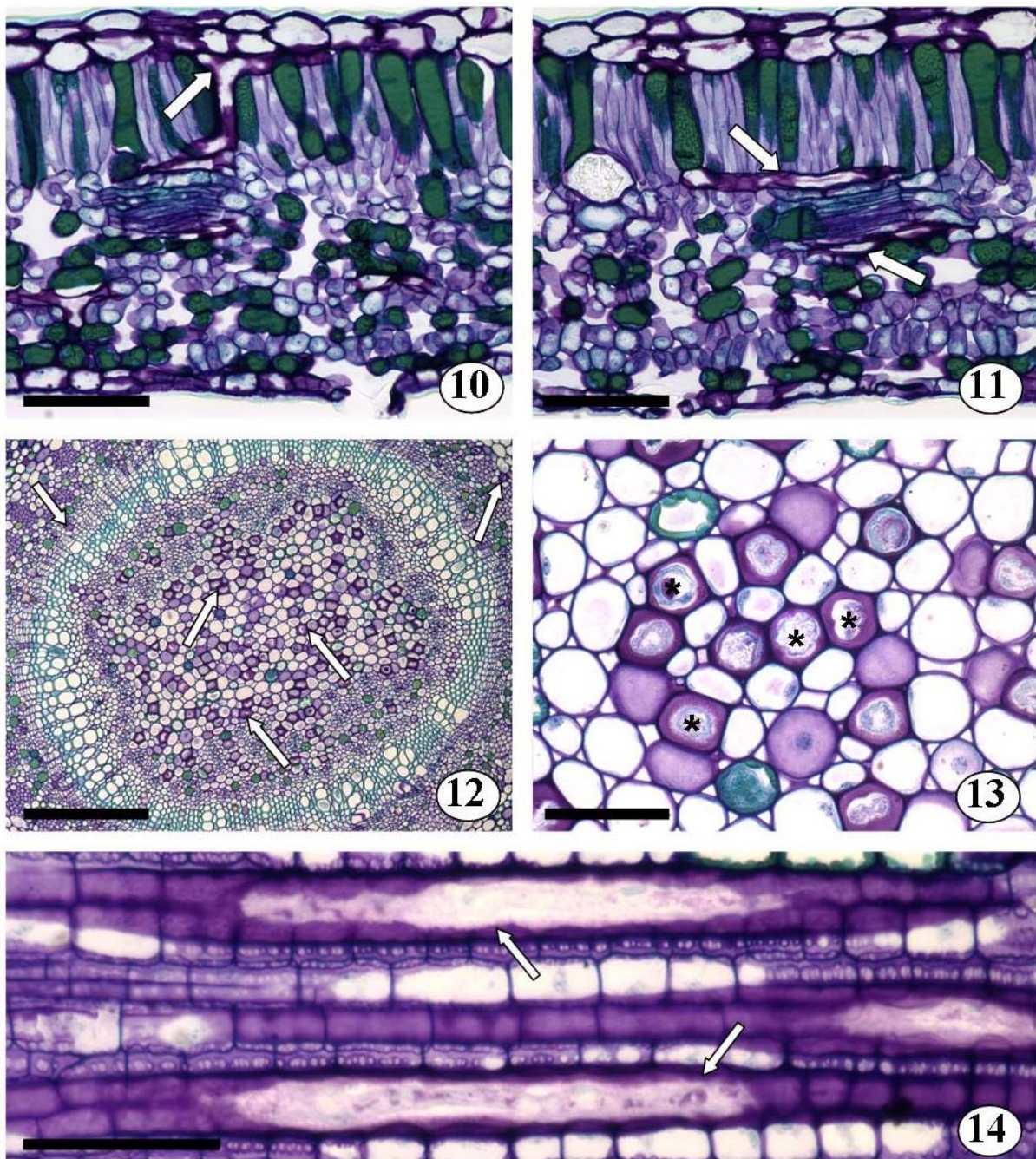
Quando se dá o extravasamento do látex tanto dos órgãos aéreos quanto do subterrâneo, este se constitui em um fluido branco viscoso. O látex corresponde ao próprio citoplasma da célula, podendo ser constatado desde as porções mais jovens dos órgãos analisados (figuras 3-5). Nos laticíferos maduros, tanto nos órgãos aéreos quanto nos subterrâneos (figuras 20-21), a secreção é granulosa. A reação foi positiva para compostos lipofílicos e negativa para compostos fenólicos, alcalóides, polissacarídeos e proteínas. O teste com Sudan Vermelho Escarlata evidenciou gotículas lipídicas nos laticíferos (figuras 24-25). Cabe ressaltar que nas raízes tuberosas, o conteúdo presente nos elementos traqueais reagiu para os testes de compostos lipídicos (figura 26), resultando em uma reação semelhante a dos laticíferos. A reação com Azul do Nilo confirmou a natureza neutra desses lipídios (figura 27). Dos reagentes utilizados para detectar terpenóides, apenas o Reagente de Nadi apresentou resultado positivo, com a secreção evidenciada pela coloração azul púrpura, característica de óleo-resina (figura 28). A natureza lipofílica dessa secreção foi confirmada pelo controle, no qual após tratamento das secções com uma mistura de metanol-clorofórmio não foi evidenciada coloração.



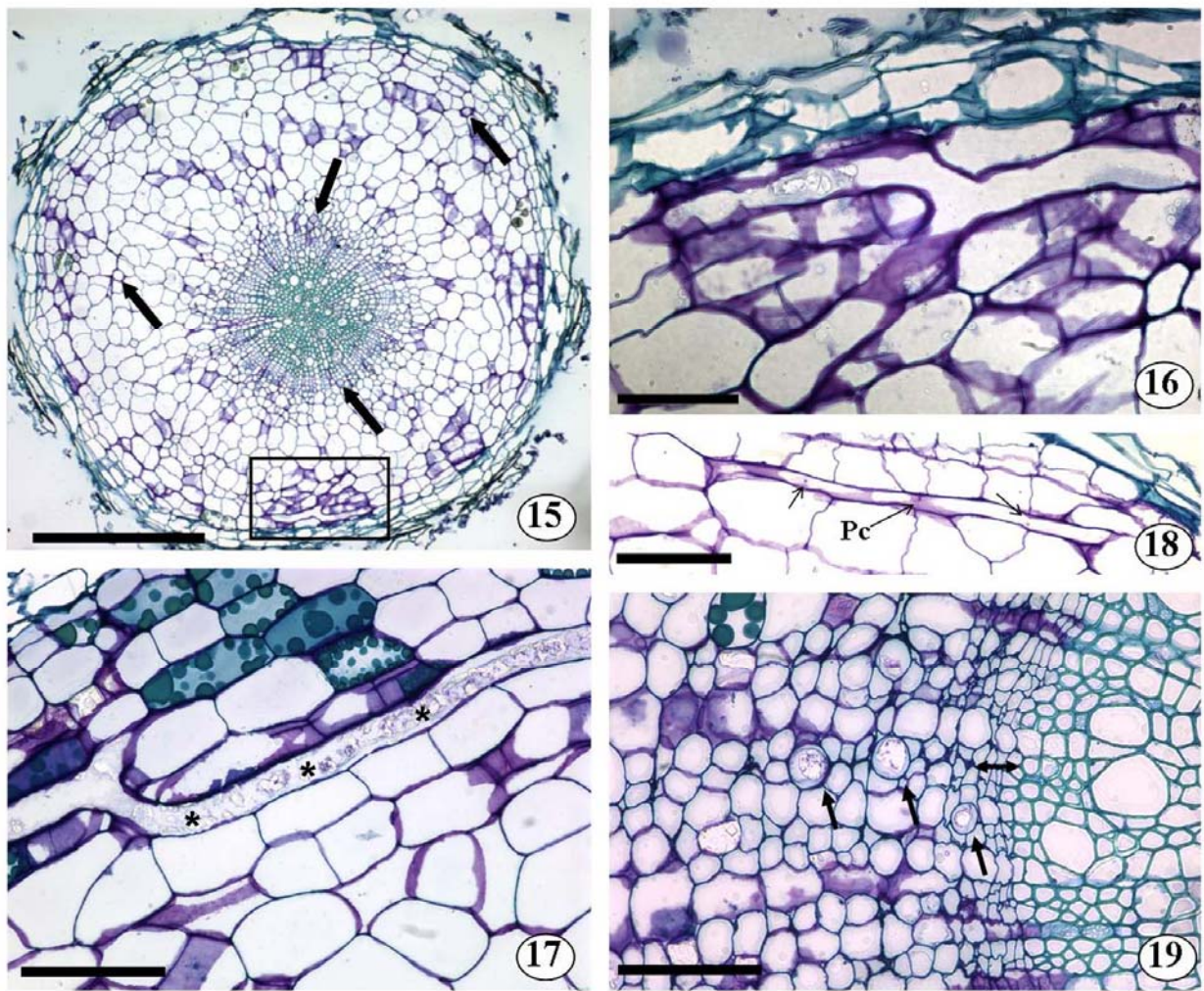
Figuras 1-5. Laticíferos articulados do ápice caulinar de *M. atrovioleacea*. 1. Vista geral (seta). 2. detalhe do sistema de laticíferos no meristema fundamental (seta). 3. Laticífero diferenciado (L) e em fase secretora (*). 4. Laticífero com parede transversal (P) e núcleos evidentes (seta). 5. Detalhe do laticífero ramificado com núcleos e nucléolos evidentes (seta). Barras= 220µm (1), 100µm (2), 80µm (3), 30µm (4), 80µm (5).



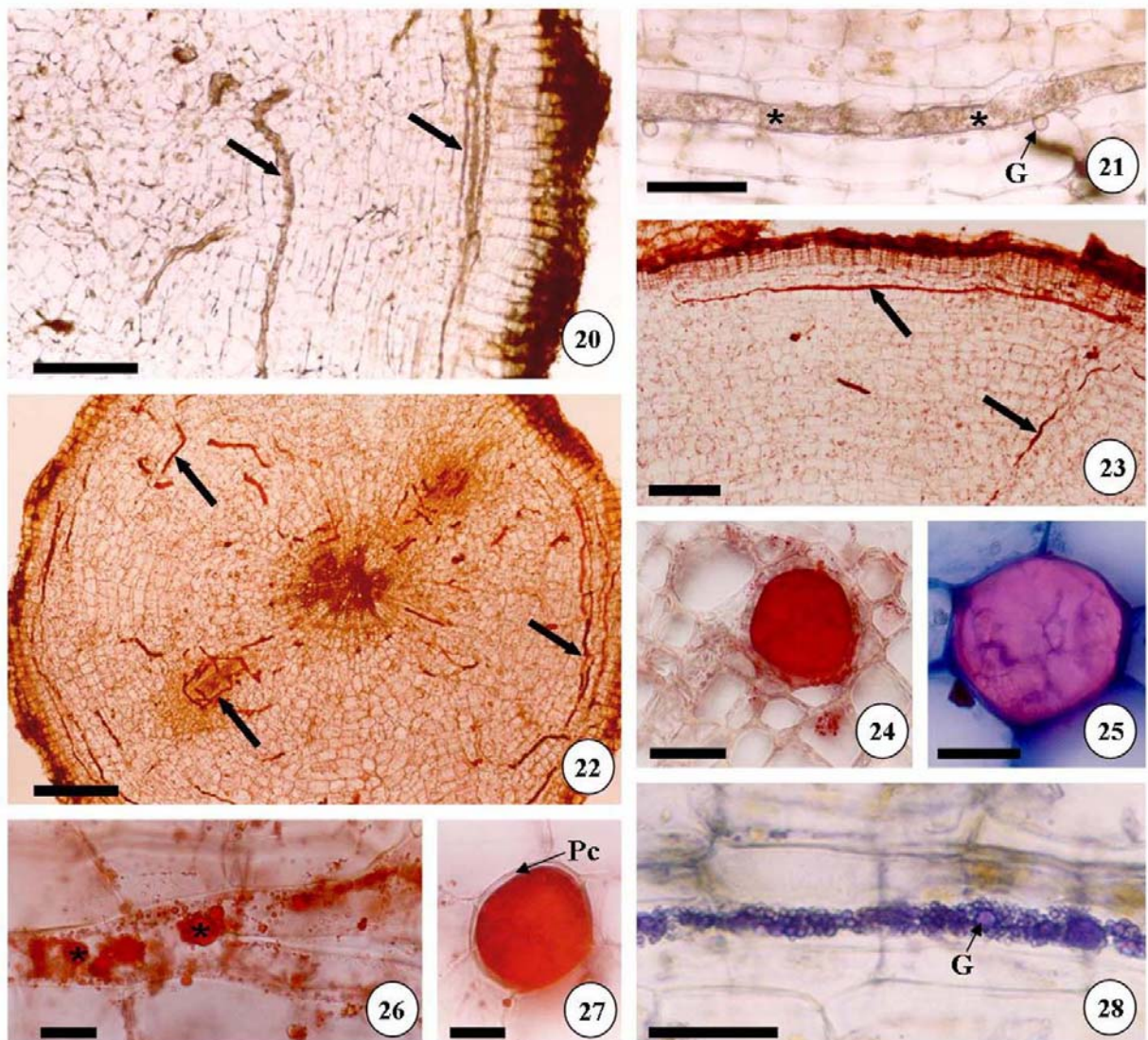
Figuras 6-9. Laticíferos articulados do ápice radicular de *Mandevilla atrovioleacea*. 6. Vista geral dos laticíferos (seta) originados do procâmbio e meristema fundamental. 7. Detalhe do laticífero na região do meristema fundamental. 8-9 Detalhe da dissolução da parede transversal do laticífero (P). Barras= 80 μ m (6), 60 μ m (7), 40 μ m (8), 40 μ m (9).



Figuras 10-14. Distribuição dos laticíferos articulados anastomosados na folha e no caule de *Mandevilla atrovioleacea*. 10-11. Secção transversal da folha. 10. Laticífero ramificado subjacente à epiderme (seta). 11. Laticíferos associados aos feixes vasculares (seta). 12-14. Caule. 12. Vista geral dos laticíferos no córtex e medula do caule (seta). 13. Detalhe da parede estriada dos laticíferos (*). 14. Secção longitudinal do caule evidenciando a espessura da parede pectocelulósica dos laticíferos. Barras= 100µm (10), 100µm (11), 250µm (12), 50µm (13), 100µm (14).



Figuras 15-19. Distribuição dos laticíferos articulados anastomosados nas raízes tuberosas de *Mandevilla atrovioleacea*. 15. Aspecto geral da raiz evidenciando laticíferos no córtex e floema secundário (secção transversal). 16. Detalhe da figura anterior evidenciando laticífero em formato-Y. 17. Laticífero ramificado com secreção granulosa (*). 18. Detalhe do laticífero formado a partir das células parenquimáticas do córtex, notar dissolução da parede celular (Pc) e da presença dos núcleos (seta). 19. Laticíferos (seta) originados a partir do câmbio (seta dupla) (Secção transversal). Barras= 450µm (15), 60µm (16), 140µm (17), 110µm (18), 110µm (19).



Figuras 20-28. Laticíferos da raiz tuberosa de *Mandevilla atrovioleacea*. 20-21. Aspecto da raiz em amostras frescas não submetidas a reagentes (branco). 20- Laticíferos no córtex interno e externo com secreção. 21. Detalhe do laticífero, evidenciando a secreção de aspecto opaco e em forma de gotas (*). 22-24, 26-27. Cortes submetidos ao Sudan Vermelho Escarlata, reação positiva para lipídios. 22. Aspecto geral dos laticíferos distribuídos na raiz tuberosa. 23. Detalhe do laticífero periférico paralelo à superfície da raiz. 24. Detalhe de um elemento traqueal com conteúdo lipídico. 25. Reação positiva para lipídios neutros (sulfato azul de Nilo) nos laticíferos. 26. Detalhe das gotículas lipídicas nos laticíferos (*). 27. Detalhe do laticífero em corte transversal, evidenciando a espessura da parede (Pc). 28. Reação positiva para óleo-resina (reagente de Nadi) nos laticíferos, notar as gotículas (G). Barras= 360µm (20), 90µm (21), 450µm (22), 300µm (23), 20µm (24), 20µm (25), 40µm (26), 20µm (27), 40µm (28).

DISCUSSÃO

Em *M. atrovioleacea*, os laticíferos são do tipo articulado e estão largamente distribuídos pelo corpo da planta tanto nos órgãos aéreos quanto nos subterrâneos. Estes resultados são conflitantes com a literatura pois na família Apocynaceae tem sido enfatizada a presença de laticíferos do tipo não articulado ramificado (Solereder 1908; Metcalfe 1967), conforme registrado para *Nerium oleander* (Mahberg 1961), *Vallaris solanacea* (Murugan & Inandar, 1987), *Allamanda violacea* (Inamdar *et al.* 1988), *Calotropis gigantea* (Roy & De 1992) e *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezato-da-Glória & Estelita 1997). Recentemente, um novo registro de ocorrência de laticíferos do tipo articulado e ramificado foi publicado para representantes das subfamílias Rauvolfioideae e Asclepiadoideae (Demarco *et al.* 2006). Uma análise cuidadosa das terminações dos extensos laticíferos dos órgãos aéreos e reprodutivos de *Aspidosperma australe* (Rauvolfioideae) e *Blepharodon bicuspidatum* (Asclepiadoideae) constatou que estas estruturas se formam pela dissolução rápida das paredes transversais no meristema apical, não sendo tais paredes visualizadas nas regiões subapicais (Demarco *et al.* 2006). Assim, o tipo de laticífero registrado no presente trabalho para *M. atrovioleacea* é inédito tanto para o gênero quanto para a subfamília Apocynoideae. E, portanto, mais uma evidência morfológica que respalda o agrupamento das Apocynaceae e Asclepiadaceae em uma mesma família formada por um grupo monofilético (Endress & Bruyns 2000). Cabe ressaltar a necessidade da reavaliação da classificação do tipo de laticífero para as Apocynaceae, conforme já sugerido por Demarco *et al.* (2006), para esclarecer se os laticíferos são verdadeiramente não articulados ou se articulados com uma rápida dissolução da parede transversal.

Quanto à distribuição dos laticíferos em *M. atrovioleacea*, têm-se o mesmo padrão registrado na literatura, tanto para a família Apocynaceae (Metcalfe 1967) quanto para outras espécies de *Mandevilla* (Appezato-da-Glória & Estelita 1997), podendo então ser considerado um caráter de valor unificador para o gênero.

Existem poucas informações sobre a ocorrência e distribuição de laticíferos em órgãos subterrâneos (Fahn 1979). A carência destas informações se deve a dificuldade de análise em função do pequeno diâmetro dos laticíferos presentes nos órgãos subterrâneos quando comparados com outros órgãos (Appezato-da-Glória & Estelita

1997). Entretanto, em *M. atrovioleacea* o maior diâmetro dos laticíferos e sua forma alongada em relação às células adjacentes, tanto no sistema aéreo quanto no subterrâneo, tornam essas estruturas distinguíveis nas secções transversais e longitudinais, não se constituindo, assim, em uma dificuldade técnica.

A formação precoce dos laticíferos em *M. atrovioleacea*, nos meristemas apicais (procâmbio e meristema fundamental) do caule e da raiz, e o contínuo acréscimo de células no sistema de laticífero em formação (sistema primário de laticífero), já foram relatados na literatura (Murugan & Inamdar 1987a; Demarco *et al.* 2006), inclusive para os órgãos subterrâneos de outras espécies de *Mandevilla* (Appezato-da-Glória & Estelita 1997).

Somente nas raízes tuberosas de *M. atrovioleacea* observou-se laticíferos de origem secundária, tanto pela atividade cambial, quanto pela desdiferenciação de células do parênquima cortical. É comum a origem de laticíferos a partir de iniciais fusiformes do câmbio (Metcalf 1967; Rudall 1989; Van Veenendaal & Den Outer 1990).

A parede dos laticíferos de *M. atrovioleacea* e sua estrutura se destacam das células adjacentes pelo maior diâmetro e espessamento, que no caule em estrutura secundária formam distintas estriações na face volta para o lume. Estriações semelhantes foram descritas para os laticíferos do caule de *Euphorbia abdelkuri* (Rudall 1987), sendo usual a ocorrência de paredes espessas e pectocelulósica em laticíferos (Fahn 1979; Malberg 1993).

De acordo com Van Veenendaal & Den Outer (1990), em *Morus nigra*, critérios utilizados para distinguir os laticíferos das células vizinhas são: forte reação com Sudan III (que reage para substâncias lipídicas) e com azul de toluidina. Este mesmo critério foi útil no reconhecimento dos laticíferos de *M. atrovioleacea*, cujo conteúdo granuloso reagiu intensamente com azul de toluidina e com Sudan Vermelho Escarlate para compostos lipídicos. Proteínas e lipídios já foram localizados no látex de *Vallaris solanacea* (Murugan & Inamdar 1987a), espécie da família Apocynaceae.

Somente nas raízes tuberosas de *M. atrovioleacea* verificou-se um conteúdo que reagiu intensamente para detecção de compostos lipídicos (Sudan Vermelho Escarlate) no lume dos elementos traqueais, além dos laticíferos. Observações semelhantes foram registradas para os caules aéreos de *Mandevilla* spp. (Appezato-da-Glória & Estelita 1997). Possivelmente esse conteúdo presente nos elementos traqueais seja resultado da

degeneração e extravasamento do protoplasma dos laticíferos durante diferenciação vascular, conforme visualizado também em *Rauwolfia grandiflora* (Gonçalves 1962).

Apesar de testes específicos para a detecção de borracha não terem sido efetuados, a presença de compostos lipídicos e a coloração branca do látex são indícios da presença de borracha, considerada como o maior composto terpenóide conhecido (Raven *et al.* 1999). De acordo com Van Die (1955) os laticíferos de muitas Apocynaceae contêm partículas de borracha que são insolúveis em etanol.

A função mais provável para os laticíferos é a de proteção contra patógenos e herbívoros, podendo também atuar na cicatrização de ferimentos (Fahn 1979; 1990), funções importantes para as plantas de *M. atrovioleacea*, que crescem expostas nos afloramentos rochosos, num ambiente submetido a fortes estresses edáficos e climáticos típicos do bioma campo de altitude.

CONCLUSÕES

A presença dos laticíferos ramificados e articulados em *M. atrovioacea* trata-se de um novo registro para a família Apocynaceae, além de mais uma caractere útil à taxonomia. Estudos ontogenéticos adicionais são necessários para o esclarecimento da origem dos laticíferos pela atividade do felogênio e desdiferenciação das células parenquimáticas do parênquima cortical.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 1997. Laticifers systems in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* Apocynaceae. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 66:301-306.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 1988. Desenvolvimento anatômico e propagação vegetativa de *Mandevilla velutina* var. *glabra* (Muell.-Arg.) Woodson-Apocynaceae. Tese de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BLASER, H.W. 1945. Anatomy of *Cryptostegia grandiflora* with special reference to the latex system. *American Journal of Botany* 32:135-141.
- CAIN, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 88:383-392.
- 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* 258:1338-1340.
- DEMARCO, D., KINOSHITA, L.S. & CASTRO, M.M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados - novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 29:133-144.
- ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. *The Botanical Review* 66:1-56.
- FAHN, A. 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press, Oxford.
- FAHN, A. 1979. *Secretory Tissues in Plants*. London, Academic Press.
- FURR, M. & MALHLBERG, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* 44:153-159.
- GABE, M. 1968. *Techniques histologiques*. Masson & Cie, Paris.
- GABRIEL, B.L. 1982. *Biological electron microscopy*. Van Nostrand Reinhold Company Inc., England.
- GANTER, P. & JOLLES G. 1904. *Histochimie normale et pathologique*. Gauthier – Villars, Paris.
- GONÇALVES, C.R. 1962. Sobre a anatomia da folha de *Rauwolfia grandiflora* Mart. (Apocynaceae). *Arquivos do Jornal Botânico do Rio de Janeiro* 18:293-306.

- GEISSMAN, T. & GRIFFIN, T.S. 1971. Sesquiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry* 10:2475-2485.
- INAMDAR, J.A., MURUGAN, V. & SUBRAMANIAN, R.B. 1988. Ultrastructure of non-articulated laticifers in *Allamanda violacea*. *Annals of Botany* 62:583-588.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. WH Freeman: San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw- Hill: New York.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVES, P.S. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinuauer Associates: Sunderland.
- MACE, M.E. & HOWELL, C.R. 1974. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology* 23:99-108.
- MAHLBERG, P.G. 1961. Embriogeny and histogenesis in *Nerium oleander* L.:II. Origin and development of the non-articulated laticifers. *American Journal of Botany* 48:90-99.
- MAHLBERG, P.G. 1993. Laticifers: an historical perspective. *The Botanical Review* 59:1-23.
- METCALFE, C.R. 1967. Distribution of latex in the plant Kingdom. *Economic Botanic* 21:115-127.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L.1979. *Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of leaf and stem with a brief history of the subject*. Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE, C.R. & CHALK L. 1983. *Anatomy of the dicotyledons: wood structure and conclusion of the general introduction*. Clarendon Press, Oxford.
- MURUGAN, V. & INAMDAR, J.A. 1987a. Studies in the laticifers of *Vallaris solanaceae* (Roth) O. Ktze. *Phytomorphology* 87:209-14.
- O'BRIEN, T.P. & MCCULLY, M.E. 1981. *The study of plant structure principles and select methods*. Termarcarphi Pty. Ltda, Melbourne.
- PEARSE, A.G.E. 1980. *Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology*. Churchill Livingston, Edinburgh.
- RAVEN, P.T., EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. 1999. *Biology of Plants*. W.H. Freeman and Company/Worth Publishes, New York.

- ROY, A.T. & DE, D.N. 1992. Studies on differentiation of laticifers through light and electron microscopy in *Calotropis gigantea* (Linn.) R. Br. *Annals of Botany* 70:443-449.
- RUDALL, P. 1989. Laticifers in vascular cambium and wood of *Croton* spp.(Euphorbiaceae). *IAWA Bulletin* 10:379-383.
- SACCHETTI, G., BALLERO, M., SERAFINI, 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). *Phyton* 39:265-275.
- SERPE, M.D., MUIR, A.J. & KEIDEL, A.M. 2001. Localization of cell wall polysaccharides in nonarticulated laticifers of *Asclepias speciosa* Torr. *Protoplasma* 216:215-226.
- SOLEREDER, H. 1908. *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- VAN DIE, J. 1955. A comparative study of the particle fractions from Apocynaceae latices. *Annales Bogorienses* 2:1-124.
- VAN VEENENDAAL, W.L.H. & DEN OUTER, R.W. 1990. Distribution and development of the non-articulated branched laticifers of *Morus nigra* L. (Moraceae). *Acta Botanica Neerl*:285-296.
- 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.

CONCLUSÕES GERAIS

A análise dos resultados obtidos, nos trabalhos realizados, permite concluir que:

O sistema subterrâneo de *M. atrovioleacea* caracteriza-se por uma porção superior, que corresponde um xilopódio gemífero, perene, com mais de um eixo de simetria devido ao processo natural de auto-enxertia da base dos ramos aéreos; e uma porção inferior tuberosa, de origem caulinar. O desenvolvimento e intumescimento desse órgão tuberoso resultam da atividade contínua do câmbio vascular, bem como de uma produção não usual do parênquima do raio e da medula.

As raízes laterais tuberosas correspondem grande parte do sistema subterrâneo, com o intumescimento decorrente da divisão e expansão das células parenquimáticas e daquelas do floema secundário, originadas de um câmbio típico. Estas células acumulam água e substâncias de reserva (principalmente o amido), o que permite a sobrevivência da planta nos períodos desfavoráveis através destas expensas acumuladas.

Os laticíferos de *M. atrovioleacea* são ramificados e articulados e estão largamente distribuídos pelo corpo da planta tanto nos órgãos aéreos quanto nos subterrâneos. A presença dos laticíferos articulados se trata de um novo registro para a família Apocynaceae, sendo mais um caractere de utilidade à taxonomia.