

SANDRA MARIA ALVARENGA GOMES

**Anatomia Foliar como Subsídio à Taxonomia da  
Subfamília Hippocrateoideae ( Celastraceae )**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Botânica para  
obtenção do Título de "Magister  
Scientiae"

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2001

SANDRA MARIA ALVARENGA GOMES

**Anatomia Foliar como Subsídio à Taxonomia da  
Subfamília Hippocrateoideae ( Celastraceae )**

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Curso de Botânica para obtenção do Título  
de "Magister Scientiae"

Aprovada em 23 de fevereiro de 2001.

---

Prof. Júlio Antônio Lombardi  
( Co - orientador )

---

Prof<sup>a</sup> Aristeia Alves Azevedo  
( Conselheira )

---

Prof. Fernando Henrique Aguiar Vale

---

Prof. Hildeberto Caldas de Sousa

---

Prof. Eldo Antônio Monteiro da Silva  
( Orientador )

*À minha família e ao Carlos  
por todo o apoio e incentivo.*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Eldo Antônio Monteiro da Silva, pelo carinho, amizade e orientação durante todo o curso.

Ao professor Julio Antonio Lombardi, pela presença, compreensão e co-orientação neste trabalho.

À professora Aristéa Alves Azevedo, pela dedicação, apoio e aconselhamento a este trabalho e durante o curso.

Ao professor Fernando Henrique Aguiar Vale, pelas sugestões, apoio e colaboração.

Ao professor Hildeberto Caldas de Sousa pelas sugestões e colaboração.

Ao professor Kiyoshi Matsuoka, pela colaboração na parte de microscopia eletrônica de varredura.

À todos os professores do curso envolvidos direta ou indiretamente, na minha formação.

À Rosane Cruz Portugal, Zilda Alzira Soares e João Bosco da Silva Rosado, funcionários do laboratório de Anatomia Vegetal, pela amizade, pelo apoio e pela cooperação durante todo o curso.

À todos os funcionários do Departamento de Biologia Vegetal, pela presteza e cordialidade.

Aos meus colegas de curso pelo agradável convívio, companheirismo, apoio e amizade.

À Marilene Marinho Nogueira, minha primeira mestra e amiga, pelo exemplo profissional e de vida.

Ao Carlos, pelo carinho, presença e companheirismo.

À minha família pela educação, exemplo e afeto que me ofereceram durante toda a vida e especialmente nestes últimos dois anos.

À todos os amigos que contribuíram de alguma forma com este trabalho.

## **BIOGRAFIA**

SANDRA MARIA ALVARENGA GOMES, filha de Benito César Salgado Gomes e Wanda Vaz Alvarenga Gomes, nasceu em 01 de junho de 1973 na cidade de Ponte Nova - MG.

Em janeiro de 1997, graduou-se em Ciências Biológicas com ênfase em Botânica; e em agosto de 1997 licenciou-se em Ciências Biológicas na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte - MG.

Em abril de 1999, iniciou o curso de Mestrado em Botânica na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa - MG.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	5
3. RESULTADOS .....	13
3.1. <i>Anthodon decussatum</i> .....	13
3.2. <i>Cheiloclinium cognatum</i> .....	18
3.3. <i>Cheiloclinium serratum</i> .....	20
3.4. <i>Elachyptera micrantha</i> .....	27
3.5. <i>Hippocratea volubilis</i> .....	31
3.6. <i>Peritassa flaviflora</i> .....	36
3.7. <i>Peritassa mexiae</i> .....	37
3.8. <i>Pristimera nervosa</i> .....	45
3.9. <i>Salacia crassifolia</i> .....	50
3.10. <i>Tonatelea divergens</i> .....	55
3.11. <i>Tonatelea fluminensis</i> .....	56
3.12. <i>Tonatelea leptophuylla</i> .....	57
3.13. <i>Tonatelea miersii</i> .....	58
3.14. Microscopia Eletrônica de Varredura .....	67
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES .....	75
5. BIBLIOGRAFIA .....	86

## RESUMO

GOMES, Sandra Maria Alvarenga, M. S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2001. **Anatomia foliar como subsídio à taxonomia da subfamília Hippocrateoideae (Celastraceae)**. Orientador: Eldo Antônio Monteiro da Silva. Co - orientador: Julio Antonio Lombardi (UFMG). Conselheira: Aristéa Alves Azevedo.

A anatomia e micromorfologia foliar de 13 espécies pertencentes a 8 gêneros da subfamília Hippocrateoideae (Celastraceae) foi caracterizada. Tal caracterização teve como objetivo a seleção de caracteres anatômicos para subsidiar a taxonomia dos diferentes gêneros, além de contribuir para a identificação das espécies. Pois, a subfamília apresenta divergências com relação à separação dos gêneros e os dados anatômicos dos órgãos vegetativos das plantas servem como critérios adicionais, podendo ser usados para resolver problemas taxonômicos. O material vegetal utilizado, foi obtido a partir de trabalhos de campo e de amostras retiradas de exsiccatas do Herbário do Departamento de Botânica da UFMG (BHCB). Foram analisadas folhas completamente expandidas. Cortes transversais do limbo e do pecíolo, na porção mediana, foram realizados para a confecção de lâminas permanentes; além da dissociação das epidermes e da confecção de macerados. As amostras destinadas à microscopia eletrônica de varredura foram fixadas inicialmente em F.A.A.<sup>70</sup> sendo, em seguida, submetidas ao processamento usual para este tipo de análise. Os dados encontrados podem ser aplicados para uma delimitação geral do padrão anatômico foliar dos oito gêneros estudados. Além disso, foram selecionados caracteres que podem ser usados como subsídio para a taxonomia dos diferentes gêneros e espécies, como por exemplo, o tipo de esclereíde presente no pecíolo ou na lâmina foliar, o tipo de estômato, a conformação do sistema vascular do pecíolo, o padrão do contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas, a presença de hipoderme, a ocorrência de estruturas secretoras, dentre outros. É indicado o estudo de um número maior de espécies por gênero para confirmação dos dados observados. Salienta-se, ainda, que estes aspectos anatômicos nunca devem ser usados de maneira isolada, mas sempre associados uns aos outros, e em conjunto com os dados da morfologia externa.

## ABSTRACT

GOMES, Sandra Maria Alvarenga, M. S., Federal University of Viçosa, February of 2001.

**Leaf anatomy as subsidy to taxonomy of the subfamily Hippocrateoideae (Celastraceae).** Adviser: Eldo Antônio Monteiro da Silva. Co - adviser: Julio Antonio Lombardi (UFMG). Committee member: Aristéa Alves Azevedo.

The anatomy and leaf micromorphology of 13 species belonging to 8 genera of the subfamily Hippocrateoideae (Celastraceae) was characterized, with objective of selecting anatomical characters to subsidize the taxonomy of the different genera, besides of contributing for the species identification. As the subfamily presents divergences with relationship to the separation of the genera, anatomical data of the vegetative organs of the plants serve as additional criteria, and they can be used to solve taxonomic problems. The used plant material, was obtained starting from field plant samples and also from exsiccate samples from the Herbarium of the Department of Botany of UFMG (BHCB). The analyzed leaves were completely expanded. Leaf cross sections in the medium portion from the blade and the petiole, were obtained to prepare permanent glass slides; besides that leaf epidermis dissociation and maceration were also made. The samples destined to the scanning electron microscopy (SEM) were fixed in F.A.A. 70% usually processed in standard procedure for SEM. The obtained data can be applied for a general delineation of the leaf anatomical pattern to the eight studied genera. Besides, were selected characters that can be used as subsidy for the taxonomy of the different genus and species, as for instance, the type of sclereids in the petiole or in the leaf blade, the stomata type, the conformation of the vascular system in the petiole, the pattern of the contour of the epidermis anticlinal cell walls, the presence of hypodermis, the occurrence of secretory structures, among others. It is recommended a larger study of the number of species in each genus for confirmation of the observed data. It is still pointed out, that these anatomical aspects should never be used as isolated character, but always associated each other, and together with the data of the external morphology.

## 1. INTRODUÇÃO

A subfamília Hippocrateoideae compreende 24 gêneros e cerca de 300 espécies ocorrentes nos trópicos e subtropicais do Novo e Velho Mundo (MENNEGA, 1997) (Celastraceae como um todo possui 94 gêneros e por volta de 1300 espécies). No Brasil, ocorrem 12 gêneros (SMITH, 1940) e cerca de 70 espécies (BARROSO et al., 1984).

A inclusão de Hippocrateoideae como subfamília de Celastraceae é reconhecida por todos os sistemas de classificação de angiospermas propostos nos últimos anos (TAKHTAJAN, 1997; APG, 1998; JUDD et al., 1999), em contraste com abordagens anteriores, onde era ora incluída (BENTHAM & HOOKER, 1862; GUNN et al., 1992; HEYWOOD, 1993; MENNEGA, 1997), ora excluída desta última família e tratada como família Hippocrateaceae (CANDOLLE, 1824; MIERS, 1872; PEYTRISCH, 1878; LOESENER, 1892; SMITH, 1940; LOESENER, 1942; HUTCHINSON, 1959; CRONQUIST, 1981; BARROSO et al., 1984; GÖRTS-VAN RIJN & MENNEGA, 1994).

Existem também divergências com relação à separação dos gêneros; em alguns casos a maioria das espécies da subfamília Hippocrateoideae têm sido incluídas em apenas dois gêneros, *Hippocratea* e *Salacia* (ROBSON, 1965). Em outra visão, estes gêneros são subdivididos ( e.g., *Hippocratea* é dividida em 7 gêneros - *Anthodon*, *Curvea*, *Elachyptera*, *Hippocratea*, *Prionostemma*, *Pristimera*, *Semialarium*, - e *Hippocratea sen. strict.* se torna monotípico ) (CRONQUIST, 1981).

Neste trabalho foram adotados os sistemas de classificação mais atuais, como TAKHTAJAN, 1997; APG, 1998 e JUDD et al., 1999; que baseando-se em caracteres morfológicos e moleculares reconhecem o grupo como subfamília Hippocrateoideae de Celastraceae. Em relação aos gêneros, foi adotado o conceito SMITH (1940) que aceita a subdivisão de *Hippocratea* e *Salacia* em gêneros menores.

As Hippocrateoideae são constituídas na sua maioria por lianas de caule revoluto ou às vezes arbustos ou árvores. As folhas são geralmente opostas com estípulas pequenas e lâminas simples. As inflorescências são geralmente axilares, fasciculadas ou cimosas; as flores são bissexuais, usualmente com 5 pétalas e 5 sépalas e disco extra-estaminal bem desenvolvido; geralmente com 3 estames, ou raras vezes 4, 5 ou 6 com anteras tendo 2 lojas confluentes; quase sempre possuem 1 pistilo com ovário 3-locular, placentação axilar mais ou menos apical, óvulos em número de 2-14 em cada lóculo, estilete curto ou faltando. Possuem fruto seco trilobado e deiscente com sementes aladas, ou drupas indeiscentes de exocarpo crustáceo com sementes anguladas, todas desprovidas de endosperma ( SMITH & ROBINSON, 1971 ).

Várias espécies têm algum valor econômico como as do gêneros *Peritassa*, *Tontelea* e *Salacia* que possuem polpa comestível ao redor da semente, enquanto *Hippocratea volubilis* possui sementes comestíveis e *Pristimera celastroides* é amplamente usada na América Central como inseticida ( SMITH, 1940 ). Além disso, algumas espécies têm se mostrado promissoras na extração de princípios ativos de importância farmacêutica, como é o caso da pristimerina, substância antimicrobiana e antineoplásica isolada de *Prionostemma aspera* (LIMA *et al.* , 1969 ). A casca de *Hippocratea excelsa* (= *Hemiangium excelsum* ≡ *Semialarium mexicanum*) possui atividade anti-inflamatória (PEREZ *et al.*, 1995). E o extrato das raízes de *Salacia madagascariensis* tem atividade antimalárica (GESSLER *et al.*, 1995 ).

No Brasil, poucos estudos taxonômicos têm sido realizados com as Hippocrateoideae, destacando-se a Flora Ilustrada Catarinense (SMITH & ROBINSON, 1971). Revisão da subfamília para a região neotropical e floras regionais estão sendo levadas a cabo pelo Prof. Julio A. Lombardi do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os estudos anatômicos desenvolvidos com espécies das Hippocrateoideae são escassos. Além das descrições apresentadas por SOLEREDER (1908) e METCALFE & CHALK (1979) que reuniram caracteres anatômicos de relevância taxonômica nas principais famílias das dicotiledôneas, podem ser citados os

trabalhos de DEN HARTOG et al. (1978) que descreveram os caracteres epidérmicos foliares de 89 espécies de Celastraceae; OSORNIO & ENGLEMAN (1993; 1994) que estudaram a anatomia do desenvolvimento das sementes de quatro espécies de *Hippocratea s.l.*; MENNEGA (1997) que descreveu a anatomia do lenho da subfamília, e FERNANDEZ et al. (1998) que desenvolveram estudos anatômicos dos órgãos vegetativos de *Hippocratea excelsa* (= *Hemiangium excelsum* = *Semialarium mexicanum*).

Os dados anatômicos dos órgãos vegetativos das plantas servem como critérios adicionais podendo ser usados para resolver problemas taxonômicos (METCALFE & CHALK, 1983); e como exemplo, dentro da própria subfamília, tem-se o trabalho de SMITH & ROBINSON (1971) no qual foram usados caracteres da epiderme das espécies de Hippocrateoideae ocorrentes em Santa Catarina como critério adicional na definição das espécies.

Os caracteres anatômicos podem ser úteis para a sistemática de várias maneiras. Podem capacitar a identificação de material fragmentar, podem ser usados na identificação preliminar de material a ser incluído em herbário quando os caracteres morfológicos externos não são suficientes e, finalmente, podem indicar as tendências evolutivas e relações entre os taxa. BAILEY (1951 *apud* SIVARAJAN & ROBSON, 1991), METCALFE (1954, 1961 *apud* SIVARAJAN & ROBSON, 1991) e DICKISON (1975) têm recorrido longamente sobre os possíveis usos das características anatômicas no estudo da filogenia e classificação das plantas.

A folha é anatomicamente, o órgão mais variável das angiospermas (CARLQUIST, 1961, *apud* SIVARAJAN & ROBSON, 1991) e tem fornecido auxílios valiosos para a taxonomia. Caracteres epidérmicos como a estrutura cuticular, o tipo de estômato e o formato das células epidérmicas por exemplo, têm demonstrado ter grande valor na taxonomia de vários taxa. Pode-se separar monocotiledôneas e dicotiledôneas por estes caracteres, e em um nível mais inferior, é possível distinguir espécies proximamente relacionadas.

Além dos caracteres da epiderme, o tipo de mesófilo, os padrões de ocorrência de esclerênquima, a presença ou ausência de esclereídes e cristais, os

padrões de venação dentre outros, podem ser úteis nos estudos taxonômicos. KOYAMA (1967) discutiu a significância taxonômica da estrutura foliar na tribo Sclerieae das Cyperaceae e concluiu que os caracteres epidérmicos da lâmina foliar são úteis para delimitações genéricas, ao passo que os caracteres do mesófilo possuem valor filogenético. GOVINDARAJALU (1974) estudou vários grupos de ciperáceas e elaborou uma chave utilizando caracteres anatômicos foliares para identificação de várias espécies de *Fuirena* e *Cyperus*. FRANCESCHINELI & YAMAMOTO (1993) utilizaram diferentes tipos de esclereídes para distinguir 6 espécies de *Simarouba*. FONTENELLE et. al. (1994) encontraram características anatômicas, como a presença de determinados tipos de tricomas e o padrão das paredes anticlinais das células epidérmicas, que possibilitaram a elaboração de uma chave capaz de distinguir as 11 espécies de *Eugenia* estudadas.

A microscopia eletrônica de varredura tem, por sua vez, auxiliado, consideravelmente, na resolução de problemas taxonômicos mediante a análise da micromorfologia de superfície das folhas. BARTHLOTT (1981), após analisar cerca de 5000 espécies de plantas com sementes, propôs a aplicação taxonômica dos caracteres da superfície epidérmica dividindo estes caracteres em quatro categorias: o arranjo ou padrão celular; o formato das células; o relevo das paredes celulares externas, causado principalmente por estriações cuticulares; e as secreções epicuticulares, ou seja cêras e substâncias relacionadas. Caracteres micromorfológicos, analisados em microscopia eletrônica de varredura, como a ocorrência de estrias e dobras epicuticulares, associados à análise em microscopia de luz auxiliaram na distinção das espécies de Myrtaceae estudadas por FONTENELLE et. al. (1994).

Portanto, com base nas divergências taxonômicas acerca da subfamília Hippocrateoideae, e na comprovada importância dos estudos anatômicos na resolução de problemas taxonômicos, propõe-se a caracterização da anatomia e micromorfologia foliar de espécies de oito gêneros de Hippocrateoideae ocorrentes no sudeste do Brasil - *Anthodon*, *Cheiloclinium*, *Elachyptera*, *Hippocratea*, *Peritassa*, *Pristimera*, *Salacia* e *Tontelea*. Tal caracterização, tem como objetivo selecionar caracteres anatômicos que possam subsidiar a taxonomia dos diferentes

gêneros, além de contribuir com possíveis características para a identificação das espécies.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS:

Foram estudadas 13 espécies representantes de oito gêneros de Hippocrateoideae - *Anthodon* (2 sp.), *Cheilochlinium* (11 sp.), *Elachyptera* (7 sp.), *Hippocratea* (3 sp.), *Peritassa* (13 sp.), *Pristimera* (24 sp.), *Salacia* (+/- 200 sp.) e *Tontelea* (31 sp.) - que ocorrem na região sudeste do país. As espécies estudadas foram: *Anthodon decussatum*, *Cheilochlinium cognatum*, *C. serratum*, *Elachyptera micrantha*, *Hippocratea volubilis*, *Peritassa flaviflora*, *P. mexiae*, *Pristimera nervosa*, *Salacia crassifolia*, *Tontelea divergens*, *T. fluminensis*, *T. leptophylla* e *T. miersii*. O estudo anatômico das espécies foi realizado em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura.

O material vegetal utilizado neste estudo foi obtido em trabalhos de campo realizados no Parque Estadual do Rio Doce, localizado nos municípios de Marliéria, Dionísio e Timóteo - M.G. (19°41'-30'S X 42°38'-48° 28W); na Estação Ecológica da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada no *Campus* da UFMG, em Belo Horizonte - M.G. (19°52'10"S X 43°58'20"W); no Parque Estadual do Rio Preto, localizado no município de São Gonçalo do Rio Preto - M.G. (18°05-08'S X 43°20-22' W); e na Reserva Particular do Patrimônio Nacional do Galheiro, localizada no município de Perdizes - M.G. (19°12-13' S X 47°08-09' W).

Com o objetivo de checar a variação dos caracteres anatômicos em diferentes habitats, foram utilizadas (quando possível) amostras provenientes de duas outras localidades distintas para cada uma das treze espécies estudadas. Para tanto, foram utilizadas amostras retiradas de exsicatas provenientes do Herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB).

Foram analisadas folhas completamente expandidas provenientes de nós medianos de ramos em início de crescimento secundário. As amostras retiradas da porção mediana do pecíolo e da lâmina foliar foram fixadas em F.A.A.<sub>70</sub> (50 ml de Formaldeído 37%, 50 ml de Ácido acético glacial e 900ml de Álcool etílico 70%) (JOHANSEN, 1940). Na lâmina foliar, foram amostradas a região da nervura

principal, a região entre a nervura principal e a margem, e a margem propriamente dita. Os espécimes testemunhas foram herborizados e incluídos no acervo do Herbário do Departamento de Botânica, ICB-UFMG (BHCB). Todas as amostras analisadas com respectivo coletor, número de coleta, número de registro no acervo do BHCB e descrição do local da coleta estão discriminados na Tabela 1.

Para a confecção de lâminas permanentes, as porções do limbo e do pecíolo, fixadas em F.A.A. 70 foram estocadas em álcool 70%, posteriormente desidratadas em série butílica (JOHANSEN, 1940) e incluídas em parafina histológica. Cortes transversais e longitudinais, do limbo e do pecíolo, foram efetuados em micrótomo rotativo LEICA (modelo RM 2155), corados em Fucsina Básica e Azul de Astra, sendo posteriormente montados segundo técnicas usuais de anatomia vegetal (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Para estudo das características da epiderme, amostras da região mediana do limbo foram submetidas a dissociação das epidermes utilizando uma solução 1:1 de Ácido Acético Glacial e Peróxido de Hidrogênio P. A., em estufa a 40-60 °C, por cerca de 12 horas (KRAUS & ARDUIN, 1997). Posteriormente, com o auxílio de um pincel, as epidermes eram separadas, lavadas várias vezes, antes da coloração com Fucsina Básica (3 minutos) e Azul de Astra (2 minutos), e montadas, entre lâmina e lamínula, utilizando gelatina glicerinada. Para a caracterização e denominação do tipo de estômatos das espécies de Hippocrateoideae estudadas foram usadas as definições propostas por DEN HARTOG et al. (1978).

Foram obtidos ainda, macerados da região mediana da lâmina e do pecíolo utilizando o método de Jeffrey (FOSTER, 1949) que consiste no uso de uma solução 1:1 de Ácido Nítrico a 10% e Ácido Crômico a 10%. O material foi deixado nesta solução até que perdesse sua consistência e, posteriormente, usando um peneira fina para evitar a perda excessiva de material, era lavado, macerado com um bastão de vidro, corado com Fucsina Básica e Azul de Astra e montado em gelatina glicerinada.

Para a reidratação, o material proveniente de exsiccatas foi O material era fervido por 5 minutos em água com de algumas gotas de detergente comercial e glicerina P.A., e deixado em temperatura ambiente para esfriar (SMITH & SMITH,

1942). Quando frio, caso o material vegetal não estivesse completamente submerso o processo de fervura era repetido até a sua total submersão. As folhas eram então, colocadas em uma solução de Hidróxido de Potássio 2%, a temperatura ambiente, por pelo menos 2 horas para que o material se distendesse. Posteriormente, a solução de Hidróxido de Potássio 2% era descartada e substituída por água destilada que deveria ser trocada pelo menos 3 vezes com intervalos de 1 hora entre cada troca.. Após esta lavagem em água destilada, as amostras eram progressivamente desidratadas a partir de Álcool Etilico 10% até a sua estocagem final em Álcool Etilico 70%, com intervalos de 30 minutos para cada troca.

As amostras reidratadas foram submetidas ao mesmo padrão de amostragem citado para o material fixado. Os cortes foram feitos em micrótomo de mesa, clarificados com água sanitária comercial 20%, corados com Fucsina e Azul de Astra e montados em gelatina glicerinada, uma vez que se trata de um material já fragilizado pela prensagem e que, em geral, não fornece resultados satisfatórios quando submetido ao processamento usual para a inclusão em parafina e montagem de lâminas permanentes.

As análises anatômicas e a documentação fotográfica referentes a microscopia de luz foram realizadas em fotomicroscópio Olympus AX 70 com sistema U-Photo.

As amostras da lâmina foliar destinadas a microscopia eletrônica de varredura possuíam aproximadamente  $0,5 \text{ cm}^2$ , e foram fixadas inicialmente em F.A.A.<sub>70</sub>. Após a desidratação do material em série etílica progressiva, procedeu-se a secagem em ponto crítico, utilizando CO<sub>2</sub> em um equipamento BALZERS (modelo CPD 020). Depois de totalmente seco, o material foi afixado em um suporte próprio usando fita adesiva dupla fase e cola de prata. Para a cobertura metálica com ouro, foi usado o processo de pulverização catódica em equipamento BALZERS (modelo FDU 010). A observação e a documentação fotográfica foram realizadas no microscópio JEOL (modelo T200) do Departamento de Fitopatologia da UFV.







### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. *Anthodon decussatum***

O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada com cutícula definida (Fig. 1). Na amostra A. Salino 3767 (coletada em Jequeri - MG, área a ser inundada da Usina de Providência, floresta ciliar, encosta) ocorreram lenticelas isoladas havendo formação de periderme restrita apenas à região da lenticela (Fig. 2). O parênquima cortical é constituído por células poligonais, de tamanho variado, com paredes levemente espessadas e que contêm drusas (Figs. 1 e 3). Circundando externamente o sistema vascular existem grupos de fibras alongadas (Fig.4), com paredes espessas e não muito lignificadas, que puderam ser visualizadas isoladamente a partir da análise de macerados.

O sistema vascular do pecíolo é colateral e possui a conformação de um arco com as extremidades convolutas (Fig. 5). As células do xilema apresentam arranjo radial em relação ao órgão com o protoxilema interno e raios parenquimáticos bastante nítidos. Ocorrem drusas dispersas também no parênquima associado ao floema (Fig. 4). No parênquima interno ao sistema vascular do pecíolo, observou-se a presença de grãos de amido mas, apenas na amostra J. A. Lombardi 3190 (coletada em Perdizes - MG, Reserva Particular do Patrimônio Nacional do Galheiro, CEMIG, mata decídua) (Fig. 6).

Na nervura principal, as epidermes se mantêm uniestratificadas e com cutícula definida, destacando a ocorrência de estômatos na epiderme adaxial (Figs. 7 a 9). No parênquima da nervura ocorrem drusas dispersas como observado no pecíolo. O sistema vascular assume a conformação de dois arcos: um arco maior abaxial e um arco menor adaxial, sendo que em cada um dos arcos vasculares o xilema é interno e o floema é externo, e delimitando o floema de ambos os arcos existem calotas espessas de esclerênquima (Fig. 7 e 10). No parênquima entre estes dois arcos vasculares foram vistos grãos de amido, mas como na descrição do pecíolo, somente na amostra J. A. Lombardi 3190 (Fig. 11).

Na lâmina foliar, chama a atenção, sob a epiderme adaxial a presença de uma única camada de células aclorofiladas e com dimensões maiores que as células da epiderme (Figs. 12 e 13). Por sua morfologia, é provável que se trate de uma hipoderme, mas como não foi feita análise ontogenética da folha, não se pode

precisar a sua origem meristemática. Se derivada do meristema fundamental, como no caso de uma hipoderme verdadeira; ou se derivada de divisão periclinal da protoderme, como ocorre na formação de uma epiderme múltipla.

Outro aspecto marcante na lâmina foliar desta espécie, é o fato de praticamente não haver uma diferenciação do parênquima clorofiliano em paliçádico e lacunoso (Figs. 12 e 13). Nota-se apenas uma única camada de parênquima paliçádico propriamente dito adjacente internamente à hipoderme. O parênquima lacunoso, por sua vez é bastante compacto, não formando lacunas pronunciadas. Trata-se portanto de uma folha homogênea. Ocorrem drusas dispersas pelo parênquima clorofiliano. Os estômatos são restritos à epiderme abaxial, possuindo células subsidiárias posicionadas sob as células-guarda. A cutícula na região dos estômatos forma cristas evidentes em corte transversal (Fig. 14).

A epiderme adaxial da lâmina foliar em vista frontal revela um contorno poligonal com paredes espessas e retas (Fig. 15). Na epiderme abaxial, as células têm o mesmo padrão morfológico da epiderme adaxial, porém com paredes mais delgadas. Os estômatos são paracíticos e laterocíticos; sendo que os estômatos do tipo paracítico são predominantes (Figs. 16 e 17). O número de células subsidiárias também é variável, podendo ocorrer de 2 a 5 células. Algumas vezes, é difícil definir o tipo de estômato, pois as células subsidiárias apresentam-se subdivididas.





### **3.2. *Cheiloclinium cognatum***

No momento da fixação e processamento das amostras deste gênero, quando fragmentos eram seccionados utilizando lâmina de barbear, foi observada a presença de uma substância pegajosa tanto no pecíolo quanto na lâmina foliar.

A epiderme do pecíolo é uniestratificada porém, suas células possuem a parede periclinal externa bastante espessa e mostram maior afinidade pelo corante Azul de Astra dando a impressão de que se trata de uma epiderme secretora, talvez

associada à secreção de mucilagem (Fig. 18). Ocorrem lenticelas isoladas havendo formação de periderme restrita à região da lenticela (Fig. 19). O parênquima cortical é formado por células com paredes espessas contendo drusas que são mais abundantes nas camadas mais externas. Nas camadas mais internas do córtex, além das drusas, ocorrem monocristais de formato rombóide ou prismático (Figs. 20 e 21).

No córtex do pecíolo, estão presentes ainda braquiesclereídes isolados, que possuem parede lignificada e bastante espessa (Fig. 22). Estes braquiesclereídes são mais abundantes e facilmente visualizados na porção mais distal do pecíolo.

Externo e circundante ao sistema vascular há ocorrência de esclerênquima, constituído por células com paredes tipicamente espessadas (Fig. 23). O sistema vascular possui a conformação de um arco com as extremidades convolutas sendo que o feixe é colateral (Fig. 25). As células do xilema apresentam arranjo radial em relação ao órgão, com o protoxilema interno e metaxilema externo. Ocorrem drusas dispersas também no parênquima associado ao floema (Fig. 24) e no parênquima interno ao sistema vascular.

Na nervura mediana, a epiderme uniestratificada tem aspecto secretor e parede periclinal externa espessa. No parênquima da nervura ocorrem poucas drusas dispersas, sendo que nas camadas mais internas próximo ao sistema vascular são vistos alguns monocristais (Fig. 27 e 29). O sistema vascular assume uma conformação circular, com xilema interno e floema externo, circundado por uma bainha esclerenquimática (Fig. 26).

Na lâmina foliar, a epiderme adaxial apresenta um tipo de espessamento desigual da parede periclinal externa bastante peculiar. Devido a este espessamento irregular ou desigual, podem ser vistas porções citoplasmáticas entre as depressões da parede periclinal externa - contrafortes (Fig. 30). A folha é dorsiventral sendo o parênquima paliçádico formado por apenas uma camada de células e o parênquima lacunoso constituído por várias camadas que formam lacunas pronunciadas (Fig. 28). Circundando as nervuras laterais existem bainhas cristalíferas de monocristais prismáticos (Fig. 29).

A epiderme adaxial, em vista frontal, revela paredes espessas e contornos ondulados. De acordo com o ajuste focal, pode-se visualizar pequenos círculos brilhantes, semelhantes a "poros", que correspondem às áreas onde há projeção do citoplasma sendo, portanto, resultado do espessamento desigual da parede periclinal externa (Figs. 32 e 33).

As células da epiderme abaxial, em vista frontal, também apresentam contorno ondulado e são um pouco menores e mais alongadas que as da epiderme adaxial. Os estômatos estão restritos à face abaxial da lâmina e possuem as células subsidiárias em um nível mais interno ao nível das demais células epidérmicas, ficando quase que totalmente submersas sob as células-guarda (Fig. 31). Os estômatos são ciclocíticos com cerca de 4-5 células subsidiárias, mas é preciso atenção ao se analisar o tipo de estômato desta espécie, uma vez que as células subsidiárias se apresentam em um nível interno à epiderme e completamente submersas sob as células-guarda. Dessa forma, em vista frontal, só é possível a visualização de uma pequena porção das paredes das células subsidiárias por transparência sob a epiderme, o que pode induzir a confusão com o tipo anomocítico (Figs. 35, 36 e 37).

### **3.3. *Cheiloclinium serratum***

Esta espécie é muito semelhante à *Cheiloclinium cognatum*, como era esperado já que pertencem ao mesmo gênero. Assim, serão descritos apenas os caracteres distintivos entre as duas espécies.

No córtex do pecíolo não ocorrem monocristais e também estão ausentes os braquiesclereídes vistos em *C. cognatum*. Ao redor do sistema vascular do pecíolo, não se observa esclerênquima, como na espécie anterior, mas abundantes laticíferos

de conteúdo floculoso e de coloração amarronzada, localizados também na zona mais externa do córtex (Figs. 39, 40 e 41).

Internamente à epiderme da nervura principal estão presentes cerca de três camadas de parênquima clorofiliano (ausentes em *C. cognatum*), sendo que na camada mais externa e subepidérmica as células se organizam em paliçada. O parênquima da nervura possui drusas, mas os monocristais externos ao sistema vascular (vistos em *C. cognatum*) estão ausentes. O sistema vascular da nervura principal assume a conformação de dois arcos, sendo um arco maior abaxial e um arco menor adaxial com xilema interno e floema externo. Estes dois arcos vasculares são limitados externamente por calotas de esclerênquima (Figs. 42, 43 e 44).

O parênquima clorofiliano da lâmina foliar possui cerca de 2-3 camadas de parênquima paliçádico, em contraste com apenas uma camada em *C. cognatum*. Além disso, ocorrem drusas dispersas pelo parênquima clorofiliano que foram ausentes em *C. cognatum*. Ao redor das nervuras laterais, ao invés de bainha cristalífera como em *C. cognatum*, ocorrem laticíferos (Figs. 46 e 47).

E finalmente, na epiderme abaxial em vista frontal desta espécie, as células subsidiárias são mais visíveis uma vez que não são totalmente submersas às células-guarda, podendo-se determinar com maior nitidez o tipo de estômato como ciclocítico, com número de células subsidiárias também variando de 4-5 (Figs. 49, 52 e 53).











#### **3.4. *Elachyptera micrantha***

O pecíolo possui epiderme uniestratificada com cutícula definida (Fig. 54). As amostras analisadas não apresentaram lenticelas, nem qualquer tipo de desenvolvimento de periderme. As células do parênquima cortical apresentam paredes relativamente espessas, formato poligonal e tamanho variado. Chama a atenção a abundante presença de drusas e monocristais dispersos pelo córtex (Fig. 55). Mais internamente e circundante ao sistema vascular, ocorrem grupos de fibras

com paredes não muito lignificadas. Nesta mesma região, são vistos esclereídes isolados, que com a análise de macerados foi confirmado serem braquiesclereídes. O sistema vascular possui a conformação de um arco com as extremidades convolutas sendo que o feixe é colateral (Fig. 56).

Na região mediana a nervura principal possui a epiderme uniestratificada. Interno à epiderme ocorrem 2-3 camadas de células parenquimáticas, e em seguida cerca de 2 camadas de parênquima clorofiliano paliçádico. Monocristais dispersos são vistos no parênquima da nervura. O sistema vascular assume a conformação de um arco simples, com xilema interno e floema externo e espessa calota de esclerênquima abaxial ao arco vascular (Figs. 57 e 58).

A epiderme da lâmina foliar é monoestratificada, com cutícula bem definida e possui monocristais. Nesta espécie, o mesófilo é isobilateral. Ocorrem 2-3 camadas de parênquima paliçádico adaxiais, várias camadas de parênquima lacunoso com suas lacunas pronunciadas e 1 camada de parênquima paliçádico abaxial. Estão presentes monocristais na região do parênquima paliçádico adaxial (Figs. 59 e 60).

A epiderme adaxial, em vista frontal, revela células com paredes espessadas e contorno reto. É marcante a presença de idioblastos cristalíferos contendo monocristais epidérmicos menores que as demais células epidérmicas distribuídos em duplas ou pequenos grupos de células. Na epiderme abaxial as células apresentam o mesmo aspecto geral, porém são um pouco menores. Idioblastos cristalíferos estão presentes em maior número e ocorrem estômatos laterocíticos e ciclocíticos com cerca de 4-7 células subsidiárias (Figs. 62, 64 e 65).

Ainda na epiderme abaxial, em vista frontal, chama a atenção a presença de áreas que se coram mais fortemente, onde as células são menores, dando a impressão que estão se dividindo. As vezes, no centro destas áreas ocorre um rompimento da epiderme. Aparentemente estas "alterações epidérmicas" estão presentes onde, anteriormente, havia um estômato pois, algumas vezes, na região central pode-se ainda distinguir as células-guarda (Fig. 65).





### **3.5. *Hippocratea volubilis***

No momento da fixação e processamento das amostras desta espécie, foi observada a presença de substância pegajosa, tanto no pecíolo quanto na lâmina foliar, em menor abundância que o observado nas amostras de *Cheiloclinium*.

O pecíolo possui epiderme uniestratificada, havendo lenticelas isoladas com formação de periderme restrita à região da lenticela. O parênquima cortical é formado por células poligonais a arredondadas, neste tecido são vistas drusas dispersas (Figs. 66 e 67). Nas camadas mais internas do córtex, próximo ao sistema vascular e circundante a ele, ocorrem grupos de fibras com parede não muito

espessa, observadas também na análise dos macerados. E nesta região, junto às fibras, estão presentes laticíferos com conteúdo floculoso e acinzentado. O sistema vascular possui a conformação de um arco com as extremidades convolutas sendo que o feixe é colateral (Figs. 68 a 71).

As epidermes da nervura principal são unisseriadas com cutícula evidente. Nesta espécie a epiderme adaxial da nervura tem estômatos. No parênquima da nervura ocorrem drusas dispersas. O sistema vascular assume a conformação de um arco colateral mais aberto que o arco vascular do pecíolo. No parênquima associado ao floema podem ser evidenciadas drusas. Na região do floema ocorrem também laticíferos. Estão presentes ainda, 2 calotas de esclerênquima delimitando o sistema vascular da nervura, sendo uma maior abaxial e uma menor adaxial (Figs. 72 a 75).

Na lâmina foliar, as epidermes são formadas por uma camada de células tabulares e subjacente a epiderme adaxial há uma camada de células diferenciadas, com dimensões bem maiores que as células epidérmicas que provavelmente seja uma hipoderme. Internamente à hipoderme existem 1-2 camadas de parênquima paliádico. O parênquima lacunoso é constituído por várias camadas de células que não chegam a formar grandes lacunas entre si. São vistas drusas dispersas no parênquima clorofiliano. Associados às nervuras laterais novamente estão presentes laticíferos (Figs. 76 a 79).

As células da epiderme adaxial, observadas em vista frontal, revelam paredes espessas e contornos retos. Na epiderme abaxial por sua vez, as células são um pouco menores, possuindo contorno reto a levemente curvado. Os estômatos são do tipo laterocítico, com cerca de 2-5 células subsidiárias que são parcialmente submersas sob as células-guarda (Figs. 80 a 83).









### 3.6. *Peritassa flaviflora*

O pecíolo possui epiderme uniestratificada. Na amostra J. A. Lombardi 3929 (coletada no Parque Estadual do Rio Doce, localizado nos municípios de Dionísio, Marliéria e Timóteo - MG, mata atlântica) ocorrem lenticelas havendo desenvolvimento de periderme restrita a estas áreas. No córtex ocorrem drusas e braquiesclereídes dispersos. Podem ser vistas drusas também no parênquima associado ao floema (Figs. 84 a 89). O sistema vascular possui a conformação de um arco com as extremidades convolutas e o feixe é colateral.

A epiderme da nervura é formada por uma única camada de células sendo que, algumas delas, apresentam drusas em seu conteúdo. Também podem ser visualizadas drusas dispersas pelo parênquima da nervura e no parênquima associado ao floema. O sistema vascular, nesta região da nervura principal, assume uma conformação contínua e quase completamente circular. Delimitando externamente este círculo vascular existe uma bainha esclerenquimática com cerca de 4-5 camadas celulares (Figs. 90 e 91).

Na lâmina foliar a epiderme é uniestratificada e, como observado nas espécies de *Cheiloclinium*, há ocorrência do espessamento desigual nas paredes periclinais externas das células da epiderme adaxial. Assim, nestas células a parede periclinal externa possui saliências e depressões, ocorrendo penetrações citoplasmáticas nas depressões da parede periclinal externa. Subjacentes à epiderme e aderidos a ela existem esclereídes alongados, com paredes bastante espessas e que não chegam a formar ramificações possuindo apenas algumas protuberâncias em sua extensão (Fig. 97). Estes esclereídes atravessam o mesofilo passando pelas 2 camadas de parênquima paliçádico e atingindo, no máximo, a metade da espessura do parênquima lacunoso. Ou seja, os esclereídes não atravessam completamente o mesofilo e assim, nunca alcançam a epiderme abaxial. Novamente podem ser vistas drusas nas epidermes e dispersas no parênquima clorofiliano (Figs. 92 a 95).

A epiderme adaxial em vista frontal apresenta um contorno bastante sinuoso e paredes não muito espessas. É marcante a presença de idioblastos cristalíferos epidérmicos contendo drusas, estes idioblastos são menores que as

demais células epidérmicas e estão distribuídos em duplas ou pequenos grupos de células. Podem ser vistas regiões da epiderme cujas células apresentam paredes mais espessas sendo, inclusive, lignificadas. São nestas células epidérmicas que os esclereídes que atravessam o mesofilo estão aderidos (Figs. 96, 98 e 99).

A visão frontal da epiderme abaxial revela o mesmo tipo de contorno sinuoso das células e padrão de distribuição das drusas observados na epiderme adaxial. Porém, as células são um pouco menores e possuem paredes mais espessas. Os estômatos são do tipo ciclocíticos com cerca de 5-6 células subsidiárias (Fig. 100 e 101).

### **3.7. *Peritassa mexiae***

De maneira geral, esta espécie compartilha vários caracteres anatômicos com *Peritassa flaviflora*. Assim, serão descritos apenas os aspectos da anatomia em que estas duas espécies diferem.

O sistema vascular do pecíolo, desta espécie, também apresenta uma conformação geral de um arco com as extremidades convolutas. Contudo, as extremidades deste arco não são tão unidas como em *P. flaviflora*. Além disso, o arco vascular de *P. mexiae* apresenta reentrâncias em todo o seu contorno. Estas diferenças anatômicas fazem com que o pecíolo das duas espécies sejam facilmente distintos. Foram vistas lenticelas apenas na amostra J. A. Lombardi 1305 (coletada no Parque Estadual do Rio Doce, localizado nos municípios de Dionísio, Marliéria e Timóteo - MG, mata atlântica) (Figs. 102 a 107).

A epiderme da nervura principal nas amostras J. A. Lombardi 1305 e L. Rossi et al. 1068 (coletada em Itains, Iguape - S.P, Estação Ecológica da Juréia, Trilha da Cachoeira do Salto, mata atlântica) não apresentam drusas, mas na amostra J. Gomes 285 (coletada em Caratinga - MG, Estação Biológica de Caratinga, mata atlântica) elas estão presentes como *P. flaviflora*. O sistema vascular da nervura também possui uma conformação contínua e quase completamente circular. Porém, em *P. mexiae* o sistema vascular apresenta várias

reentrâncias em toda sua extensão, que não foram observadas no sistema vascular da nervura de *P. flaviflora* (Fig. 108).

É na lâmina foliar que pode ser vista a principal diferença anatômica entre estas duas espécies. Os esclereídes alongados presentes no mesofilo de *P. flaviflora*, também estão presentes, mas em *P. mexiae* estes esclereídes são mais longos, não apresentam protuberâncias (Figs. 118 e 119) e, principalmente, atravessam todo o mesofilo chegando, inclusive, a atingir a epiderme abaxial. Deve-se esclarecer que não são todos os esclereídes que alcançam a epiderme abaxial. Este é o contraste com *P. flaviflora*, cujos esclereídes da lâmina nunca atingem a epiderme abaxial (Figs. 109 a 113).

A epiderme da lâmina, quando analisada em vista frontal, não apresenta drusas nas amostras J. A. Lombardi 1305 e L. Rossi et al. 1068, mas na amostra J. Gomes 285 estão presentes como em *P. flaviflora* (Figs. 114 a 117).











### **3.8. *Pristimera nervosa***

A epiderme do pecíolo é uniestratificada e possui idioblastos que contém monocristais. Foram observadas lenticelas apenas na amostra J. A. Lombardi 3346 (coletada no Parque Estadual do Rio Doce, localizado nos municípios de Dionísio, Marliéria e Timóteo - MG, mata atlântica) havendo desenvolvimento de periderme restrita a essa região. O parênquima cortical é formado por células poligonais arredondadas e com paredes relativamente espessas. Estão presentes neste tecido abundantes drusas e também monocristais. Mais internamente, próximo ao sistema vascular ocorrem grupos de células parenquimáticas menores e que possuem paredes lignificadas (Figs. 120 a 128). O sistema vascular do pecíolo tem a conformação de um arco com as extremidades quase unidas e ainda possui dois feixes adaxiais isolados. A organização dos tecidos vasculares permanece colateral.

A epiderme na região da nervura principal é uniestratificada, havendo porém, uma camada celular sob a epiderme adaxial formada por células um pouco menores e dispostas de maneira mais justaposta que as células do tecido parenquimático da nervura, não chegando, no entanto, a se constituir numa hipoderme típica. Ocorrem ainda algumas células epidérmicas menores que possuem monocristais em seu conteúdo, e alguns estômatos dispersos apenas na epiderme adaxial da nervura. Nas células do parênquima da nervura ocorrem drusas dispersas. O sistema vascular possui a conformação de um arco colateral bem aberto. Delimitando o sistema vascular, ocorrem duas calotas de esclerênquima; uma menor, externa ao xilema e uma maior e mais consistente, externa ao floema (Figs. 129 a 133).

Na análise da lâmina foliar, observa-se que a epiderme possui idioblastos com monocristais. Chama a atenção a presença de uma hipoderme bem distinta formada por células maiores e com paredes mais delgadas que as células epidérmicas. Ocorrem cerca de 2-3 camadas de parênquima paliçádico e várias camadas de parênquima lacunoso cujo arranjo celular deixa espaços intercelulares. Por todo o parênquima clorofiliano podem ser vistas drusas dispersas.

A epiderme adaxial em vista frontal evidencia o contorno reto a levemente ondulado de suas células. É marcante a presença de idioblastos cristalíferos

epidérmicos contendo monocristais, estes idioblastos são menores que as demais células epidérmicas e estão distribuídos em duplas ou pequenos grupos de células.

Na epiderme abaxial ocorre o mesmo padrão de contorno das paredes e disposição dos monocristais. Os estômatos do tipo laterocítico típico com 2-5 células subsidiárias estão presentes apenas na epiderme abaxial e possuem células-guarda pequenas com células subsidiárias maiores e parcialmente submersas sob as células-guarda (Figs. 134 a 136).







### **3.9. *Salacia crassifolia***

O pecíolo e a lâmina foliar desta espécie são bastante enrijecidos devido a presença de áreas suberizadas que conferem uma morfologia externa bastante irregular ao pecíolo e à abundância de esclereídes que conferem dureza e resistência ao material.

Analisando-se o corte transversal do pecíolo, percebe-se uma coloração alaranjada ("cor de tijolo") por todo o corte, seja como impregnação nas paredes ou como conteúdo celular, que sugere a presença de compostos fenólicos. Mas não foram feitos testes histoquímicos para confirmar esta hipótese. A epiderme apresenta-se monoestratificada com grossa camada cuticular. O córtex é formado por células compactamente arrançadas, com paredes espessas e bastante conteúdo celular (provavelmente compostos fenólicos). Em algumas regiões do córtex ocorre o desenvolvimento de periderme, o felogênio se desenvolve mais ou menos no meio do córtex mas, não é contínuo em todo o diâmetro do pecíolo, de forma que atravessa tangencialmente o pecíolo isolando assim, áreas mais externas do córtex e da epiderme. Este processo de formação localizada da periderme confere ao pecíolo uma morfologia externa bastante irregular. Ainda no parênquima cortical podem ser vistas drusas dispersas e braquiesclereídes, que foram melhor visualizados isoladamente a partir de macerados (Figs. 141 a 146).

Circundando o sistema vascular do pecíolo ocorrem grupos de células parenquimáticas lignificadas. O sistema vascular nesta espécie, tem a conformação de um arco com as extremidades invertidas e um número variável de feixes vasculares (ou traços vasculares) adaxiais. Os tecidos vasculares se dispõem com o xilema arrançado mais internamente e o floema externo e adjacente a ele. No parênquima associado ao floema podem ser vistas drusas (Fig. 143).

A nervura mediana possui epidermes unisseriadas e com cutícula espessa e bastante evidente. O parênquima da nervura é formado por células arredondadas com paredes espessadas. O sistema vascular assume a conformação geral de um arco com as extremidades quase unidas, além de uma placa vascular (com reentrâncias) adaxial. Limitando abaxialmente o arco vascular existe uma calota

esclerenquimática. Na amostra J. A. Lombardi 3013, foi visto o desenvolvimento de periderme formando estruturas semelhantes a grandes lenticelas (Figs. 144 a151).

Na lâmina foliar a epiderme é unisseriada com cutícula espessa e evidente. O caracter anatômico mais peculiar desta espécie, é a presença de esclereídes alongados, com as extremidades ramificadas (Figs. 157 e 158) que se apoiam sob as epidermes e atravessam o mesofilo, tendo como ponto de confluência as nervuras laterais. Nas regiões subepidérmicas, as extremidades ramificadas dos esclereídes se entrelaçam umas às outras formando uma camada lignificada compacta sob ambas as epidermes. Os parênquimas paliçádico e lacunoso ocupam a mesma proporção espacial no mesofilo, sendo que o parênquima paliçádico é formado por cerca de 4 camadas de células e o parênquima lacunoso possui um número maior de camadas celulares. As nervuras laterais possuem uma bainha cristalífera formada por células parenquimáticas contendo drusas. Os estômatos estão restritos à epiderme abaxial e têm as células-guarda projetadas em relação ao nível da epiderme. As células subsidiárias estão submersas sob as células-guarda e são bem maiores que elas. É bem evidente a presença de cristas cuticulares sobre as células-guarda (Figs. 152 a 156).

Na região do parênquima clorofiliano da amostra J. A. Lombardi 3013 (coletada em São Gonçalo do Rio Preto - MG no Parque Estadual do Rio Preto em vegetação do tipo cerrado), foi observada a ocorrência de um tipo de parênquima diferenciado formado por células com paredes delgadas, sem cloroplasto ou qualquer tipo de conteúdo, e apresentando um arranjo frouxo semelhante a um parênquima aquífero (Figs. 152 e 153).

Na epiderme adaxial e abaxial, em vista frontal, pode-se observar o contorno reto das células, além de se constatar que as paredes das células são espessadas. Os estômatos são do tipo ciclocítico com cerca de 4-7 células subsidiárias circundando as células-guarda (Figs. 159 e 160).







### **3.10. *Tontelea divergens***

A epiderme do pecíolo é uniestratificada, com cutícula definida. Ocorrem lenticelas isoladas, havendo desenvolvimento de periderme restrita a estas áreas. O córtex é constituído por células poligonais de tamanho variado e paredes delgadas, contendo abundantes drusas. Pode-se visualizar braquiesclereídes isolados (mais facilmente identificados em macerados) dispersos pelo córtex em meio às células parenquimáticas. Nas camadas mais internas do córtex, próximo ao sistema vascular, ocorrem pequenos grupos de esclerênquima. O sistema vascular do pecíolo se organiza formando um círculo colateral com uma placa vascular central. O parênquima associado ao floema possui drusas (Figs. 161 a 167).

A epiderme da nervura mediana é uniestratificada com cutícula definida. O parênquima clorofiliano presente logo internamente à epiderme adaxial da nervura possui duas camadas de células. O parênquima da nervura é formado por células poliédricas de paredes delgadas que se distribuem radialmente, algumas células contêm drusas. O sistema vascular, que no pecíolo possuía conformação circular com uma placa vascular central, adquire uma conformação mais ou menos triangular com uma placa central. Esta conformação geral do sistema vascular da nervura mediana sofre alterações pela saída de nervuras laterais, assim a porção triangular externa, por vezes, se mostra interrompida. Ocorrem drusas no parênquima do floema e grupos de esclerênquima ao redor do sistema vascular ( Figs. 168 a 171).

Na lâmina foliar as epidermes são monoestratificadas, com cutícula evidente formando inclusive, flanges cuticulares nas células epidérmicas. O parênquima paliçádico possui 2-3 camadas de células e o parênquima lacunoso é composto por várias camadas de células arranjadas de maneira a formar grandes

espaços intercelulares. Ocorrem drusas dispersas pelo parênquima clorofiliano. Os estômatos estão presentes apenas na epiderme abaxial. As células subsidiárias são localizadas um pouco mais internamente às células-guarda. Ocorrem cristas cuticulares externas bastante pronunciadas sobre as células-guarda (Figs. 172 e 173).

A epiderme adaxial, em vista frontal, apresenta contornos retos e as células possuem as paredes espessas. Na epiderme abaxial o contorno das células é reto a levemente ondulado e as paredes celulares são menos espessas. Os estômatos são ciclocíticos com cerca de 5-7 células subsidiárias. Chama a atenção a presença de áreas, tanto na epiderme adaxial como na abaxial, que se coram mais fortemente, onde as células são menores, dando a impressão que estão se dividindo. As vezes, no centro destas áreas ocorre o rompimento da epiderme. Na epiderme abaxial, estas estruturas são mais frequentes e, aparentam ocorrer em locais onde, anteriormente, havia um estômato pois, algumas vezes, na região central pode-se ainda distinguir as células-guarda (Figs. 180 a 183). Estas mesmas "alterações epidérmicas" foram observadas em *Elachyptera micrantha*.

### **3.13. *Tontelea fluminensis***

De maneira geral, as espécies de *Tontelea* estudadas compartilham vários caracteres anatômicos entre si. Assim, serão descritos para as demais espécies deste gênero - *Tontelea fluminensis*, *Tontelea leptophylla* e *Tontela miersii*, apenas os aspectos anatômicos distintivos entre estas espécies.

No pecíolo de *Tontelea fluminensis*, as lenticelas estão presentes como em *T. divergens*. Nas amostras J. A. Lombardi 2876 (coletada no Parque Estadual do Rio Doce, localizado nos municípios de Dionísio, Marliéria e Timóteo - MG, em vegetação de mata atlântica) e BHCB 34462 (coletada na Praia Vermelha, Urca, no Rio de Janeiro - RJ, em vegetação de mata atlântica), pode-se visualizar braquiesclereídes isolados dispersos pelo córtex em meio às células

parenquimáticas. A conformação do sistema vascular forma um arco colateral com as extremidades convolutas (Figs. 196 a 197).

Na nervura mediana ocorrem duas camadas de parênquima clorofiliano internamente à epiderme adaxial da nervura. O sistema vascular adquire uma conformação mais ou menos triangular com uma placa central. Esta conformação geral do sistema vascular da nervura mediana sofre alterações pela saída de nervuras laterais, assim a porção triangular externa, por vezes, se mostra interrompida (Figs. 199 e 200).

Na lâmina foliar desta espécie, a espessura do mesofilo é muito maior que nas demais espécies do gênero. Não foram aferidas medidas comparativas da espessura, mas pode-se estimar que a espessura do mesofilo de *T. fluminensis* seja quase duas vezes maior que a espessura do mesofilo das outras espécies do gênero. Além disso, o parênquima lacunoso ocupa a maior parte do mesofilo e seu arranjo celular forma lacunas extremamente amplas (Figs. 201 e 202).

A análise das epidermes em vista frontal, revela o mesmo padrão de contorno celular e espessura das paredes observados em *T. divergens*. Os estômatos, são do tipo anomocítico, não havendo células subsidiárias morfologicamente distintas das células epidérmicas propriamente ditas. Novamente, as "alterções epidérmicas" presentes em *T. divergens* podem ser encontradas em *T. fluminensis* (Figs. 207 a 210).

### **3.11. *Tontelea leptophylla***

No pecíolo de *T. leptophylla* não estão presentes as lenticelas observadas nas espécies anteriormente descritas. Deve-se salientar a ocorrência do mesmo tipo de braquiesclereídes presentes no córtex de *T. divergens* e *T. fluminensis* porém, para *T. leptophylla* estes esclereídes estavam presentes nas amostras S. A. P. Godoy et. al. 609 (coletada em São Paulo - SP, Parelheiros, Camping Ana Paula, trilha da mata, mata atlântica.) e H. C. de Lima et. al. 4120 (coletada em Caratinga - MG, Fazenda Montes Claros, mata atlântica), mas ausentes na amostra J. A. Lombardi

2868 (coletada no Parque Estadual do Rio Doce, localizado nos municípios de Dionísio, Marliéria e Timóteo - MG, mata atlântica). Em *T. leptophylla* o sistema vascular possui a conformação de um arco colateral com as extremidades convolutas, como em *T. fluminensis*.

Na nervura mediana não ocorre parênquima clorofiliano subepidérmico como nas espécies anteriores. O sistema vascular, que no pecíolo possuía conformação semelhante a um arco com as extremidades adaxiais invertidas, adquire uma conformação de um arco maior abaxial e 1 ou 2 feixes menores adaxiais (Fig. 176).

A análise da epiderme da lâmina em vista frontal, revela o mesmo padrão de contorno celular e espessura das paredes observados para as espécies anteriores. Os estômatos são do tipo anomocítico como em *T. fluminensis*. Estão presentes as "alterações epidérmicas" observadas nas espécies descritas anteriormente.

### **3.12. *Tontelea miersii***

No pecíolo, as lenticelas estão presentes como em *T. divergens* e *T. fluminensis*. Pode-se visualizar braquiesclereídes isolados dispersos pelo córtex em meio às células parenquimáticas, mas apenas na amostra de número BHCB 37607 (coletada no município de Laranjal - MG). O sistema vascular apresenta uma conformação semelhante à encontrada em *T. divergens*, formando um círculo com uma placa vascular central (Figs. 188 a 190).

Na nervura mediana ocorrem duas camadas de parênquima clorofiliano logo internamente à epiderme adaxial. O sistema vascular, que no pecíolo possuía conformação circular com uma placa vascular central, adquire uma conformação de um arco maior abaxial e um círculo menor adaxial. Esta conformação geral do sistema vascular da nervura mediana sofre variações pela saída de nervuras laterais (Figs. 191 e 192).

A análise da epiderme da lâmina foliar em vista frontal, revela o mesmo padrão de contorno celular e espessura das paredes observados nas outras espécies

do gênero já descritas, sendo que, em *Tontelea miersii*, similarmente a *T. divergens*, o tipo de estômato é ciclocítico com cerca de 5-7 células subsidiárias circundando as células-guarda. As "alterações epidérmicas", observadas nas espécies descritas anteriormente, também estão presentes em *Tontelea miersii* (Figs. 203 a 206).

Fica evidente a enorme semelhança anatômica entre *Tontelea miersii* e *T. divergens*. De modo geral, pode-se dizer que, anatomicamente, estas duas espécies são praticamente idênticas, variando apenas o tipo de conformação do sistema vascular da nervura mediana.















### 3.14. Microscopia Eletrônica de Varredura

Devido a intensa colonização por microrganismos epifílicos, não foi possível a visualização e análise dos caracteres anatômicos das epidermes adaxiais de nenhuma das espécies de Hippocrateoideae estudadas. As epidermes abaxiais também apresentaram, de maneira geral, abundante ocupação por estes microrganismos. Desse modo, a observação de caracteres como os padrões de deposição de cutícula e cera (se presente) ficaram prejudicados. De maneira geral pode-se dizer que a presença do epífilo é mais marcante nas espécies de mata.

Geralmente, o limite entre as células epidérmicas não está visível nesta preparação. Mas, em algumas espécies foi possível observar contornos no relevo da epiderme que indicam a forma e disposição, tanto das células epidérmicas propriamente ditas, quanto das células subsidiárias. Como exemplos pode ser citada a epiderme abaxial de *A. decussatum* (Figs. 211 e 212) onde foi possível a observação do relevo formado pelas células epidérmicas propriamente ditas; e *C. serratum*, *H. volubilis*, *P. flaviflora*, *P. mexiae*, *S. crassifolia*, *T. divergens* e *T. miersii*, nas quais o relevo das células subsidiárias é evidente (Figs. 215 e 216; 219 e 220; 221 e 222; 223 e 224; 227 a 230; 231 e 232; 235 e 236). Pode-se notar que, de modo geral, as espécies que apresentam estômatos do tipo ciclocítico apresentaram o relevo das células subsidiárias mais nítido como em *C. serratum*, *P. flaviflora*, *P. mexiae*, *S. crassifolia*, *T. divergens* e *T. miersii* (Figs. 215 e 216; 221 e 222; 223 e 224; 227 a 230; 231 e 232; 235 e 236).

Em algumas amostras, o material apresentou um certo enrugamento, indicando que provavelmente houve danos ao material vegetal, seja no momento da fixação da amostra ou mesmo durante os procedimentos de desidratação e secagem em ponto crítico. Como exemplos podem ser citadas as amostras de *C. cognatum* e *T. fluminensis* (Figs. 213 e 114; 237 e 238). Em *C. cognatum* este aspecto enrugado da epiderme também pode ser consequência do fato de que o material usado na MEV era proveniente de herbário; apesar de que, outras espécies tiveram sua

amostragem para MEV feita com material herborizado e não apresentaram este aspecto, como por exemplo *C. serratum*, *E. micrantha* e *T. miersii*.

Em *S. crassifolia*, que é uma espécie de cerrado, pode-se notar uma maior densidade de estômatos por área foliar, os estômatos são maiores em relação às outras espécies e as cristas cuticulares delimitando o ostíolo estão bastante evidentes (Figs. 227 a 230). Por outro lado, algumas espécies têm uma densidade de estômatos por área mais baixa comparativamente, como no caso de *C. cognatum*, *C. serratum*, *E. micrantha*, *P. nervosa*, *T. leptophylla* (Figs. 213 e 214; 217 e 218, 225 e 226; 223 e 224).

Apesar da dificuldade de uma perfeita visualização das superfícies epidérmicas seja por limitações impostas pelo próprio material, como a presença do epífilo ou o uso de amostras foliares provenientes de herbário, seja por falhas no processamento do material; todos os dados obtidos através da técnica de microscopia eletrônica varredura confirmaram vários dos caracteres epidérmicos observados em microscopia ótica. Quais sejam, a variação na frequência estomática; a posição dos estômatos na folha e em relação ao nível da epiderme; o tipo de estômato, através da visualização do número e disposição das células subsidiárias e a presença e variação das cristas cuticulares na região dos estômatos.











#### **4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES:**

Dados anatômicos dos órgãos vegetativos das plantas servem como critérios adicionais podendo ser usados para resolver problemas taxonômicos e conforme apresentado na introdução deste trabalho, têm sido, há várias décadas, amplamente usados no auxílio a taxonomia de vários taxa.

Alguns caracteres anatômicos observados nas Hippocrateoideae estudadas apresentam valor taxonômico e podem ser considerados como de valor diagnóstico. Dentre os dados anatômicos de valor taxonômico e diagnóstico encontrados, talvez o mais claro e direto seja a variação no padrão de conformação do sistema vascular do pecíolo.

A conformação do sistema vascular do pecíolo apresentou algumas variações entre as espécies estudadas e revelou ser um carácter fixado geneticamente pois se manteve constante em relação aos vários locais de coleta das amostras. Outro aspecto que favorece o uso taxonômico do padrão vascular do pecíolo, é o fato de ser um carácter facilmente visualizado em corte transversal. Como aparentemente não existe concordância entre os diversos autores e seus sistemas de nomenclatura para descrever o padrão vascular do pecíolo, e não havendo uma terminologia amplamente consagrada nesse sentido, optou-se por usar uma terminologia que refletisse apenas o contorno do sistema vascular não tendo nenhuma relação com processos ontogenéticos da folha.

Por analogia ao uso diagnóstico do padrão vascular do pecíolo, pode-se também atribuir valor taxonômico para a conformação vascular da nervura principal na porção mediana da folha. Nas espécies estudadas, foi observada a manutenção de determinados padrões gerais para o sistema vascular que variavam entre as espécies, mas se mantinham constantes independente do local de coleta da amostra. Deve-se contudo, levar em consideração que a saída de vascularização para nervuras laterais provoca alterações localizadas no padrão geral do sistema vascular da nervura. Assim, recomenda-se a análise de vários cortes transversais desta região da folha para se delinear seu padrão vascular eliminando-se assim possíveis enganos ocasionados pela saída de traços vasculares para as nervuras laterais.

SOLEREDER (1908) já considerava caracteres da venação e dos feixes vasculares da folha como tendo valor taxonômico, mas ressalta que, ao se usar estes caracteres com propósitos diagnósticos, é necessário certificar-se que as nervuras comparadas situam-se em posições correspondentes nas folhas sob investigação. Entretanto, com atenção a estes detalhes pode-se obter informações diagnósticas restritas, mas confiáveis.

Na região da nervura mediana, além da conformação do sistema vascular, outros caracteres anatômicos como a presença de estômatos na epiderme adaxial da nervura em *A. decussatum*, *H. volubilis* e *P. nervosa*; e a presença de parênquima clorofiliano distinto nesta região da nervura em *C. serratum*, *E. micrantha*, *T. divergens*, *T. miersii* e *T. ovalifolia*, devem ser avaliados, pois se mantiveram constantes nas diferentes amostras analisadas para cada espécie.

De acordo com METCALFE & CHALK (1979) existem numerosos exemplos de distribuição estomatal restrita ou especializada que podem servir como caracteres diagnósticos úteis devido a sua localização específica. Por exemplo, em *Saxifraga*, as várias espécies podem ser divididas em quatro grupos baseadas na distribuição estomatal. No primeiro grupo eles são confinados à superfície adaxial; no segundo grupo eles ocorrem em ambas as superfícies e nos ápices das folhas; no terceiro grupo eles são restritos às margens das folhas; e no quarto grupo eles são confinados à região mediana da superfície adaxial e às margens da superfície abaxial.

Com relação à ocorrência de estômatos na epiderme adaxial da nervura mediana para o grupo em questão, DEN HARTOG, et al. (1978), já haviam verificado a presença desta característica dentre as espécies de Celastraceae *sensu lato* examinadas por eles. Houve inclusive, concordância entre estes autores e o presente trabalho, em relação aos gêneros em que este caracter está presente.

Não foram encontrados dados na literatura que atribuíssem algum valor taxonômico à presença de parênquima clorofiliano na região da nervura mediana. Contudo, como no grupo de plantas estudado foi verificada a presença e manutenção deste caráter para as espécies anteriormente citadas, este é um dado que

não pode ser omitido, apesar da ausência de embasamento teórico na bibliografia específica.

Foram encontradas importantes variações nos caracteres epidérmicos das espécies de Hippocratoideae estudadas. SMITH & ROBINSON (1971), já utilizaram caracteres da epiderme das espécies de Hippocrateoideae ocorrentes em Santa Catarina como critério adicional na sua definição das espécies.

O trabalho de DEN HARTOG, et al. (1978) no qual os caracteres epidérmicos de 89 espécies, pertencentes a 42 gêneros de Celastraceae *sensu lato* (incluindo as Hippocrateoideae) foram descritos em detalhes foi usado como referência na definição dos tipos estomáticos encontrados no presente estudo. Nesta obra, os autores introduziram, pela primeira vez, o termo laterocítico para definir o estômato que possui 3 ou mais células subsidiárias, todas limitando as células-guarda mas nunca alcançando os seus pólos. Os autores afirmam ainda que, para as Celastraceae, os estômatos do tipo laterocítico são os mais comuns, seguidos pelos tipos paracítico e ciclocítico, e os tipos anisocítico e anomocítico são restritos a um pequeno número de gêneros e espécies. Nas espécies de Hippocrateoideae estudadas, os estômatos podem ser anomocíticos, ciclocíticos, laterocíticos ou paracíticos. As células subsidiárias se encontram no nível da epiderme; internas em relação à epiderme, chegando a estar totalmente sob as células-guarda; ou mesmo estarem projetadas em relação à epiderme como em *Salacia crassifolia*.

Ocorreram espécies que possuem cristais epidérmicos na forma de drusas ou monocristais. Estes caracteres segundo METCALFE & CHALK (1979) freqüentemente constituem caracteres diagnósticos confiáveis, especialmente quando comparados em combinação com outros caracteres. Em relação aos cristais epidérmicos, DEN HARTOG, et al. (1978) ponderam que em vários gêneros é constante a ocorrência de determinado tipo de cristal, mas existem variações no que diz respeito à freqüência das células cristalíferas. Assim, os autores sugerem que a presença das células cristalíferas pode ser usada como caracter positivo para indicar afinidade, enquanto a ausência dos cristais não é necessariamente indicativo de ausência de afinidade. Os autores sugerem ainda, afinidades entre os gêneros *Cheiloclinium*, *Peritassa*, *Salacia* e *Tontelea* de um lado; e de outro, os gêneros

*Anthodon*, *Elachyptera*, *Hippocratea*, e *Pristimera* à partir dos caracteres epidérmicos observados.

Com relação às paredes das células epidérmicas, foram observadas características anatômicas importantes tanto nas paredes anticlinais como nas paredes periclinais. O contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas variou entre reto, levemente curvado a até bastante ondulado. A presença de espessamento diferencial nas paredes periclinais externas das epidermes adaxiais de *C. cognatum*, *C. serratum*, *P. flaviflora* e *P. mexiae*, representa uma característica anatômica bastante peculiar dentro do grupo.

FONTENELLE et. al. (1994) relataram a presença destas mesmas estruturas em várias das 11 espécies de *Eugenia* estudadas e sugeriram que este aspecto anatômico pode ser útil na taxonomia destas espécies. Estes autores discutem ainda, que estas projeções e depressões da parede podem ter alguma relação com a peculiar construção das paredes das células de transferência. Neste sentido, talvez possam facilitar o transporte de água e solutos através da epiderme.

Ainda no contexto dos caracteres epidérmicos, foram observadas "alterações epidérmicas epidérmicas" em *E. micrantha* e nas quatro espécies de *Tontelea* estudadas. Estas "estruturas" ocorreram em ambas as epidermes, e consistem basicamente de áreas que se coram mais fortemente, onde as células são menores, dando a impressão que estão se dividindo. As vezes, no centro destas áreas ocorre o rompimento da epiderme. Na epiderme abaxial, estas alterações são mais freqüentes e, aparentam ocorrer em locais onde, anteriormente, havia um estômato pois, algumas vezes, na região central pode-se ainda distinguir vestígios das células-guarda. MORRETES & VENTURELLI (1985) encontraram estruturas semelhantes, presentes apenas na epiderme abaxial de *Tripodanthus acutifolius* (Lorantaceae) às quais denominaram de "lenticelas".

As autoras admitem que em virtude de sua organização não se tratam de lenticelas verdadeiras, mas de uma área súbero-lignificada que envolve a epiderme e seus estômatos e também parte do mesofilo. As autoras concluem dizendo que a escolha de uma denominação definitiva, que caracterize tal estrutura foliar só pode

ser feita a partir do momento que um maior número de famílias tenha sido analisado desse ponto de vista.

Um outro fator que talvez possa estar relacionado com estas "alterações epidérmicas", é a maciça ocupação da superfície da lâmina foliar por microrganismos epifílicos. Ou seja, estes organismos podem estar causando algum dano no tecido epidérmico e provocando este aspecto alterado.

Portanto, sugere-se que sejam feitos estudos da ontogenia foliar, além de testes histoquímicos e análises fisiológicas para se inferir a origem e a real função destas estruturas, para então se entender seu papel adaptativo e assim denominá-las de maneira mais apropriada.

Podem ser destacados também, alguns aspectos anatômicos do mesofilo que fornecem dados importantes para a taxonomia do grupo. Observou-se que para a maioria das espécies de Hippocrateoideae analisadas o mesofilo é dorsiventral. Entretanto *A. decussatum* possui o mesofilo praticamente homogêneo, não havendo muita distinção entre parênquima paliçádico e lacunoso; e *E. micrantha* possui o mesofilo isobilateral. Além disso, foi constatada a presença de uma provável hipoderme somente em *A. decussatum*, *H. volubilis* e *P. nervosa*. Tanto o tipo de diferenciação do parênquima clorofiliano, quanto a ocorrência de hipoderme têm sido úteis para a taxonomia, sendo que METCALFE & CHALK (1979) em sua obra elaboraram listas de famílias que são separadas por conter determinado tipo de arranjo do parênquima clorofiliano, bem como uma lista de famílias que contem hipoderme em suas folhas.

Foi verificada a presença de esclereídes de diferentes tipos no grupo estudado. A ocorrência de braquiesclereídes foi constatada nos pecíolos de *C. cognatum*, *E. micrantha*, *P. flaviflora*, *P. mexiae*, *S. crassifolia* e nas quatro espécies de *Tontelea*. Esclereídes alongados foram vistos na lâmina foliar de *P. flaviflora*, *P. mexiae* e *S. crassifolia*. Em *P. flaviflora* os esclereídes são alongados, não ramificados, possuem protuberâncias em sua extensão e atravessam o mesofilo sem nunca atingir a epiderme abaxial. Já em *P. mexiae* os esclereídes são mais longos que os de *P. flaviflora*, não possuem protuberâncias em sua extensão e atravessam todo o mesofilo chegando a alcançar a epiderme abaxial. E finalmente,

em *S. crassifolia* os esclereídes são alongados, com extremidades ramificadas, se apoiam sob ambas as epidermes e atravessam o mesofilo tendo como ponto de confluência a região das nervuras laterais.

FRANCESCHINELLI & YAMAMOTO (1993) estudaram a aplicação taxonômica de caracteres anatômicos para 6 espécies de *Simarouba* (Simaroubaceae) e verificaram a existência de quatro tipos de esclereídes baseados no seu formato, ramificação e distribuição dentro do mesofilo. Estes esclereídes característicos não eram influenciados pelas condições ambientais e se mostraram úteis para distinguir as espécies de interesse. Da mesma forma, no presente estudo, foram analisadas amostras de diferentes localidades e o tipo de esclereíde se manteve constante, comprovando assim seu valor taxonômico para o grupo. É possível inclusive separar *C. cognatum* que possui braquiesclereídes no pecíolo de *C. serratum*, que não os possui; bem como distinguir *P. flaviflora* de *P. mexiae* pelo tipo de esclereíde e pela sua disposição no mesofilo.

Foi observada, tanto no pecíolo quanto na lâmina foliar de algumas espécies, a presença de uma secreção pegajosa que se mostrava evidente no momento de se fragmentar o material. No caso de *C. cognatum* a secreção foi percebida macroscopicamente, mas os dados anatômicos não revelaram a natureza da secreção como em *C. serratum* e em *H. volubilis* que pôde-se identificar laticíferos principalmente associados ao tecido vascular do pecíolo e da lâmina foliar.

METCALFE & CHALK (1979) já haviam verificado, como característica mais marcante da então família Hippocrateaceae, a presença de canais laticíferos no caule de algumas espécies, mas que podiam estar presentes também nas folhas de algumas outras. Os autores afirmam também, que algumas células do mesofilo continham um material semelhante a látex, e chamam a atenção para o fato de que apesar dos laticíferos serem tão característicos para a família, eles não são facilmente visíveis, especialmente se os conteúdos tiverem sido dissolvidos durante a preparação e montagem dos cortes. Estes mesmos autores ainda especificam que, em *Campylostemon* os laticíferos acompanham os tubos crivados do floema e

usualmente se estendem até o mesofilo; e que em *Hippocratea velutina* o mesofilo contém células de mucilagem.

SOLEREDER (1908) também verificou elementos semelhantes a canais laticíferos no caule e na folha de *Salacia micrantha* (= *Tontelea micrantha*) que possuíam lúmen estreito, conteúdo floculoso, pegajoso e solúvel em cloroformio. De acordo com o autor, os elementos com conteúdo pegajoso estão presentes em tanta abundância que quebrando-se uma seção, os fragmentos permanecem unidos por "fios" da secreção.

METCALFE & CHALK (1983) reforçam a idéia de que as estruturas secretoras e o material secretado por elas são de muito interesse para a anatomia sistemática porque freqüentemente adicionam aparência distintiva aos padrões celulares da planta em que estão presentes. Além disso, a distribuição restrita de algum tipo particular de estrutura secretora fornece um caráter diagnóstico que é freqüentemente bastante valioso.

Apesar de ainda serem necessários estudos confirmativos com relação ao tipo de secreção e à natureza do tecido secretor, a simples constatação da presença de estruturas secretoras em *C. cognatum*, *C. serratum* e *H. volubilis* já fornece um dado a mais para a taxonomia destes gêneros e do grupo como um todo.

Até o momento, foram discutidas características anatômicas que possuem algum uso para a taxonomia do grupo estudado. Porém, alguns caracteres anatômicos observados nas Hippocrateoideae não podem ser considerados como de valor diagnóstico, ou até possuem um certo uso taxonômico mas devem ser usados com ressalvas. Dentre estes caracteres estão as lenticelas e cristais.

A presença de lenticelas no pecíolo foi verificada na maioria das espécies analisadas, mas sua ocorrência não foi constante para todas as amostras processadas. Ou seja, como a mesma espécie teve sua amostragem repetida com material proveniente de localidades diferentes, foi possível constatar que a presença ou ausência de lenticelas variou na mesma espécie dependendo da localidade amostrada. Daí a indicação de que o desenvolvimento de lenticelas no pecíolo talvez esteja associado a fatores ambientais. E se este é o caso, a presença de

lenticelas não constitui um aspecto anatômico que possa ser aplicado à taxonomia do grupo.

De acordo com ESAU (1977), CUTTER (1986) e FAHN (1990), as lenticelas geralmente estão presentes em órgãos vegetais que apresentam crescimento secundário como caules, raízes, ou até mesmo em frutos e tubérculos. Inclusive, segundo METCALFE & CHALK (1979) representam estruturas de considerável interesse na identificação de angiospermas lenhosas. FAHN (1990), ressalta que apenas poucas plantas que apresentam periderme não possuem lenticelas, dentre as quais se encontram várias espécies de trepadeiras lenhosas. A presença de lenticelas em folhas é menos freqüente não tendo sido encontradas referências na literatura que atribuíssem valor taxonômico à sua ocorrência. O único dado bibliográfico encontrado que faz referência à ocorrência de lenticelas em folhas consiste no trabalho de MORRETES & VENTURELLI (1985) já citado anteriormente no presente estudo.

Os cristais foram de ocorrência praticamente universal nas espécies analisadas. Estavam presentes em vários tecidos, como no parênquima cortical, no parênquima clorofiliano, no parênquima associado ao floema e nas epidermes de algumas espécies, na forma de drusas ou monocristais prismáticos e rombóides. A presença de cristais na família foi registrada por vários autores (SOLEREDER, 1908; SMITH & ROBINSON, 1971; DEN HARTOG et. al., 1978; METCALFE & CHALK, 1979 e 1983; MENNEGA, 1983 e 1997; GÖRTS-VAN RIJN & MENNEGA, 1994 e FERNANDEZ, 1998). Conforme alertam METCALFE & CHALK (1983), é impossível se fazer qualquer afirmação generalizada sobre o significado taxonômico dos tipos de cristais, pois eles são extremamente variáveis nos diferentes taxa, ou seja, podem ocorrer cristais de mais de um tipo, em vários tecidos e órgãos diferentes dentro de um mesmo taxon. Mostrando que sua freqüência e padrões de distribuição, apesar de relativamente estáveis não são rigidamente fixados.

Além disso, antes de se avaliar o valor taxonômico dos cristais deve-se considerar seu significado para o metabolismo da planta. FRANCESCHI & HORNER (1980) em seu trabalho de revisão sobre o papel dos cristais de oxalato

de cálcio nas plantas chegaram a interessantes conclusões sobre o assunto. Sabe-se que a produção de oxalato de cálcio neutraliza o ácido oxálico solúvel que pode ser tóxico em grandes quantidades na planta. Por outro lado, a hipótese de que os cristais seriam uma fonte de reserva de cálcio também não foi descartada por estes autores, já que se tem a comprovação de que, sob déficit de cálcio, os cristais são reabsorvidos e reintroduzidos no ciclo metabólico da planta. Ainda segundo estes mesmos autores, existem evidências de que, em alguns taxa, os cristais (especialmente as ráfides) protegem contra a ação de predadores e oferecem sustentação aos tecidos nos períodos de seca. Também foi verificada, pelos autores, uma relação positiva entre a formação de cristais e a nutrição mineral do solo, ou seja, em solos ricos em compostos nitrogenados ocorre aumento na deposição de cristais.

METCALFE & CHALK (1983) afirmam que é necessário um cuidado especial ao se traçar conclusões taxonômicas sobre esta questão, não apenas com relação a frequência mas também com relação a mudança de morfologia do cristal durante a história de vida da planta. Há registro de espécies em que, inicialmente, os cristais são depositados na forma de drusas em tecidos assimilatórios da folha, e que posteriormente, desaparecem e o oxalato de cálcio é depositado, em um segundo momento, como monocristais prismáticos nas células que circundam os feixes vasculares, formando uma bainha cristalífera. Assim sugere-se que, de maneira geral, e não somente para as Hippocrateoideae, a presença de um tipo de cristal em determinado tecido vegetal nunca seja avaliada como um caracter isolado e definitivo na definição de espécies, mas sempre associado a outros dados anatômicos.

Deve ser analisado com ressalvas também a ocorrência de um tipo de parênquima semelhante a um parênquima aquífero observado no mesófilo foliar de *Salacia crassifolia*. Pois, este tecido cujas células apresentam um aspecto "frouxo" foi observado apenas na amostra J. A. Lombardi 3013, coletada no Parque Estadual do Rio Preto. Provavelmente esta amostra de *S. crassifolia* se desenvolveu sob estresse hídrico, e como este parênquima aquífero não foi observado nas outras

amostras deste material, trata-se de um caráter influenciado pelo ambiente tendo valor adaptativo, mas não taxonômico.

Com base na influência que o meio ambiente exerce sobre a anatomia foliar, fica patente o fato de que quando se estuda a anatomia vegetal com a intenção de fornecer dados para a taxonomia de algum grupo específico, é imprescindível que sejam analisadas amostras de diferentes localidades e, de preferência, de ambientes diferenciados, só assim a influência do fator ambiental pode ser avaliada. No caso específico das Hippocrateoideae analisadas, o uso de material herborizado se prestou razoavelmente bem para este propósito, apesar de se ter consciência de que a padronização da metodologia de coleta, no caso de se utilizar material proveniente de herbário, vai variar de acordo com o coletor da amostra.

Os dados da micromorfologia foliar obtidos em microscopia eletrônica de varredura foram limitados pela intensa ocupação por microrganismos epifílicos que impossibilitaram a visualização da superfície adaxial da lâmina foliar e dificultaram uma análise mais completa da superfície abaxial. Além da presença do epifilo, um segundo fator que provavelmente pode ter prejudicado as análises, consiste no fato de não se ter empregado o processo de fixação usual para microscopia eletrônica. De acordo com MILLONING (1961) o processo de fixação ideal seria utilizando-se glutaraldeído a 3%, durante 12 horas, seguido de pós-fixação com tetróxido de ósmio a 1%, por cerca de 1h30, ambos preparados com tampão de fosfato de potássio. No presente trabalho, o fixador utilizado, tanto para a microscopia ótica como para a microscopia de varredura foi o F.A.A.<sup>70</sup>. Sugere-se assim, uma posterior análise da micromorfologia foliar usando-se os processos de fixação adequados, bem como o emprego de alguma técnica que propicie a remoção, mesmo que parcial, dos organismos epifílicos.

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o presente trabalho obteve êxito na caracterização geral da anatomia foliar para as espécies estudadas. Os dados apresentados podem ser aplicados a um delineamento geral do padrão anatômico foliar dos oito gêneros estudados. Contudo, para se fazer inferências filogenéticas entre os gêneros, ou mesmo para a subfamília como um todo, é

necessário que sejam analisadas um número maior de espécies por gênero, e que estas análises sejam aprofundadas com a análise da ontogenia foliar, testes histoquímicos, análise da lâmina e do pecíolo também nas regiões apical e basal, dentre outras.

Além disso, este trabalho viabilizou seleção de caracteres anatômicos que podem ser usados como subsídio para a taxonomia dos diferentes gêneros e espécies, como por exemplo, o tipo de esclereíde presente no pecíolo ou na lâmina foliar, o tipo de estômato, a conformação do sistema vascular do pecíolo, o padrão do contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas, a presença de hipoderme, a ocorrência de estruturas secretoras, dentre outros. Assim estes caracteres podem ser empregados na elaboração de uma chave de identificação para os gêneros da região sudeste. Salienta-se, novamente, que estes aspectos anatômicos nunca devem ser usados de maneira isolada mas, sempre associados uns aos outros, e em conjunto, obviamente, com os dados da morfologia externa.

É importante ressaltar que este trabalho representa um primeiro esforço para o conhecimento da anatomia foliar destas 13 espécies distribuídas nos 8 gêneros ocorrentes na região sudeste do país. Muitos são os aspectos que ainda podem ser explorados para uma melhor compreensão do grupo.

## **5. BIBLIOGRAFIA:**

APG (The Angiosperm Phylogeny Group). An ordinal classification for the families of flowering plants. **Annals of Missouri Botanical Garden** v. 85, p. 531-553, 1998.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASSO, C. L. F.; COSTA, C.G.; GUIMARÃES E. F., LIMA H.C. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**. Viçosa, MG: UFV, 1984. v.2, 377p.

BARTHLOTT, W. Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. **Nordic Journal of Botany**, v.1, n.3, p.345-355, 1981.

BENTHAM, G.; HOOKER, J. D. Celastrinae, Tribus Hippocrateaceae. **Genera Plantarum** 1, p. 369-371. 1862.

CANDOLLE, A. Hippocrateaceae. **Prodromus** 1. p. 567-572, 1824.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Collumbian University Press, 1981. 1262 p.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal - Parte I - Células e Tecidos**. 2 ed. São Paulo: Roca, 1986. 304p.

DEN HARTOG, R. M.; THOLEN, V.; BASS, P. Epidermal characters of the Celastraceae sensu lato. **Acta Botanica Neerlandica**, v.27, p.355-388, 1978.

DICKISON, W. C. The bases of angiosperm phylogeny: Vegetative anatomy. **Annals of Missouri Botanical Garden**, v.62, p.591-620, 1975.

ESAU, K. **Anatomy of Seed Plants**, New York: Copyright,1977. 550p.

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

FERNANDEZ, M. G. V.; MORALES, J. B.; ANGELES, G. Anatomical studies on *Hippocratea excelsa* ( Hippocrateaceae ). **Acta Botanica Mexicana**, v.43, p.7-21, 1998.

FONTENELLE, G. B.; COSTA, C. G.; MACHADO, R. D. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. ( Myrtaceae ). **Botanical Journal of Linnean Society**, v.115, p.111-133, 1994.

FOSTER, A. **Practical plant anatomy**. D. Van Nostrand. New York. 1949. 288p.

FRANCESCHI, V. R. & HORNER, H. T. Jr. Calcium Oxalate Crystal in Plants. **The Botanical Review**, v.46, p.361-427, 1980.

FRANCESCHINELLI, E.V. & YAMAMOTO, K. Taxonomic use of leaf anatomical characters in the genus *Simarouba* Aublet (Simaroubaceae). **Flora**, v.188, p.117-124, 1992.

GESSLER, M. C.; TANNER, M.; CHOLLET, J.; NKUNYA, M. H. H.; HEINRICH, M. Tanzanian medicinal plants used traditionally for the treatment of Malaria: *in vivo* antimalarial and *in vitro* cytotoxic activities. **Phytotherapy Research**, v.9, p.504-508, 1995.

GÖRTS-VAN RIJN, A. R. A. & MENNEGA, A. M. W. Hippocrateaceae. In: Görts-van Rijn, A. R. A., **Flora of the Guianas**, v.16, p.110-128, 1994.

GOVINDARAJALU, E. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Cyperus* L. subgen. *Juncellus*, *Cyperus* subgen. *Mariscus* and *Lipocarpha* R. Br. **Botanical Journal of Linnean Society**, v.68, p.235-266, 1974.

GUNN, C. R.; WIERSEMA, J. H.; RITCHIE, C. A.; KIRKBRIDE, J. H. JR  
Families and genera of spermatophytes recognized by the Agricultural Research  
Service. **Technology Bulletin**. U.S.D.A., 1992, 1796 p.

HEYWOOD, V. H. **Flowering plants of the world**. London: B T Bastford  
Ltd.,1993.

HUTCHINSON, J. **Families of the flowering plants**. Oxford: Oxford University  
Press, 1959. v.1, ed. 2.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc. Graw Hill Book. Co,  
1940. 523 p.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOG, E. A. & STEVENS, P. F. **Plant  
systematics. A phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 1999.

KOYAMA, T. The systematic significance of leaf structure in the tribe Sclerieae  
(Cyperaceae). **Memoirs of the New York Botanical Garden** v.16, p.46-70,  
1967.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**  
Rio de Janeiro, RJ: Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro, 1997. 198p.

LIMA, O. G.; D'ALBUQUERQUE, L. L.; COELHO, J. S. B.; MACIEL, G. M.;  
CAVALCANTI, M. S. B.; MARTINS, D. G.; LACERDA, A. L. Substâncias  
antimicrobianas de plantas superiores. **Revista do Instituto de Antibióticos**,  
v.9, n.1/2, p.3-15, 1969.

LOESENER, T. Hippocrateaceae. In: ENGLER, A. & PRANTL, K. ( ed. ), **Die  
Natürlichen Pflanzenfamilien** v.3, n.5, p.222-230, 1892.

- LOESENER, T. Hippocrateaceae. In: ENGLER, A. & PRANTL, K. ( ed. ), **Die Natürlichen Pflanzenfamilien** ed.2, n.20b, p.198-231, 1942.
- MENNEGA, A. M. W. Notes on New World Hippocrateae (Fam. Celastraceae) II- A New Species in Hemiangium. **Acta Botanica Neerlandica**, v.32(5/6), p.427-430, 1983.
- MENNEGA, A. M. W. Wood Anatomy of the Hippocrateoideae (Celastraceae). **IAWA-Journal** v.18, n.4, p.331-368, 1997.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons: Sistematic Anatomy of the Leaf and Stem. 2nd** . New York: Oxford University Press, v.1, 1979. 276p.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons: Wood Structure and Conclusion of the General Introduction. 2nd**. New York: Oxford University Press, v.2, 1983. 297p.
- MIERS, J. On the Hippocrateaceae of South America. **The Transactions of Linnean Society of London**. v.28, p.319-432, 1872.
- MILLONING, G. Advantages of a phosphate buffer for OsO<sub>4</sub> solutions in fixation. **Journal of Applied Physiology.**, v.32, p.1637, 1961.
- MORRETES, B. L. de & VENTURELLI, M. Ocorrência de "lenticelas" em folhas de *Tripodanthus acutifolius* (R. &P.) Tiegh. (Loranthaceae). **Revista brasileira de Botânica**. V.8, p.157-162. 1985.
- OSORNIO, G. E.; ENGLEMAN, E. M. Anatomía del desarrollo de la semilla de *Hippocratea celastroides*. **Boletín de La Sociedad Botánica De México**, v.53, p.43-53, 1993.

OSORNIO, G. E.; ENGLEMAN, E. M. Anatomía de la semilla de cuatro especies mexicanas de *Hippocratea* ( Celastraceae ) **Boletín de La Sociedad Botánica De México**, v.54, p.57-67, 1994.

PEREZ, R. M.; PEREZ, S.; ZAVALA, M. A.; SALAZAR, M. Anti-inflammatory activity of the bark of *Hippocratea excelsa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.47, p.85-90, 1995.

PEYRITSCH, J. Hippocrateaceae. In: MARTIUS, C. F. P. (ed ), **Flora brasiliensis**, v.1, p.125-164, 1878.

ROBSON, N. New and little know species from the flora Zambesiaca area. XVI. Taxonomic and nomenclatural notes on Celastraceae. **Boletim da Sociedade Broteriana**, ser.2, v.39, p.5-55, 1965.

SIVARAJAN, V.V.; ROBSON, N. K. B. **Introduction of the Principles of Plant Taxonomy** 2<sup>a</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1991. 137-232p.

SMITH, A. C. The American Species of Hippocrateaceae. **Brittonia**, v.3 p.341-555. 1940.

SMITH, F. H. & SMITH, E. C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbia*. **American Journal of Botany**, v.29, p.464-471. 1942.

SMITH, L. B.; ROBINSON, H. E. Hippocrateáceas. In: REITZ, R. (ed.), **Flora Ilustrada Catarinense HIPO**, p.1-33. 1971.

SOLEREDER, H. **Systematic Anatomy of the Dicotyledons: A Handbook for Laboratories of Pure and Applied Botany**, Oxford: Clarendon Press. v.1. 1908. 644p.

TAKHTAJAN, A. **Diversity and Classification of Flowering Plants**. New York:  
Columbia University Press, 1997.