

Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae¹

DIEGO DEMARCO^{2,3}, LUIZA SUMIKO KINOSHITA² e MARÍLIA DE MORAES CASTRO²

(recebido: 2 de junho de 2005; aceito: 19 de janeiro de 2006)

ABSTRACT – (Articulated anastomosing laticifers – new records for Apocynaceae). Laticifer presence is universal in Apocynaceae, in the classic literature the type described for this family is the non-articulated. Later researches have proved the occurrence of articulated laticifers only in four species, giving rise to controversies on their origin. The results obtained in our studies differ from those reported for most species of this family. In both *Aspidosperma australe* Müll. Arg. (Rauvolfioideae) and *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. (Asclepiadoideae), the laticifers are of the articulated anastomosing type because they are formed by adding cells with rapidly dissolving transverse walls. Laticifers originate from ground meristem and/or procambium and form a branched system, they are in secretory phase since the early stages of formation in different organs, releasing latex only when the plant is damaged. The laticifer walls are exclusively pectic-cellulosic and their chemical characteristics probably change during their development. Vegetative organ laticifers occur in all stem and leaf tissues, except epidermis and medullary parenchyma of *A. australe*. In the flower, laticifers are found in all floral organs, except in the medullary parenchyma of the pedicel of *A. australe* and in the ovules of both species. The presence of the same type of laticifer in these two genera, which represent the most divergent subfamilies within the Apocynaceae corroborates the current circumscription of this family. The latex has protective function, allowing the species of this family to succeed in different environments.

Key words - anatomy, Apocynaceae, articulated laticifers, distribution, ontogeny

RESUMO – (Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae). A presença de laticíferos é universal nas Apocynaceae e o tipo descrito nas obras clássicas de revisão para esta família é o não articulado. Pesquisas posteriores provaram a ocorrência de laticíferos articulados apenas em quatro espécies, suscitando controvérsias quanto à sua origem. Os resultados obtidos em nossos estudos divergem dos já publicados para a maioria das espécies da família. Tanto em *Aspidosperma australe* Müll. Arg. (Rauvolfioideae) quanto em *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. (Asclepiadoideae), os laticíferos são articulados anastomosados e formados por adição de células, cujas paredes transversais dissolvem-se rapidamente. Eles originam-se a partir do meristema fundamental e/ou procâmbio, já estão em fase secretora desde o início de sua formação nos diferentes órgãos, constituindo um sistema ramificado e só liberam o látex se a planta for injuriada. As paredes dos laticíferos são exclusivamente pectocelulósicas e suas características químicas provavelmente se alteram durante o seu desenvolvimento. Os laticíferos dos órgãos vegetativos ocorrem em todos os tecidos do caule e da folha, com exceção da epiderme e do parênquima medular de *A. australe*. Na flor, eles são encontrados em todas as peças florais, exceto no parênquima medular do pedicelo de *A. australe* e nos óvulos de ambas as espécies. A presença do mesmo tipo de laticífero nestes gêneros pertencentes às subfamílias mais divergentes de Apocynaceae corrobora a atual circunscrição da família. O látex tem função de proteção e propicia o sucesso das espécies desta família em diferentes ambientes.

Palavras-chave - anatomia, Apocynaceae, distribuição, laticíferos articulados, ontogênese

Introdução

Os laticíferos estão presentes em espécies de 36 famílias (Lewinsohn 1991, Endress & Bruyns 2000, Judd *et al.* 2002), muitas vezes sem relação taxonômica, sugerindo que eles surgiram mais de uma vez ao longo da história evolutiva destes grupos (Metcalf 1967, Fahn

1979). Provavelmente, o maior sucesso das plantas latescentes nos diversos ambientes em relação às não latescentes seja devido às funções comumente atribuídas ao látex de proteger contra herbivoria e selar ferimentos (Fahn 1979, 1990, Farrell *et al.* 1991).

Em Apocynaceae, a ocorrência de laticíferos é uma característica universal e o tipo descrito nas obras clássicas de revisão é o não articulado (Solleder 1908, Metcalfe 1967). Eles já foram registrados em órgãos vegetativos e reprodutivos de cerca de 93 gêneros (Solleder 1908, Blaser 1945, Metcalfe & Chalk 1950, Milanez 1960/1961, 1966, 1977, Mahlberg 1961, Yoder & Mahlberg 1976, Wilson & Mahlberg 1978, Murugan & Inamdar 1987a, b, Wilson & Maxam 1987, Inamdar *et al.* 1988, Roy & De 1992, Appezzato-da-Glória &

1. Parte da tese de mestrado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970 Campinas, SP, Brasil.
3. Autor para correspondência: diego_demarco@hotmail.com

Estelita 1997, Sacchetti *et al.* 1999, Serpe *et al.* 2001). Controvérsias quanto à identificação de seu tipo e sua formação podem ser encontradas na literatura, como em *Cryptostegia grandiflora* R. Br. e *Nerium oleander* L. (Blaser 1945, Mahlberg 1961, Milanez 1960/1961, 1966, 1977).

O látex geralmente é leitoso, mas também pode ser avermelhado ou amarelado (Endress & Bruyns 2000) e pode conter hidrocarbonetos poliisoprenicos (borracha), triterpenos, ácidos graxos, fitoesteróis e alcalóides (Van Die 1955, Yoder & Mahlberg 1976). Algumas espécies de Apocynaceae possuem importância econômica e/ou medicinal devido à presença de metabólitos secundários no látex como, por exemplo, borracha e alcalóides (Metcalf & Chalk 1950, Yoder & Mahlberg 1976).

A provável origem polifilética dos laticíferos articulados e não articulados confere uma potencial aplicação de suas características morfológicas e químicas como caráter taxonômico (Mahlberg *et al.* 1987, Mahlberg 1993). O tipo de laticífero já foi utilizado para corroborar a separação de espécies (Sacchetti *et al.* 1999); em alguns casos, a composição da fração particulada do látex pode servir como uma indicação das relações sistemáticas de espécies difíceis de distinguir morfológicamente, como ocorre em *Plumeria* (Van Die 1955).

Dentre os estudos anatômicos sobre laticíferos já efetuados por pesquisadores brasileiros em espécies de Apocynaceae ressaltam-se os realizados em *C. grandiflora* (Milanez 1960/1961, 1966), *N. oleander* (Milanez 1977), *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e *M. pohliana* (Stadelm.) A.H. Gentry (= *M. velutina* (Mart. ex Stadelm.) Woodson; Appezzato-da-Glória & Estelita 1997). Laticíferos foram citados para *Aspidosperma* (Valente & Carvalho 1973, Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996) e classificados como não articulados por Solereder (1908); eles nunca foram estruturalmente estudados em espécies de *Blepharodon*.

De acordo com o conceito vigente (Endress & Bruyns 2000), Apocynaceae é constituída por 424 gêneros agrupados em cinco subfamílias; *Aspidosperma* está incluído em Rauvolfioideae Kostel. (=Plumerioideae) e *Blepharodon*, em Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett. O objetivo do presente trabalho foi descrever a ontogênese e o tipo dos laticíferos em botões vegetativos e florais, analisar sua estrutura, distribuição e possível valor taxonômico em *Aspidosperma australe* Müll. Arg. e *Blepharodon bicuspidatum* Fourn.

Material e métodos

O material de estudo foi coletado em áreas de cerrado do Estado de São Paulo: Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu e fragmento situado no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron no Município de Campinas e no *campus* da Universidade Estadual de Campinas. As coletas foram realizadas de novembro de 2002 a maio de 2004 e as espécies identificadas pela Profa. Dra. Luiza S. Kinoshita e pelo Dr. André O. Simões. Os materiais testemunha foram herborizados e incorporados ao Herbário UEC: *A. australe* Müll. Arg.: BRASIL, SÃO PAULO; Campinas, 8-V-2003, *D. Demarco 10*; *B. bicuspidatum* Fourn.: BRASIL, SÃO PAULO; Moji-Guaçu, 18-XI-2002, *D. Demarco 7*; Campinas, 29-VIII-2003, *D. Demarco 11*; 8-V-2004, *D. Demarco 14*.

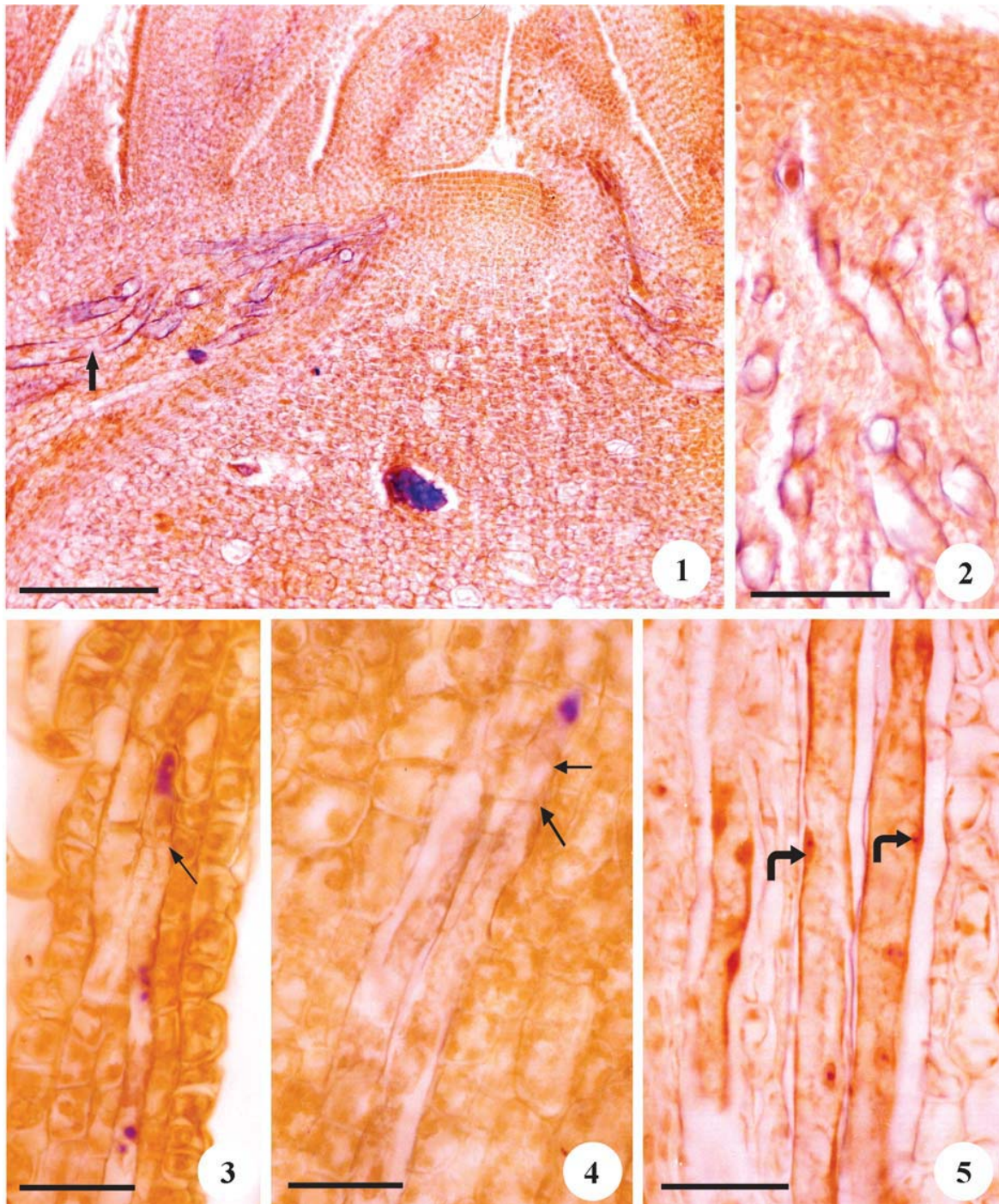
Ramos vegetativos e florais, obtidos dos quatro indivíduos coletados, foram cortados com lâmina aquecida para manter o látex no interior dos laticíferos (Milanez 1960/1961), fixados em FAA com etanol 50% por 24 h (Johansen 1940) e FNT (formalina neutra tamponada; Lillie 1948 in Clark 1973) por 48 h e estocados em etanol 70%. Ápices caulinares, botões florais e flores adultas foram isolados, desidratados em série butílica (Johansen 1940), incluídos em "Paraplast" e seccionados em séries transversais e longitudinais com 10 a 20 µm de espessura em micrótomo de rotação Microm HM340E. Diferentes colorações foram testadas devido à afinidade distinta das espécies pelos corantes. As secções de *A. australe* apresentaram os melhores resultados quando coradas com safranina alcoólica 1%, violeta cristal 1% e laranja G 1% em óleo de cravo (tripla coloração de Flemming; Johansen 1940) e as de *B. bicuspidatum*, quando coradas primeiramente com azul de astra 1% e depois com safranina alcoólica 1% (ordem inversa de aplicação dos corantes; Gerlach 1969 modificado). Essas duas técnicas de coloração foram utilizadas no presente trabalho e as lâminas montadas em resina sintética.

Para analisar a composição das paredes dos laticíferos foram realizados testes com vermelho de rutênio para pectinas (Johansen 1940), azul de anilina para calose (Smith & McCully 1978), preto de Sudão B e Sudão IV para lipídios totais (Pearse 1985) e floroglucina acidificada para lignina (Johansen 1940).

As fotomicrografias foram obtidas em microscópio Olympus BX51 utilizando-se filme Kodak Pro Image asa 100. As escalas das figuras foram obtidas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

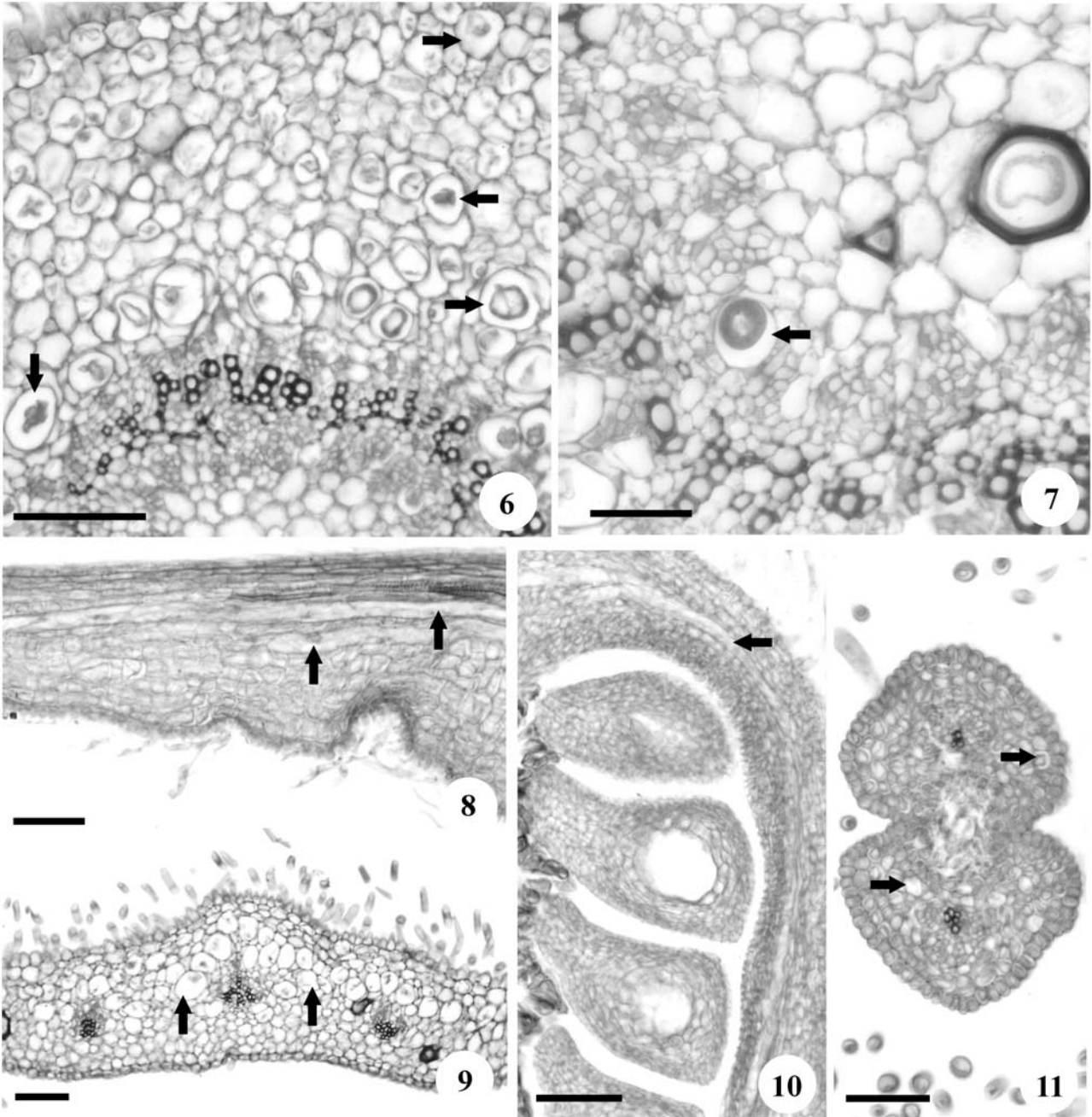
Resultados

Ontogênese e estrutura – Os laticíferos de *A. australe* Müll. Arg. e *B. bicuspidatum* Fourn. são facilmente distinguíveis nos diferentes órgãos, devido ao calibre, conteúdo, espessura das paredes e ramificações do sistema (figuras 1-28). O laticífero é um dos primeiros



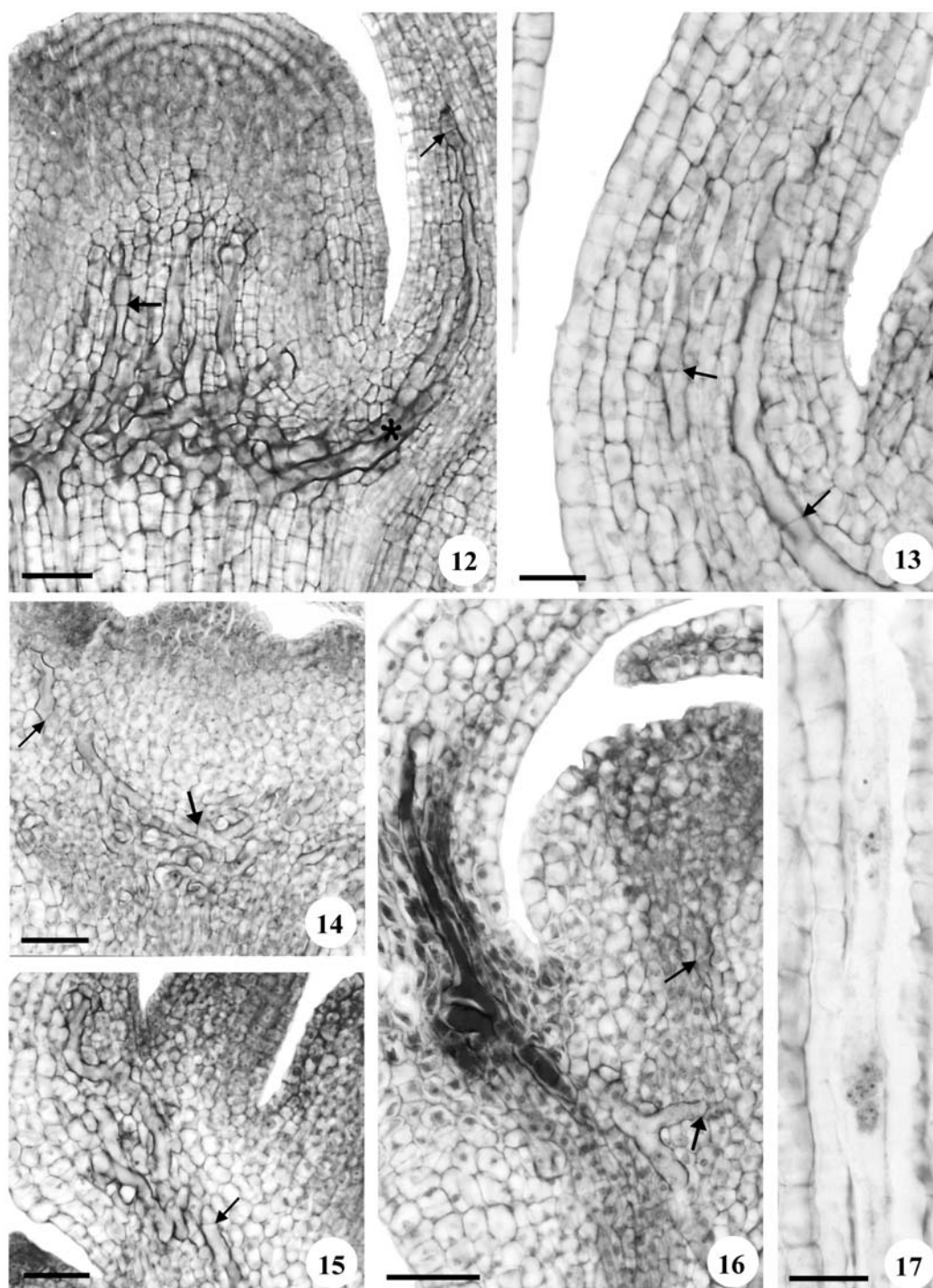
Figuras 1-5. Laticíferos articulados anastomosados de *Aspidosperma australe* Müll. Arg. Secções longitudinais (tripla coloração de Flemming). 1-2. Ápices caulinares. 1. Vista geral (seta = laticíferos). 2. Laticífero com parede transversal (seta). 3-5. Botões florais. 3-4. Terminações de laticíferos na sépala. Notar parede transversal (seta). 5. Laticíferos com núcleos em posição parietal (seta) no pedicelo. Barras = 150 μm (1); 75 μm (2); 25 μm (3-4); 30 μm (5).

Figures 1-5. Articulated anastomosing laticifers of *Aspidosperma australe* Müll. Arg. Longisections (Flemming's triple stain). 1-2. Shoot apices. 1. General view (arrow = laticifers). 2. Laticifer with transverse wall (arrow). 3-5. Floral buds. 3-4. Laticifer ends in the sepal. Note the transverse wall (arrow). 5. Laticifers with nuclei in parietal position (arrow) in the pedicel. Bars = 150 μm (1); 75 μm (2); 25 μm (3-4); 30 μm (5).



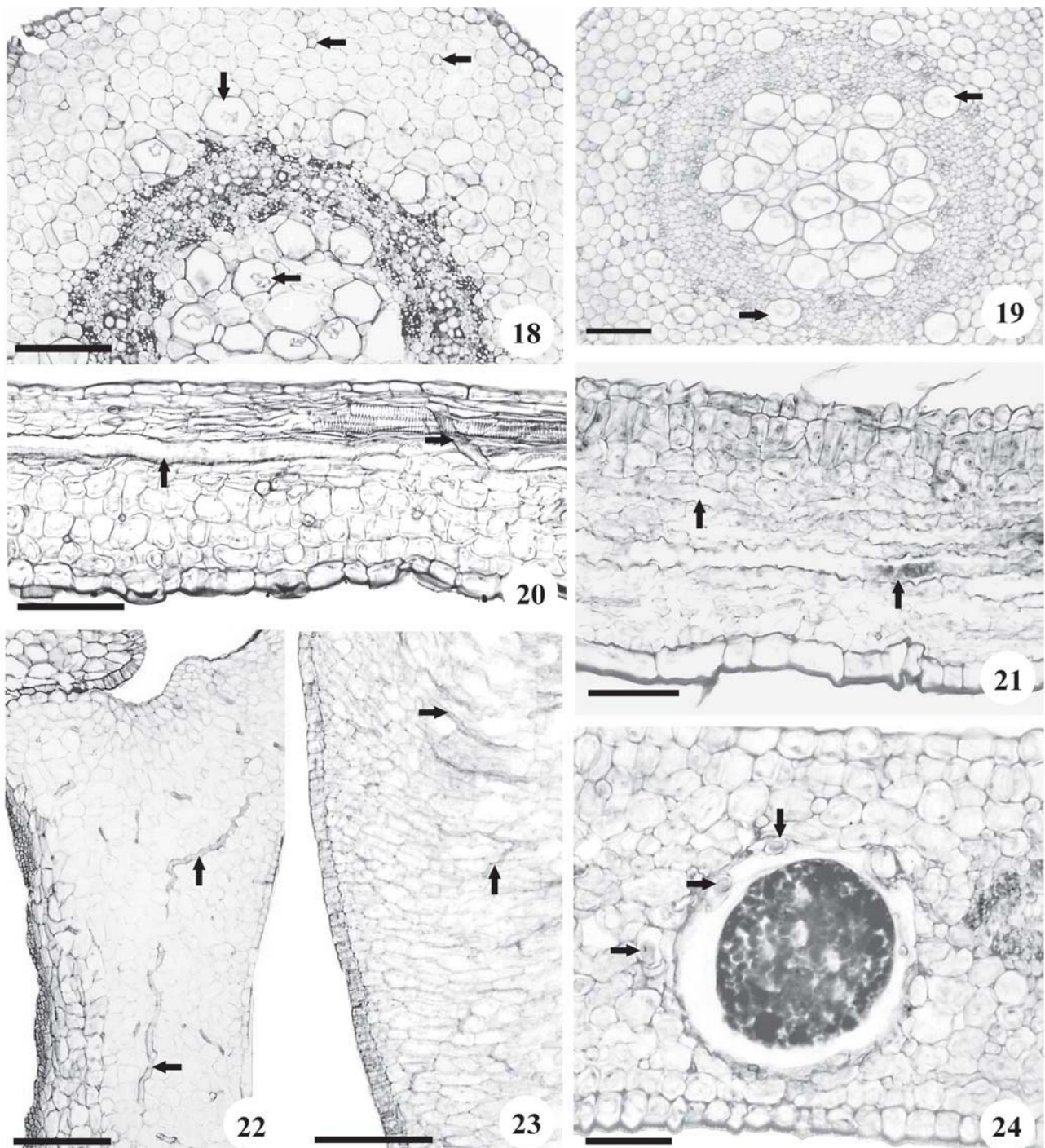
Figuras. 6-11. Distribuição dos laticíferos articulados anastomosados em flores de *Aspidosperma australe* Müll. Arg. (tripla coloração de Flemming). 6-7. Pedicelo. 6. Laticíferos no córtex. 7. Laticífero no floema. 8. Sépala. 9. Pétala. 10. Ovário. 11. Estilete. (seta = laticífero). 6-7, 9, 11. Secções transversais. 8, 10. Secções longitudinais. Barras = 75 μm (6,8-10); 30 μm (7); 50 μm (11).

Figures 6-11. Distribution of articulated anastomosing laticifers in the flowers of *Aspidosperma australe* Müll. Arg. (Flemming's triple stain). 6-7. Pedicel. 6. Laticifers in the cortex. 7. Laticifer in the phloem. 8. Sepal. 9. Petal. 10. Ovary. 11. Style. (arrow = laticifer). 6-7, 9, 11. Transections. 8, 10. Longisections. Bars = 75 μm (6,8-10); 30 μm (7); 50 μm (11).



Figuras 12-17. Laticíferos articulados anastomosados de *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. Secções longitudinais (azul de astra e safranina). 12-13. Laticíferos em formação em botões vegetativos. 12. Notar ramificações do sistema laticífero (asterisco) nos primórdios caulinar e foliar. 14-17. Botões florais. 14-16. Laticíferos originados pelo meristema fundamental e procâmbio. 16. Ramo transtelar. 17. Laticífero polinucleado no pedicelo. (seta = parede transversal). Barras = 30 μm (12,14-16); 15 μm (13); 25 μm (17).

Figures 12-17. Articulated anastomosing laticifers of *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. Longisections (astra blue and safranin O). 12-13. Differentiation of laticifers in vegetative buds. 12. Note the laticiferous system branches (asterisk) in the stem and leaf primordia. 14-17. Floral buds. 14-16. Laticifers derived from ground meristem and procambium. 16. Transtelar branch. 17. Multinucleate laticifer in the pedicel. (arrow = transverse wall). Bars = 30 μm (12,14-16); 15 μm (13); 25 μm (17).



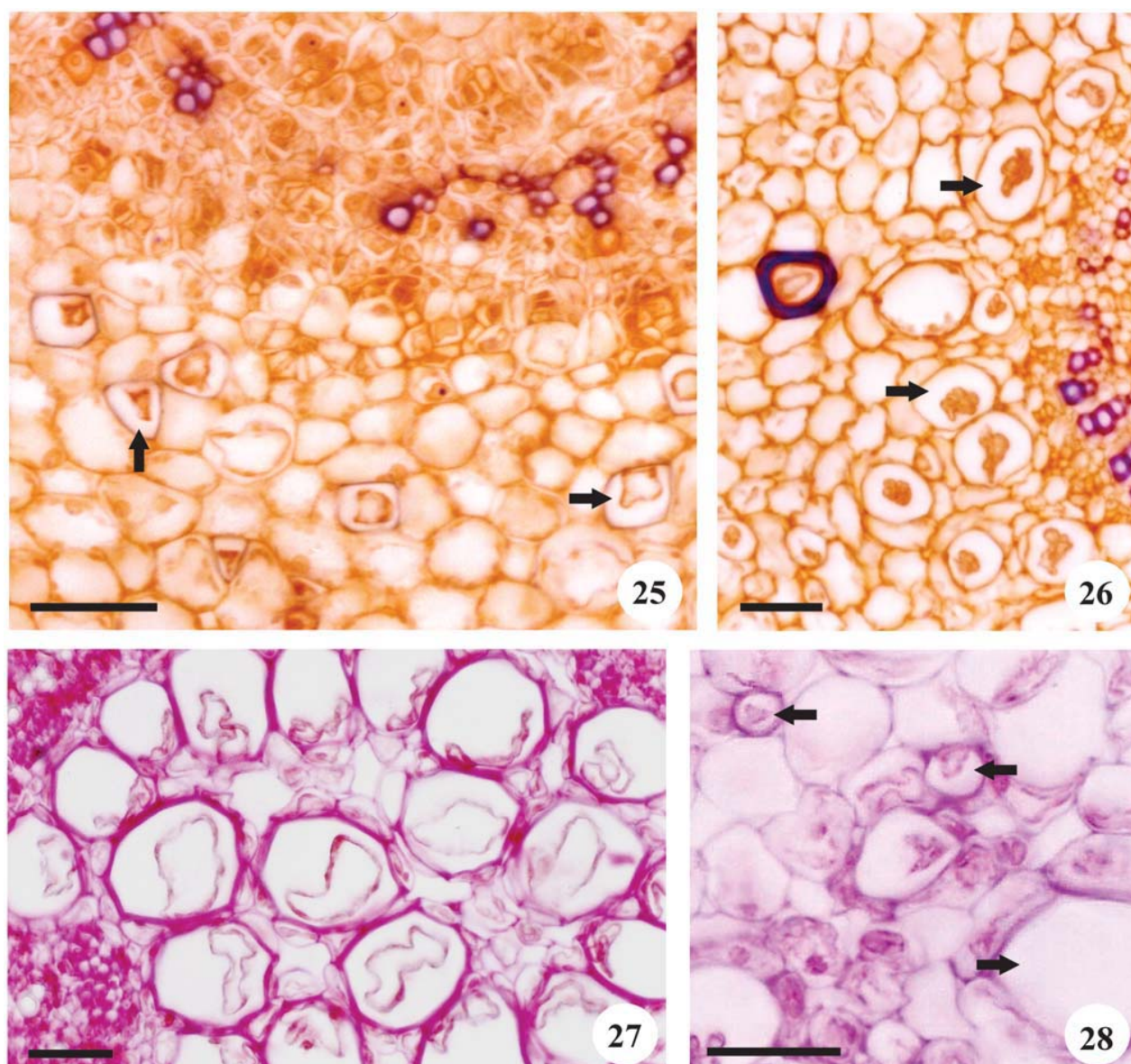
Figuras 18-24. Distribuição dos laticíferos articulados anastomosados em flores de *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. (azul de astra e safranina). 18-19. Pedicelo. 20. Sépala. 21, 24. Pétala. 22. Estame. 23. Corona. 24. Parasita – larva de inseto (seta = laticífero). 18-19, 24. Secções transversais. 20-23. Secções longitudinais. Barras = 75 μm (18,20-21); 50 μm (19,24); 150 μm (22-23).

Figures 18-24. Distribution of articulated anastomosing laticifers in the flowers of *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. (astra blue and safranin O). 18-19. Pedicel. 20. Sepal. 21, 24. Petal. 22. Stamen. 23. Corona. 24. Parasite – insect larva (arrow = laticifer). 18-19, 24. Transections. 20-23. Longisections. Bars = 75 μm (18,20-21); 50 μm (19,24); 150 μm (22-23).

tipos celulares a se diferenciar; sua fase meristemática é muito breve e, enquanto a maioria dos tecidos ainda é meristemática, os laticíferos já estão diferenciados e em fase secretora (figuras 1-5, 12-17).

Nas duas espécies estudadas, os laticíferos são articulados anastomosados formados pela adição de células, cujas paredes transversais dissolvem-se

rapidamente. Poucas células podem ser vistas com estas paredes em suas porções apicais (figuras 2-4, 12-16), pois as células se unem totalmente sem deixar vestígios das paredes separadoras, constituindo um laticífero contínuo (figuras 1-5, 12-17). Nesta região, as paredes dos laticíferos já estão espessadas, embora continuem a crescer em diâmetro posteriormente. O sistema



Figuras 25-28. Laticíferos articulados anastomosados no pedicelo. 25-26. *Aspidosperma australe* Müll. Arg. (tripla coloração de Flemming). 25. Laticíferos jovens (seta); paredes de coloração arroxeada. 26. Laticíferos maduros (seta); paredes de coloração alaranjada. 27-28. *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. Secções tratadas com vermelho de rutênio. Laticíferos maduros (seta). 27. Medula. 28. Córtex. Barra = 30 μ m (25-28).

Figures 25-28. Articulated anastomosing laticifers of pedicel. 25-26. *Aspidosperma australe* Müll. Arg. (Flemming's triple stain). 25. Young laticifers (arrow); walls stained purple. 26. Mature laticifers (arrow); walls stained orange. 27-28. *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. Sections treated with ruthenium red. Mature laticifers (arrow). 27. Pith. 28. Cortex. Bar = 30 μ m (25-28).

laticífero de *A. australe* e *B. bicuspidatum* se origina de células do meristema fundamental e/ou do procâmbio (figuras 1-4, 12-16). Os laticíferos só crescem em comprimento em regiões meristemáticas por adição de novas células e, posteriormente, por alongamento celular. Em todas as regiões onde os laticíferos estão se formando, suas células apicais possuem as mesmas dimensões das demais células das quais se originaram (figuras 2-4, 12-16). A anastomose lateral gera um sistema laticífero ramificado (figura 16); estas ramificações ocorrem no início do desenvolvimento dos laticíferos e são observadas principalmente nas regiões nodais, lâmina foliar e pétalas de *A. australe* e em todos os tecidos do caule, da folha e da flor de *B. bicuspidatum* (figuras 12, 14-16, 23).

O diâmetro dos laticíferos de *A. australe* varia de 8 a 31 μm . Em *B. bicuspidatum*, a maior variação ocorre entre os medulares e corticais do caule, pecíolo e pedicelo (figuras 18-19). Os laticíferos da medula possuem de 21 a 58 μm , enquanto os do córtex, de 5 a 38 μm de diâmetro; geralmente, os corticais mais calibrosos encontram-se próximos ao tecido vascular (figuras 18-19) e, às vezes cruzam-no (figura 19), formando um ramo transtelar (figura 16). Nas demais peças florais, os laticíferos possuem diâmetro menor, mas ainda há variação de calibre (de 4 a 15 μm). O comprimento de um laticífero é de difícil mensuração, mas um mesmo laticífero pode ser observado por toda a extensão dos segmentos de caule, folha e flor seccionados longitudinalmente. Há continuidade entre o sistema laticífero caulinar e foliar (figura 12, asterisco), assim como, entre o caulinar e o floral. Os laticíferos de maior calibre crescem rapidamente em diâmetro, formando um arranjo radial das células parenquimáticas à sua volta (figuras 6, 18-19, 26-28); eles atingem seu diâmetro máximo ainda no início do desenvolvimento do órgão e os de menor calibre, poucas células abaixo de seu ápice.

Os laticíferos já apresentam secreção durante a sua diferenciação (figuras 3-5, 16-17). Nos laticíferos maduros, as células aparentemente permanecem vivas e com a secreção em seu interior, que somente será liberada para o meio extracelular se a planta for injuriada.

Varição das características químicas das paredes dos laticíferos ao longo de seu desenvolvimento foi detectada com a utilização de tripla coloração de Flemming. No início do desenvolvimento, suas paredes coram em roxo pelo violeta cristal (figura 25); posteriormente, quando eles estão totalmente diferenciados, a parede cora apenas pelo laranja G (figura

26). As paredes dos laticíferos possuem muitas vezes a espessura das paredes das células parenquimáticas, variando de 1 a 1,6 μm (figuras 27-28). Embora sejam espessas, elas são exclusivamente primárias e pectocelulósicas (figuras 27-28); elas não reagiram positivamente aos testes para calose, suberina e lignina. Cada laticífero tem muitos núcleos em posição parietal ao longo de sua extensão e cada núcleo tem de um a quatro nucléolos (figuras 5, 17).

O látex preenche os laticíferos desde suas porções mais jovens (figura 16), sendo composto pelo próprio protoplasto do laticífero. A secreção de ambas as espécies apresenta aspecto denso e, *in vivo*, é branca leitosa. Ao seccionar um órgão, imediatamente inicia o extravasamento do látex dos laticíferos interconectados que, em pouco tempo, coagula e sela o órgão injuriado. Folhas com sinais de herbivoria foram poucas vezes observadas e apenas parasitas (larvas de insetos) encontrados nas pétalas do indivíduo de *B. bicuspidatum* coletado em Moji-Guaçu (figura 24). Distribuição – Os laticíferos estão presentes permeando todos os tecidos do caule e da folha (figuras 1, 12-13), excetuando-se a epiderme e as regiões medulares do caule (figura 1) e pecíolo de *A. australe*. Os florais são encontrados no pedicelo (figuras 5-7, 17-19, 25-28), na sépala (figuras 3-4, 8, 20), pétala (figuras 9, 21, 24), no estame (figura 22), ovário (figura 10), estilete (figura 11) e na corona de *B. bicuspidatum* (figura 23). Em *A. australe*, há uma maior concentração de laticíferos nas pétalas na altura dos estames, onde aproximadamente um terço do mesófilo é composto por laticíferos (figura 9). Eles estão ausentes apenas na medula do pedicelo (figura 7) e nos óvulos (figura 10) de *A. australe* e nos óvulos de *B. bicuspidatum*. No pedicelo de *A. australe*, os laticíferos ocorrem quase exclusivamente no parênquima cortical (figuras 6, 25-26), mas alguns podem ser encontrados no floema externo e raramente no floema interno do sifonostelo anfiflóico (figuras 6-7). Em *B. bicuspidatum*, laticíferos de grande calibre com trajetória quase retilínea localizam-se principalmente nas regiões medulares (figuras 18-19, 27); laticíferos de menor calibre são observados nos demais tecidos (figuras 18-24, 28). Eles ramificam-se, principalmente, nas regiões nodais (figura 12) e no receptáculo juntamente com o tecido vascular (figura 14). Ramificações são raras nos laticíferos de *A. australe*, mas muito freqüentes nos de *B. bicuspidatum*. Os laticíferos de *A. australe* são quase exclusivamente retilíneos (figuras 1, 3-5, 8, 10), enquanto os de *B. bicuspidatum* têm comumente contorno sinuoso (figuras 12, 14-15, 22-23).

Discussão

Os extensos laticíferos da grande maioria das Apocynaceae, Euphorbiaceae e Moraceae são considerados não articulados, gerados a partir de células iniciais laticíferas que se alongam por crescimento apical autônomo através de todo o corpo vegetal (Solereeder 1908, Metcalfe 1967, Mahlberg 1993). Os ápices dos laticíferos e de seus ramos são descritos como tendo crescimento intrusivo através dos espaços intercelulares nos diversos tecidos (Mahlberg 1993).

Os laticíferos de *A. australe* Müll. Arg. e de *B. bicuspidatum* Fourn. não têm crescimento intrusivo e, através da análise da série de cortes, também é possível perceber que o ápice agudo, observado muitas vezes, é resultado de uma secção oblíqua à esta célula. Alguns pesquisadores tentaram provar o crescimento apical autônomo dos laticíferos. Entretanto, Snyder (1955) não obteve qualquer crescimento dos laticíferos em cultura asséptica de fragmentos de medula de *Cryptostegia grandiflora* R. Br. No estágio inicial do desenvolvimento floral de *B. bicuspidatum*, há muitos laticíferos atravessando o anel procambial, sem causar qualquer deformidade nestas células intimamente relacionadas. Pela teoria clássica, esse fato é dificilmente explicado. As anastomoses dos laticíferos de *A. australe* e *B. bicuspidatum* ocorrem nas regiões meristemáticas próximo aos seus ápices, ramificando-se por fusão lateral de outras células do meristema fundamental ou do procâmbio; a célula adicionada pode estar em posição apical ou lateral em relação à série, gerando seu contorno sinuoso. Milanez (1960/1961) observou células do procâmbio recém divididas dando origem a um ramo transtelar em *C. grandiflora*, como verificado no nosso estudo.

Embora a grande maioria dos laticíferos já descritos para espécies de Apocynaceae seja considerada do tipo não articulado (Solereeder 1908, Metcalfe 1967, Yoder & Mahlberg 1976, Wilson & Mahlberg 1978, Murugan & Inamdar 1987a, b, Inamdar *et al.* 1988, Roy & De 1992, Mahlberg 1993, Appezzato-da-Glória & Estelita 1997), através de análise cuidadosa das terminações dos extensos laticíferos de *A. australe* e de *B. bicuspidatum*, constata-se que eles são articulados; as paredes transversais das células que o constituem dissolvem-se rapidamente, não sendo observado sinais de dissolução, logo abaixo de seu ápice. Essa observação difere da interpretação dos laticíferos de *Aspidosperma*, considerados não articulados (Solereeder 1908). O mesmo ocorre em *Vinca sardoa* (Stearn) Pign. (Sacchetti *et al.* 1999) e *Stapelia bella* A. Berger (Wilson & Maxam

1987), cujos laticíferos foram descritos como articulados, ao contrário das demais espécies destes gêneros (Solereeder 1908). Há discordância também com relação ao tipo e desenvolvimento dos laticíferos em uma mesma espécie. Segundo Milanez (1960/1961, 1966, 1977), os laticíferos de *C. grandiflora* e *Nerium oleander* L. são formados por fusão celular, contradizendo os registros de laticíferos não articulados obtidos por Blaser (1945) e Mahlberg (1961).

Muitos autores consideraram os laticíferos não articulados presentes em todos os órgãos do indivíduo adulto como sendo resultantes do crescimento de um número pré-determinado de células iniciais laticíferas embrionárias. Em *A. australe* e *B. bicuspidatum*, os laticíferos são constantemente formados por adição de células e dissolução das paredes de contato. Laticíferos são continuamente produzidos no ápice caulinar de *Vallaris solanacea* (Roth) O. Ktze. (Murugan & Inamdar 1987b), nos tecidos primário e secundário de *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e *M. pohliana* (Stadelm.) A.H. Gentry (Appezzato-da-Glória & Estelita 1997), no sistema axial do floema secundário e radial do floema e xilema secundários de *C. grandiflora* (Milanez 1966). Em 1961, Mahlberg registrou a existência de cerca de 28 iniciais laticíferas em *N. oleander*; posteriormente, Milanez (1977) observou que os laticíferos desta espécie cresciam por fusão celular.

Os laticíferos florais de *A. australe* possuem poucas ramificações; no entanto, os foliares formam um sistema muito ramificado (Christiano 2002). Essas ramificações são frequentes em *B. bicuspidatum*. Laticíferos ramificados foram observados em órgãos vegetativos de *Allamanda violacea* Gardn., *Asclepias syriaca* L., *Calotropis gigantea* (Linn.) R. Br. e *M. illustris* e *M. pohliana* (Wilson & Mahlberg 1978, Inamdar *et al.* 1988, Roy & De 1992, Appezzato-da-Glória & Estelita 1997) e em praticamente todas as peças florais, estando ausentes na antera, óvulo e estigma de *Plumeria alba* Linn. e *Vallaris solanacea* (Murugan & Inamdar 1987a, b).

O diâmetro dos laticíferos pode variar bastante em um mesmo órgão. No presente estudo, a maior diferença ocorre entre os laticíferos medulares e os demais. Esse fato também foi verificado entre os laticíferos florais de *P. alba* e *V. solanacea* (Murugan & Inamdar 1987a, b). Aqueles de grande calibre atingem seu tamanho final por aumento do diâmetro das células que os compõem; os de pequeno calibre podem ser formados por divisão desigual das células meristemáticas, como em *N. oleander* (Milanez 1977), ou por células que mantêm o diâmetro inicial.

As paredes dos laticíferos podem ser tão finas quanto as paredes das células parenquimáticas ou mais espessas (Fahn 1979, Mahlberg 1993), como em *B. bicuspidatum*. Elas são exclusivamente primárias e podem ter substâncias incrustante ou adcrustante que selam o sistema laticífero dos demais tecidos (Fineran *et al.* 1988, Fahn 1990). As paredes dos laticíferos de *A. australe* e de *B. bicuspidatum* não reagiram positivamente aos testes para calose, suberina e lignina; portanto, suas paredes são exclusivamente pectocelulósicas. Lamela de suberina foi encontrada nas paredes dos laticíferos de espécies de Convolvulaceae (Fineran *et al.* 1988); contudo, esta característica parece estar restrita à esta família. As paredes dos laticíferos de *Asclepias speciosa* Torr. foram investigadas com relação à presença de substâncias que as diferenciem das paredes das demais células (Serpe *et al.* 2001); calose, proteínas, lignina e compostos fenólicos não foram encontrados, mas constatou-se que a porção madura dos laticíferos tem propriedades citoquímicas diferentes das paredes da porção mais jovem com relação a epitopos de pectina. A distinta coloração da parede da porção jovem (roxa) e a da porção madura (laranja) dos laticíferos através da coloração de Flemming, encontrado no nosso estudo, pode indicar que há diferença de composição entre as porções jovens e maduras das paredes dos laticíferos de *A. australe*.

O látex está presente desde a porção mais jovem do laticífero. Ele foi considerado por Backhaus & Walsh (1983) como um citoplasma especializado; entretanto, sua natureza “protoplásmica” já havia sido proposta por Milanez (1946) para os laticíferos de *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. No nosso trabalho, o conceito de látex está sendo atualizado e considerado o protoplasto do laticífero. Essa secreção somente é liberada para o meio extracelular se a planta for injuriada. O látex de *A. australe* e de *B. bicuspidatum* é branco leitoso, mas látex avermelhado e amarelado já foram registrados para outras espécies da família (Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996, Endress & Bruyns 2000).

Muitos núcleos são observados nos laticíferos de *A. australe* e de *B. bicuspidatum*. Em geral, os laticíferos multinucleados são considerados estruturas cenocíticas, embora a maioria dos pesquisadores não tenha detectado a ocorrência de qualquer divisão nuclear nos laticíferos (Mahlberg 1993). Em *A. australe* e *B. bicuspidatum*, assim como em *C. grandiflora* e *N. oleander*, o protoplasto multinucleado é resultante de fusão de células que são constantemente adicionadas ao sistema (estrutura sincicial).

Os laticíferos estão presentes nos tecidos fundamental e vascular do caule, da folha e flor das duas espécies em estudo, com exceção do parênquima medular do caule, pecíolo e pedicelo de *A. australe* e dos óvulos destas espécies. Em todos os demais membros da família descritos, até o momento, os laticíferos ocorrem na medula dos órgãos vegetativos e florais. A ausência de laticíferos nas regiões medulares de *A. australe* talvez indique a ancestralidade do gênero na família.

Aspidosperma (Rauvolfioideae) e *Blepharodon* (Asclepiadoideae) estão posicionados em extremos opostos na classificação da família segundo Endress & Bruyns (2000) e a presença do mesmo tipo de laticífero em *A. australe* e *B. bicuspidatum* é um caráter adicional que evidencia a relação filogenética das duas espécies. Laticíferos articulados já foram registrados em *Vinca sardoa* (Rauvolfioideae), *Nerium oleander* (descritos como laticíferos contínuos; Apocynoideae), *Cryptostegia grandiflora* (sob laticíferos contínuos; Periplocoideae) e *Stapelia bella* (Asclepiadoideae), sendo encontrados em quatro das cinco subfamílias (Milanez 1960/1961, 1966, 1977, Wilson & Maxam 1987; Sacchetti *et al.* 1999) e corroborando a atual circunscrição de Apocynaceae. Os resultados obtidos neste trabalho divergem dos publicados para espécies de *Aspidosperma* e ressaltam a importância da ontogênese para se identificar o tipo de laticífero. Novos estudos são necessários para reavaliar se os extensos laticíferos já descritos para o gênero seriam de fato não articulados ou seriam articulados com rápida dissolução das paredes transversais.

As funções atribuídas ao látex são as de proteção contra herbívoros e microorganismos, e de selar ferimentos (Fahn 1979, 1990, Farrel *et al.* 1991). As observações de campo confirmam essas funções para os indivíduos de *A. australe* e *B. bicuspidatum*. Durante as coletas, a sua rápida coagulação demonstra a eficiência dessa secreção em selar ferimentos, impedindo a entrada de microorganismos. A hipótese de proteção contra herbivoria é corroborada, já que são raros os sinais de predação. Em *A. australe*, parasitas não foram encontrados em botões e flores adultas. Em *B. bicuspidatum*, a ocorrência de parasitas (larvas de insetos) nas pétalas foi freqüente. Embora poucos insetos consigam se alimentar de plantas latescentes, alguns fitófagos desenvolveram mecanismos para combater este sistema de defesa coevolutivamente (Dussourd & Eisner 1987, Christiano 2002). A presença de laticíferos em Apocynaceae tem importância devido à proteção conferida pelo látex e propicia o sucesso

das espécies nos diversos ambientes, como proposto por Farrell *et al.* (1991) para plantas latexíferas e resiníferas.

Agradecimentos – Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa de mestrado (proc. 02/11881-3) e pelo auxílio ao projeto temático (Biota/Fapesp proc. 00/12469-3) concedidos.

Referências bibliográficas

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 1997. Laticifers systems in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* Apocynaceae. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 66:301-306.
- BACKHAUS, R.A. & WALSH, S. 1983. The ontogeny of rubber formation in guayule, *Parthenium argentatum* Gray. Botanical Gazette 144:391-400.
- BLASER, H.W. 1945. Anatomy of *Cryptostegia grandiflora* with special reference to the latex system. American Journal of Botany 32:135-141.
- CHRISTIANO, J.C.S. 2002. Respostas cecidogênicas no modelo *Aspidosperma australe* (Apocynaceae) – *Pseudophacopteron* sp. (Homoptera: Phacopteronidae). Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CLARK, G. 1973. Staining procedures. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- DUSSOURD, D.E. & EISNER, T. 1987. Vein-cutting behavior: insect counterploit to the latex defense of plants. Science 237:898-901.
- ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. 2000. A Revised Classification of Apocynaceae *s.l.* The Botanical Review 66:1-56.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press Inc., London.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- FARRELL, B.D., DUSSOURD, D.E. & MITTER, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? American Naturalist 138:881-900.
- FINERAN, B.A., CONDON, J.M. & INGERFELD, M. 1988. An impregnated suberized wall layer in laticifers of the Convolvulaceae and its resemblance to that in walls of oil cells. Protoplasma 147:42-54.
- GERLACH, D. 1969. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. Georg Thieme, Stuttgart.
- INAMDAR, J.A., MURUGAN, V. & SUBRAMANIAN, R.B. 1988. Ultrastructure of non-articulated laticifers in *Allamanda violacea*. Annals of Botany 62:583-588.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.S. 2002. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Sunderland.
- LEWINSOHN, T.M. 1991. The geographical distribution of plant latex. Chemoecology 2:64-68.
- MAHLBERG, P.G. 1961. Embriogeny and histogenesis in *Nerium oleander* L.: II. Origin and development of the non-articulated laticifers. American Journal of Botany 48:90-99.
- MAHLBERG, P.G. 1993. Laticifers: an historical perspective. The Botanical Review 59:1-23.
- MAHLBERG, P.G., DAVIS, D.G., GALITZ, D.S. & MANNERS, G.D. 1987. Laticifers and the classification of *Euphorbia*: the chemotaxonomy of *Euphorbia esula* L. Botanical Journal of the Linnean Society 94:165-180.
- MARCONDES-FERREIRA, W. & KINOSHITA, L.S. 1996. Uma nova divisão infragenérica para *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 19:203-214.
- METCALFE, C.R. 1967. Distribution of latex in the plant kingdom. Economic Botany 21:115-127.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. v. 2, Clarendon Press, Oxford.
- MILANEZ, F.R. 1946. Nota prévia sobre os laticíferos de *Hevea brasiliensis*. Arquivos do Serviço Florestal 2:39-65.
- MILANEZ, F.R. 1960/1961. Contribuição ao conhecimento anatômico de *Cryptostegia grandiflora* - II. Sobre os laticíferos da estrutura primária (Asclepiaceae). Rodriguésia 35/36:99-128.
- MILANEZ, F.R. 1966. Contribuição ao conhecimento anatômico de *Cryptostegia grandiflora* - III. Nota sobre a estrutura secundária. Rodriguésia 25:335-350.
- MILANEZ, F.R. 1977. Ontogênese dos laticíferos contínuos de *Neridium (Nerium) oleander* L. Trabalhos do XXVI Congresso Nacional de Botânica, Rio de Janeiro 1975:343-379.
- MURUGAN, V. & INAMDAR, J.A. 1987a. Studies in the laticifers of *Vallaris solanacea* (Roth) O. Ktze. Phytomorphology 37:209-214.
- MURUGAN, V. & INAMDAR, J.A. 1987b. Organographic distribution, structure and ontogeny of laticifers in *Plumeria alba* Linn. Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences) 97:25-31.
- PEARSE, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applied. v. 2, C. Livingstone, Edinburgh.
- ROY, A.T. & DE, D.N. 1992. Studies on differentiation of laticifers through light and electron microscopy in *Calotropis gigantea* (Linn.) R. Br. Annals of Botany 70:443-449.
- SACCHETTI, G., BALLERO, M., SERAFINI, M., ROMAGNOLI, C., BRUNI, A. & POLI, F. 1999. Laticifer tissue distribution and alkaloid location in *Vinca sardoia* (Stearn) Pign. (Apocynaceae), an endemic plant of Sardinia (Italy). Phytomorphology 39:265-275.
- SERPE, M.D., MUIR, A.J. & KEIDEL, A.M. 2001. Localization of cell wall polysaccharides in nonarticulated laticifers of *Asclepias speciosa* Torr. Protoplasma 216:215-226.

- SMITH, M.M. & MCCULLY, M.E. 1978. A critical evaluation of the specificity of aniline blue induce fluorescence. *Protoplasma* 95:229-254.
- SNYDER, F.W. 1955. Growth of excised tissues from the stem of *Cryptostegia grandiflora*. *Botanical Gazette* 117:147-155.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. v.1 e 2, Clarendon Press, Oxford.
- VALENTE, M.C. & CARVALHO, L. d' A.F. 1973. Plantas da caatinga. I - Apocynaceae. Anatomia e desenvolvimento de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. var. *molle* Muell. Arg. - "Pereiro". *Revista Brasileira de Biologia* 33:285-301.
- VAN DIE, J. 1955. A comparative study of the particle fractions from Apocynaceae latices. *Annales Bogorienses* 2:1-124.
- WILSON, K.J. & MAHLBERG, P.G. 1978. Ultrastructure of non-articulated laticifers in mature embryos and seedlings of *Asclepias syriaca* L. (Asclepiadaceae). *American Journal of Botany* 65:98-109.
- WILSON, K.J. & MAXAM, T.E. 1987. Ultrastructure of articulated laticifers in *Stapelia bella* (Asclepiadaceae). *American Journal of Botany* 74:628-628.
- YODER, L.R. & MAHLBERG, P.G. 1976. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). *American Journal of Botany* 63:1167-1173.