

ANATOMIA FOLIAR DE *SIPARUNA APIOSYCE* (MART. EX TUL.) A.DC. (SIPARUNACEAE).

Matheus Henrique-Simões¹
Flávio José Soares Júnior^{1,2}

Abstrat

Siparuna apiosyce (Mart. ex Tul.) A.DC. is a small tree found in the interior of the riparian forest. Its amphistomatic leaves have the paracytic type of stomatic complexes and are covered by a thin and smooth cuticle, with trichomes throughout its length. The mesophyll is formed by a layer of palisade parenchyma and some layers of spongy parenchyma. In the petioles and in the midrib of *S. apiosyce* leaves, there are some layers of *angular* collenchyma just below the epidermis. The vascular system is composed of collateral bundles with five to seven layers of xylem and phloem. The phloem region is involved by some layers of sclerenchyma.

Key-words: Histology, Cerrado *Stricto Sensu*, Riparian Forest.

Resumo

Siparuna apiosyce (Mart. ex Tul.) A.DC. é uma árvoreta encontrada no interior de matas ripárias. Suas folhas anfiestomáticas possuem complexos estomáticos paracíticos, e são recobertas por uma cutícula delgada e lisa, com tricomas tectores ramificados por toda sua extensão. O mesófilo dorsiventral é formado por uma camada de parênquima paliçádico e várias de parênquima lacunoso. Logo abaixo da epiderme, no pecíolo e na nervura central das folhas dos indivíduos amostrados de *S. apiosyce* foram encontradas algumas camadas de colênquima do tipo angular. O sistema vascular é composto por feixes colaterais com cinco a sete camadas de xilema e a região do floema está geralmente protegida por camadas de esclerênquima.

Palavras-chave: Histologia, Cerrado *Stricto Sensu*, Floresta Ripária.

Introdução

A família Monimiaceae é uma das 19 famílias pertencentes à ordem das Magnoliales. Abrange cerca de 30 gêneros e 400 espécies, sendo que seis gêneros e até 95 espécies são encontrados no Brasil; principalmente nas regiões Sul e Sudeste (Santos & Peixoto, 2001; Barroso, 2002). As monimiáceas compreendiam duas subfamílias: Monimioideae e Atherospermoideae, sendo que essa última se distinguia da primeira por apresentar anteras valvulares e óvulo ereto (Barroso, 2002). Souza & Lorenzi (2008) citam trabalhos recentes em filogenia que utilizam essas características para colocar a subfamília Atherospermoideae como sendo uma família à parte: Siparunaceae.

A recém instituída família Siparunaceae inclui dois gêneros: *Glossocalyx* Benth., ocorrente no oeste da África, e *Siparuna* Aubl., distribuída

pela América do Sul. No Brasil, o gênero *Siparuna* ocorre com aproximadamente 40 espécies (Souza & Lorenzi, 2008).

O gênero *Siparuna* possui algumas espécies que vêm sendo estudadas sob os seus aspectos químicos e farmacológicos por pesquisadores do Laboratório do Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro – NPPN / UFRJ: *Siparuna arianeae* V. Pereira, *S. apiosyce* (Mart. ex Tul.) A.DC. e *S. guianensis* Aubl. (Santos & Peixoto, 2001).

Garrat (1934) comenta que a presença de grandes quantidades de um óleo volátil na maioria das Monimiaceae e Siparunaceae, lhes confere um agradável odor e algum valor medicinal. Tal odor, bem característico dessas espécies, facilita a sua identificação em campo.

Siparuna apiosyce (Mart. ex Tul.) A.DC., conhecida como “limão-bravo”, é a espécie mais largamente empregada na medicina, tanto na forma de infusão de suas folhas ou como constituinte de xaropes contra males respiratórios (Kuhlmann & Kühn, 1947; Stelfeldt, 1955), e no tratamento de distúrbios intestinais. Tais aplicações estão descritas na primeira farmacopéia brasileira (Dias da Silva, 1926, citado por Santos & Peixoto, 2001) e na Farmacopéia Paulista (Stelfeldt, 1955).

Faleiro (2006) observou que plantas das Matas de Galeria apresentam folhas mais alongadas, maiores e com pecíolos mais compridos. Suas folhas maiores podem aumentar a evaporação, porém maximizam o aproveitamento da energia luminosa. Esta otimização do aproveitamento da luz é determinante à sobrevivência dos espécimes, visto que seu habitat é caracterizado por áreas geralmente mais densas e sombreadas. A alta evaporação é compensada pela maior disponibilidade de água no solo.

Os dados sobre anatomia dos componentes da família Siparunaceae ainda são escassos. Dessa forma, desenvolveu-se o presente estudo cujo objetivo foi descrever os principais aspectos da anatomia foliar de *S. apiosyce*, aumentando o universo de informações acerca da morfologia interna deste grupo. Os resultados aqui apresentados podem subsidiar estudos que se proponham a conhecer as estratégias adaptativas dessa espécie, tipicamente encontrada em Matas de Galeria do Cerrado mineiro.

Material e métodos

Coleta e tratamentos

As folhas dos espécimes de *Siparuna apiosyce* foram coletadas na Reserva Biológica UNILAVRAS-Boqueirão (ReBio Boqueirão), situada no município de Ingaí, Região Sul do Estado de Minas Gerais. Propriedade particular pertencente ao Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS, a ReBio Boqueirão, localizada a 21°20'47" de latitude Sul e 44°59'27" de longitude Oeste, possui uma área de 159,9126 ha a uma altitude média de 1.100 metros (Magalhães *et al.*, 2008; Alexandre Júnior & Soares Júnior, 2009).

O clima de Lavras, onde se encontra o estudo climatológico mais próximo, é classificado como Cwa, ou seja, subtropical, com inverno seco e temperatura média anual de 20,4 °C, variando de 17,1 °C em julho a 22,8 °C em fevereiro (Dantas, Carvalho & Ferreira, 2007).

Para o estudo foram coletadas folhas maduras, totalmente expandidas e sem qualquer sinal evidente de injúrias, sempre a meia altura da copa de cada um dos três indivíduos adultos selecionados para este fim. Todos os indivíduos estavam no sub-bosque de uma Floresta de Galeria, entre trechos de Cerrado *Stricto Sensu*.

As folhas coletadas foram fixadas em solução de F.A.A. 50% por menos de 24 horas, sendo transferidas na sequência para uma solução de álcool 70%, enquanto armazenadas no Herbário LUNA – Herbário de Lavras, do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS), para posterior realização dos cortes.

Amostras de uma das plantas usadas para este estudo, em estágio reprodutivo com frutos em diferentes níveis de maturidade, foram coletadas e, após passarem pelos procedimentos usuais de herborização (Mori *et al.*, 1985), vieram a compor exsicatas devidamente incorporadas ao acervo do Herbário LUNA. A exsicata, protocolada sob o número 2371 da coleção do referido Herbário, está disponível para consultas como material-testemunha deste estudo.

Estudos anatômicos

A partir das folhas fixadas foram realizados cortes a mão livre, transversais e longitudinais, com apoio de uma lâmina de aço, sempre na região mediana da lâmina foliar e do pecíolo. Foram feitos ainda cortes tangenciais à altura da epiderme, nas superfícies adaxial e abaxial das mesmas folhas, para o estudo das suas superfícies.

Em seguida, os cortes passaram pelo processo de despigmentação em solução comercial de hipoclorito de Sódio e pela dupla coloração por Azul de Astra e Safranina (Kraus & Arduin, 1997).

Na busca pelo protocolo ideal foram feitos testes para determinar os melhores tempos a que os cortes deveriam ficar submetidos aos corantes. Para finalizar, após a coloração, os melhores cortes foram montados entre lâmina e lamínula com água glicerizada, vedadas com esmalte incolor, compondo assim, lâminas semi-permanentes (Kraus & Arduin, 1997). O laminário foi examinado em microscópio ótico sob diversos aumentos e as imagens capturadas por câmera digital acoplada ao referido microscópio e software "Pixelview Station v5.19 TV" (Alvarenga *et al.*, 2009).

Resultados e discussões

O protocolo ideal encontrado para estudos anatômicos das folhas da espécie *S. apiosyce* inclui uma submersão de quatro minutos em Azul de Astra e oito segundos em Safranina. Com estes tempos de coloração alcançou-se as lâminas mais nítidas dentre aquelas testadas.

Pecíolo

Os pecíolos avaliados, sempre de formato cilíndrico, apresentam seu tecido de revestimento formado por células grandes que se alternam entre composições de uma a mais camadas celulares, constituindo uma epiderme múltipla. Esta organização histológica já havia sido relatada para a família Monimiaceae por Callado *et al.* (2006), em seus estudos com epiderme múltipla

da lâmina foliar de *Mollinedia oligantha* Perkins. Externamente a este, ocorrem tricomas do tipo não glandulares multicelulares ramificados (Figura 1A) pouco abundantes e irregularmente distribuídos.

A região cortical do pecíolo encontra-se dividida em duas porções: uma mais externa, subjacente à epiderme, constituída por cinco a sete camadas de colênquima do tipo angular e uma interna a esta primeira, a endoderme. Esta última, localizada na transição do córtex com o cilindro vascular, constituída exclusivamente por células parenquimáticas, isodiamétricas, de parede celular fina e com variados tamanhos (Figura 1B).

O sistema vascular apresenta-se formado por cinco a sete camadas contínuas de xilema, dispostas de forma circular. Externamente ao xilema ocorrem feixes de floema que se apresentam ainda envolvidos por um número variável de camadas descontínuas de células esclerenquimáticas (Figura 2A e 2B). Esta organização histológica, similar a “calotas” arqueando os feixes floemáticos (Marques *et al.*, 2009), sugere uma condição de proteção aos mesmos. Uma possível proteção na forma de reforço do sistema de condução aos comuns movimentos de torção ao qual o pecíolo está submetido (Lusa & Bona, 2009).

Nervura central

A nervura central, diferentemente da organização histológica do pecíolo, apresenta epiderme unisseriada com cutícula delgada e lisa (Figura 3A) em ambas as faces e tricomas do tipo não glandular multicelular ramificados (Figura 3B). Imediatamente abaixo da epiderme abaxial aparecem de três a cinco camadas de colênquima angular (Figura 3B), e cinco a sete camadas desse tecido estão próximas da superfície adaxial (Figura 4A). O terço médio do parênquima cortical exhibe alguns idioblastos armazenando o que parece ser um cristal romboédrico (Figura 4B); a exemplo daqueles encontrados por Marques *et al.* (2009) em pecíolos e nervuras de *Hennecartia omphalandra* J. Poisson.

O sistema vascular da nervura principal é formado por feixes colaterais com três a cinco camadas de xilema arranjadas em semicírculo (Figura 3B). Abaixo dessas camadas de xilema ocorrem feixes de floema e, envolvendo quase todo o sistema vascular, uma a algumas camadas de esclerênquima arranjadas como uma bainha perivascular (Figura 3B).

Marques e colaboradores (2009) constataram que esse estrato fibroso perivascular trata-se de uma etapa do processo ontogenético da folha que inclui, ainda, bainhas descontínuas, como as encontradas nos pecíolos da espécie aqui estudada. Sobre a função dessas bainhas, pressupõem-se que as mesmas atuem na manutenção da integridade do sistema de condução diante da flexibilidade das folhas aos agentes externos.

As paredes celulares engrossadas dessas células da bainha de esclerênquima são comumente atribuídas às condições de estresse hídrico do ambiente (Sajo & Machado, 2001), conferindo maior resistência mecânica à planta em casos de desidratação (Oliveira & Sajo, 1999). Contudo, *S. apiosyce* foi encontrada em ambiente úmido, às margens de um riacho, o que direciona a justificativa para um eventual oligotrofismo do substrato acentuado ou

determinado pelas altas concentrações de alumínio, caracterizando o escleromorfismo aluminotóxico intrínseco do ambiente do entorno (Arens, 1948; Goodland, 1971 *apud* Marson & Freitas Junior, 2009). Mas, independente do agente estimulante à produção dessa bainha esclerenquimática, é notório que a mesma atua como reforço à sustentação da folha em relação ao corpo de suas plantas, que são sempre encontradas na região, com alturas elevadas, tronco demasiadamente fino e nós relativamente afastados.

Lâmina foliar

A lâmina foliar de *S. apiosyce* é constituída, em ambas as faces, por uma epiderme unisseriada, recoberta por uma cutícula delgada e lisa. Entre as duas faces da folha, constatou-se que a cutícula na superfície abaxial, é mais evidente do que a da superfície adaxial (Figura 5); sendo mesmo assim, considerada delgada se comparada com a cutícula de *S. guianensis* Aubl., estudada por Bieras (2006).

S. apiosyce apresenta folhas anfiestomáticas, com complexos estomáticos do tipo paracítico (Figura 6A e 6B). Por ser uma espécie encontrada em local úmido e sombreado pelas árvores de dossel, a condição anfiestomática representa uma adaptação que maximiza a condutância estomática, já que as trocas gasosas serão realizadas pelas duas faces da folha (Mott *et al.*, 1982).

Por toda extensão das superfícies abaxial e adaxial das folhas ocorre grande quantidade de tricomas não glandulares multicelulares ramificados (Figura 7A e 7B).

O mesofilo é representado por uma camada de parênquima paliçádico, localizado imediatamente abaixo da epiderme adaxial, e vários estratos de um parênquima lacunoso (Figura 5). Em corte longitudinal as folhas exibem câmaras subestomáticas encerradas por estômatos nivelados à superfície foliar. Feixes vasculares colaterais estão envoltos por uma bainha parenquimática, como aquelas descritas por Bieras (2006) e por Lusa & Bona (2009). Foi possível observar também a presença de alguns poucos idioblastos no mesofilo.

Considerações finais

A composição e a organização histológica encontrada para as folhas de *Siparuna apiosyce* são condizentes àquelas que predominam entre as plantas do Cerrado brasileiro. Folhas dorsiventrais cobertas por tricomas, com presença abundante de idioblastos abrigando cristais e demais compostos, e com feixes vasculares ladeados por bainhas esclerenquimáticas, atestam a morfo-fisiologia adaptada ao ambiente xeromórfico oligotrófico. Contudo, a ocorrência de complexos estomáticos em ambas as faces, com cutículas, muitas vezes inconspícuas, denotam a influência dos ambientes sombreados das matas de galeria na formação dos seus espécimes componentes. Uma condição que se repete nas demais espécies do gênero *Siparuna*, já estudadas sob os pontos de vista morfológico e anatômico.

Referências bibliográficas

- ALEXANDRE JÚNIOR, W.R. & SOARES JÚNIOR, F.J. 2009. Estrutura populacional de *Roupala montana* Aubl. em um trecho de Cerrado *Sensu Stricto* no Sul de Minas Gerais, Brasil. *Pesquisas, Botânica* 60: 301-314.
- ALVARENGA, T.M.; SILVA, F.F.; CAMPOS, W. de C. & SOARES JÚNIOR, F.J. 2009. Anatomia foliar de *Calolisianthus Speciosus* GILG (Gentianaceae). *Pesquisas, Botânica* 60: 315-321.
- BARROSO, G. M. 2002. *Sistemática de angiosperma do Brasil*, V. 1, 2ª ed. Viçosa: Editora UFV.
- BIERAS, A. C. 2006. *Morfologia e anatomia foliar de dicotiledôneas arbóreo-arbustivas do cerrado de São Paulo, Brasil*. Tese, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- CALLADO, C. H.; FREITAS, M. H. V. de; LIMA, H. R. P. & COSTA, C. G. 2006. Diferenciação da epiderme múltipla da lâmina foliar de *Mollinedia oligantha* Perkins. *Floresta e Ambiente* 12(2): 75-78.
- DANTAS, A. A. A.; CARVALHO, L. G. de & FERREIRA, E. 2007. Classificação e Tendências Climáticas em Lavras, MG. *Ciência e Agrotecnologia* 31: 1862-1866.
- FALEIRO, W. 2006. Morfologia foliar em plantas de cinco fisionomias de cerrado do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, GO. *Unimontes Científica* 8: 107-116.
- GARRAT, G. A. 1934. Systematic anatomy of the woods of the Monimiaceae. *Trop. Woods* 39: 18-44.
- KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal* Rio de Janeiro: Edur.
- KUHLMANN, M & KÜHN, E. 1947. Monimiaceae. In: A flora do distrito de Ibiti (ex - Monte Alegre) Município de Amparo. *Publ. Ser. B, Instituto de Botânica, Secr. Agric.* 62: 154.
- LUSA, M. G. & BONA C. 2009. Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasiliica* 23(1): 196-211.
- MAGALHÃES, W. C. S.; MISSAGIA, R. V.; FRIEIRO-COSTA, F. A. & COSTA, M. C. M. 2008. Diversidade de Fungos Endofíticos em Candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish. *Cerne* 14: 267-273.
- MARQUES, C. A.; LEITÃO, G. G.; BIZZO, H. R.; PEIXOTO, A. L. & VIEIRA, R. C. 2009. Anatomia e análise de óleo essencial das folhas de *Hennecartia omphalandra* J. Poisson (Monimiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19(1A): 95-105.
- MARSON, A. A. & FREITAS JUNIOR, G. DE. 2009. Os cerrados: biogeografia e fatores geoecológicos condicionantes. In: *Anais II Seminário de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Paraíba do Sul: Recuperação de Áreas Degradadas, Serviços Ambientais e Sustentabilidade, Taubaté, Brasil*. P. 501-508.
- MORI, S. A.; SILVA, L. A. M.; LISBOA, G. & CORADIN, L. 1985. *Manual de manejo do Herbário Fanerogâmico*. Ilhéus - BA, Comissão executiva do Plano da Lavoura cacaueira, Ministério da Agricultura.
- MOTT, K. A.; GIBSON, A. C.; O'LEARY, J. W. 1982. The adaptative significance of amphistomatic leaves. *Plant Cell and Environment* 5: 455-460.
- OLIVEIRA, V. C. & SAJO, M. G. 1999. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 22: 365-374.
- SAJO, M. G. & MACHADO, S; R. 2001. Submicroscopical features of leaves of *Xyris* species. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 44: 405-410.
- SANTOS, I. da S. & PEIXOTO, A. L. 2001. Taxonomia do gênero *Macropeplus* Perkins (Monimiaceae, Monimioideae). *Rodriguésia* 52: 65-105.
- SOUZA, V. C. & H. LORENZI. 2008. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II – 2ª ed.* Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda.
- STELFELLD, C. 1955. As drogas vegetais da farmacopéia paulista. *Tribuna Farmacêutica* 23: 82-88.

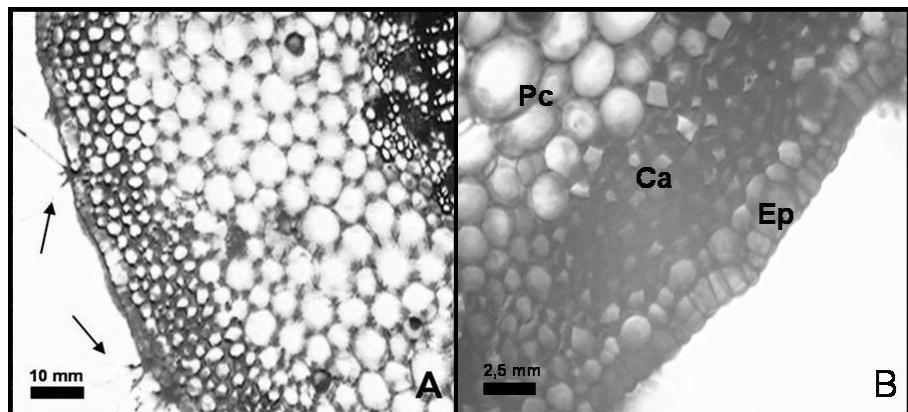


Figura 1: Pecíolo de *S. apiosyce* em corte transversal corado com Azul de Astra e Safranina. A. Corte evidenciando o tipo de tricoma na epiderme (setas). B. Corte mostrando a epiderme (Ep), faixa de colênquima angular (Ca) e parênquima cortical (Pc).

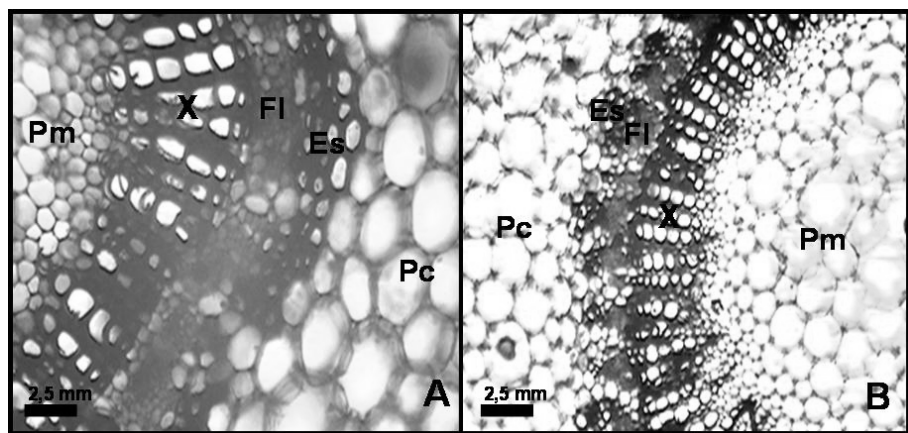


Figura 2: A e B - Sistema vascular do pecíolo. Pm - parênquima medular, X - xilema, Fl - floema, Es - esclerênquima, PC - parênquima cortical.

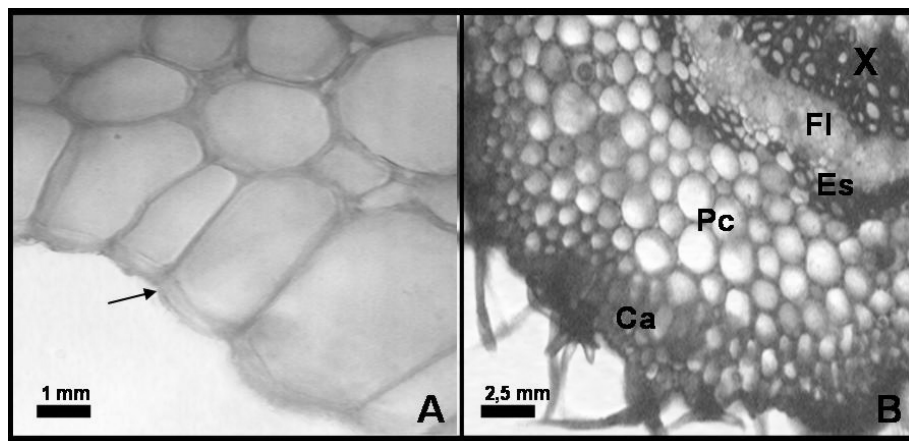


Figura 3: Cortes transversais da nervura central corados com Azul de Astra e Safranina. A. Epiderme unisseriada e cutícula (superfície abaxial). B. Feixe vascular colateral. Ca - colênquima angular, Pc - parênquima cortical, Es - esclerênquima, FI - floema, X - Xilema.

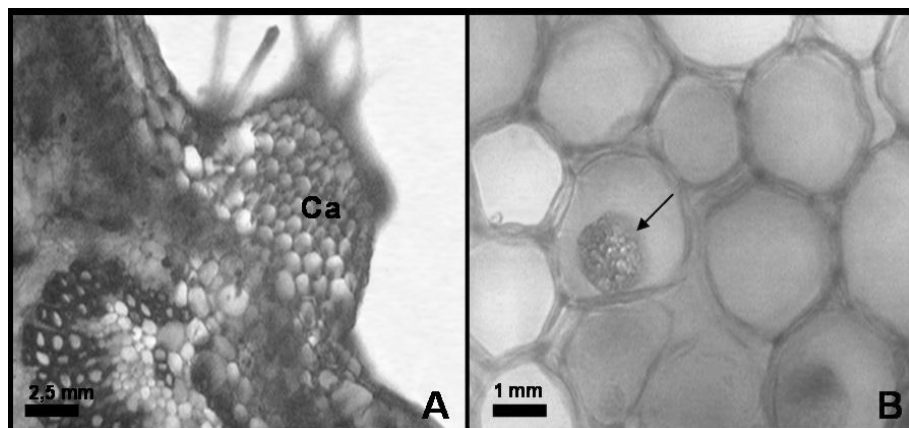


Figura 4: Cortes transversais da nervura central corados com Azul de Astra e Safranina. A. Colênquima angular (Ca) na face adaxial. B. Cristal romboédrico.

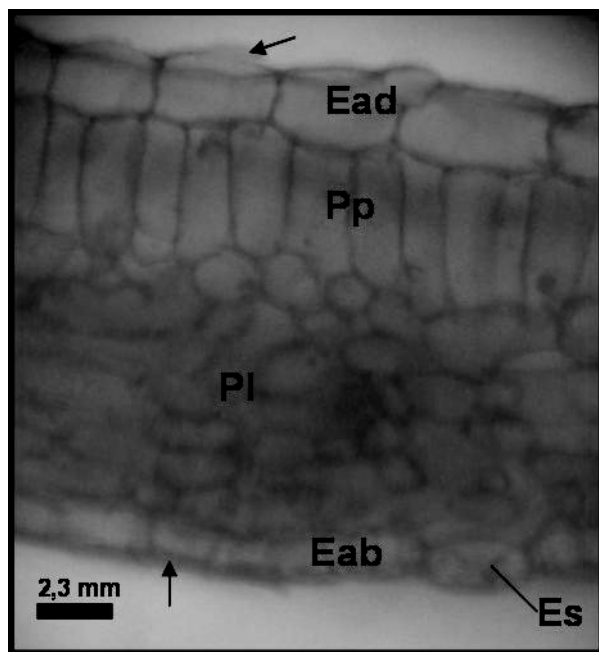


Figura 5: Corte longitudinal do mesofilo foliar. Epiderme adaxial (Ead) e epiderme abaxial (Eab), parênquima paliádico (Pp) e parênquima lacunoso (Pl), estômato (Es) e cutícula (setas).

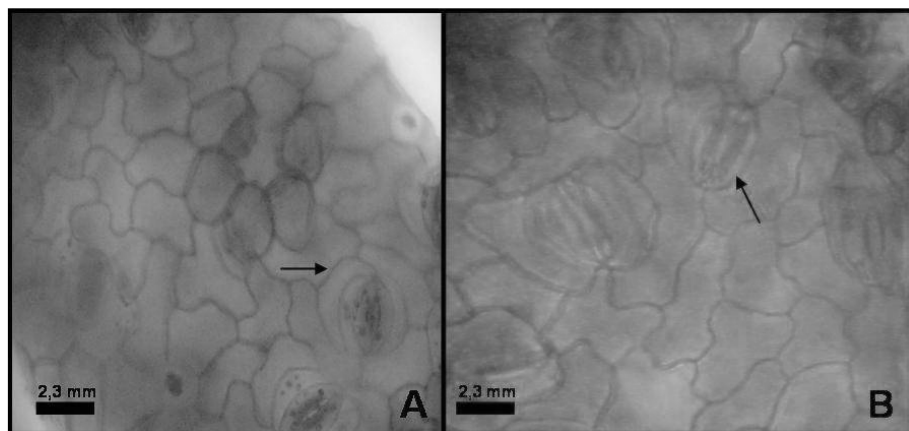


Figura 6: Corte paradérmico das superfícies adaxial e abaxial. A. Superfície abaxial e B. Superfície adaxial mostrando os complexos estomáticos do tipo paracítico (Seta).

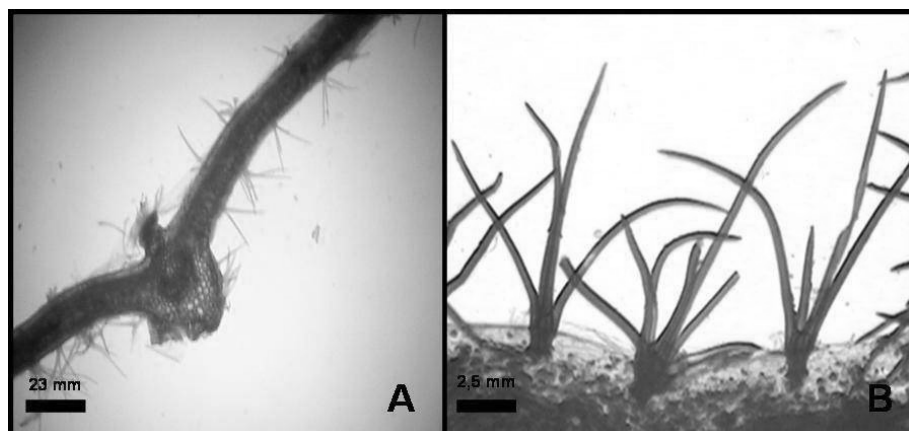


Figura 7: A e B. Corte transversal da lâmina foliar corado com Azul de Astra e Safranina mostrando a disposição dos tricomas realçados pela cor azul.