

Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas¹

MARIA CAROLINA S. RIO², LUIZA S. KINOSHITA² e MARÍLIA M. CASTRO^{2,3}

(recebido: 13 de janeiro de 2005; aceito: 13 de outubro de 2005)

ABSTRACT – (Leaf anatomy as subsidy to the taxonomy of *Forsteronia* G.Mey. species (Apocynaceae) in cerrados of São Paulo). The foliar anatomy of four cerrado species of *Forsteronia* was investigated in order to determine characters that could help to identify individuals collected in vegetative stage. Specimens of *F. pubescens* A.DC., *F. thyrsoides* (Vell.) Müll.Arg., *F. australis* Müll.Arg., and *F. glabrescens* Müll.Arg. were collected in Moji-Guaçu and Itirapina cities (São Paulo state, Brazil). Results support the use of foliar features to achieve determination of individuals in vegetative state. *Forsteronia australis* differs from *F. glabrescens* in two macromorphological and four anatomical characters: 1. petiole outline in transverse sections; 2. occurrence of phloem strand above the petiole's midvein; 3. occurrence of secretory hypoderm in the petiole; 4. occurrence of trichomes in the domatia; 5. occurrence of secretory idioblasts and the aspect of their secretion; 6. axilar colleter type. *F. pubescens* is distinguished from *F. thyrsoides* by eight characters: 1. petiole outline in transverse sections; 2. occurrence of phloem strands above the petiole midrib; 3. midvein shape; 4. position of secretory idioblasts in the petiole; 5. mesophyll type; 6. occurrence of crystal idioblasts; 7. occurrence of secretory idioblasts around main vascular bundle; 8. occurrence of axilar branched collaters. This is the first work describing domatia anatomy and sessile and branched collaters in vegetative organs of species of Apocynaceae. The characters described herein have taxonomic significance and are useful to identify *Forsteronia* species, thus contributing to a better delimitation of similar species found in *cerrado* vegetation of São Paulo.

Key words - “cerrado” vegetation, domatia, *Forsteronia*, leaf anatomy, secretory structures

RESUMO – (Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G.Mey (Apocynaceae) dos cerrados paulistas). Quatro espécies de *Forsteronia* encontradas em regiões de cerrado tiveram sua anatomia foliar investigada com o objetivo de levantar caracteres que auxiliem a identificar indivíduos em estágio vegetativo. Indivíduos de *F. australis* Müll.Arg., *F. glabrescens* Müll.Arg., *F. pubescens* A.DC. e *F. thyrsoides* (Vell.) Müll.Arg. foram coletados em Moji-Guaçu e Itirapina (São Paulo, Brasil). De acordo com os dados obtidos, é possível identificar indivíduos em estágio vegetativo através da estrutura foliar. Dois caracteres macromorfológicos e quatro anatômicos diferenciam *F. australis* de *F. glabrescens*: 1. contorno do pecíolo em secção transversal; 2. ocorrência de cordão de floema acima do feixe vascular no pecíolo; 3. ocorrência de hipoderme secretora no pecíolo; 4. ocorrência de indumento nas domácias; 5. ocorrência de idioblastos secretores e aspecto da sua secreção; 6. tipo dos coléteres axilares. *F. pubescens* distingue-se de *F. thyrsoides* por oito caracteres: 1. contorno do pecíolo em secção transversal; 2. ocorrência de cordões de floema acima do feixe vascular no pecíolo; 3. formato do feixe vascular; 4. posição dos idioblastos secretores no pecíolo; 5. tipo de mesofilo; 6. ocorrência de idioblastos cristalíferos; 7. ocorrência de idioblastos secretores ao redor do feixe vascular mediano; 8. ocorrência de coléter axilar ramificado. A anatomia das domácias e os coléteres dos tipos sésil e ramificado são ineditamente descritos para órgãos vegetativos de espécies de Apocynaceae. Os caracteres levantados têm importância taxonômica e são úteis na identificação das espécies de *Forsteronia*, contribuindo dessa forma para uma melhor delimitação das espécies consideradas semelhantes ocorrentes nos cerrados paulistas.

Palavras-chave - anatomia foliar, cerrado, domácias, estruturas secretoras, *Forsteronia*

Introdução

Incluído na subfamília *Apocynoideae* Burnett (Endress & Bruyns 2000), *Forsteronia* G.Mey. é

constituído por 46 espécies de distribuição neotropical, cujos representantes são predominantemente lianas, raro arbustos; para o Brasil, já foram registradas 24 espécies (Hansen 1985). O levantamento da Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo (Koch & Kinoshita 2005) localizou nove espécies, das quais quatro, *F. australis* Müll.Arg., *F. glabrescens* Müll.Arg., *F. pubescens* A.DC. e *F. thyrsoides* (Vell.) Müll.Arg., podem ser encontradas em regiões de cerrado. Em estágio vegetativo, *F. australis* é muito semelhante a *F. glabrescens*, e *F. thyrsoides* pode ser facilmente confundida com

1. Parte da tese de doutorado de Maria Carolina S. Rio, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, 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: mariliac@unicamp.br

F. pubescens, sendo diferenciadas apenas por caracteres essencialmente reprodutivos.

Poucos trabalhos referentes aos caracteres anatômicos vegetativos de espécies de Apocynaceae foram realizados, destacando-se aqueles relacionados à arquitetura foliar de 29 espécies pertencentes a 19 gêneros (Mohan & Inamdar 1982), anatomia de folhas xeromórficas em espécies de *Allamanda*, *Thevetia* e *Vinca* (Fjell 1983), anatomia do sistema aéreo, coléteres e ultra-estrutura dos laticíferos em espécies de *Mandevilla* (Appezato-da-Glória & Estelita-Teixeira 1992, Appezato-da-Glória & Estelita 1997, 2000).

Domácias estão presentes em 37 espécies de Apocynaceae, estando incluída *F. brasiliensis* A.DC. (Brouwer & Clifford 1990, Gregory 1990). Tais estruturas são mencionadas para algumas espécies de *Forsteronia* na obra de revisão de Hansen (1985) e foram adotadas como um caráter importante para separar grupos em chave de identificação de espécies (Koch & Kinoshita 2005). Glândulas nodais e foliares, posicionadas na base da nervura mediana, foram registradas para o gênero (Hansen 1985) e identificadas como coléteres em estudos recentes de representantes dessa família (Rio *et al.* 2002, Koch & Kinoshita 2005).

Solereder (1908) descreveu a ocorrência de laticíferos e de floema intraxilemático para as folhas de *Forsteronia*. Metcalfe & Chalk (1950, 1979) citaram o gênero no item de anatomia geral, mas não o mencionaram nas descrições detalhadas. Faltam dados anatômicos sobre as espécies brasileiras de *Forsteronia*, uma vez que estudos desta natureza ainda não foram realizados (Hansen 1985).

A presente investigação teve por objetivo levantar caracteres anatômicos foliares que pudessem auxiliar na taxonomia do gênero, principalmente em espécies de cerrado, facilitando a distinção entre espécies semelhantes

ou próximas, que são difíceis de serem diferenciadas pela morfologia externa. Especial atenção foi dada à caracterização anatômica das domácias e das estruturas secretoras foliares.

Material e métodos

Ramos vegetativos de indivíduos de *Forsteronia australis* Müll.Arg., *F. glabrescens* Müll.Arg., *F. pubescens* A.DC. e *F. thyrsoides* (Vell.) Müll.Arg. foram coletados na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu (Fazenda Campininha) e/ou na Estação Ecológica e Experimental de Itirapina, dependendo da disponibilidade de material; material testemunha para cada indivíduo foi providenciado e está sendo incorporado no Herbário UEC. Dois indivíduos de cada espécie (três no caso de *F. pubescens*) foram utilizados nos estudos morfológicos; para *F. thyrsoides* e *F. pubescens*, recorreu-se também a material herborizado (tabela 1). A identificação dos indivíduos foi realizada pela Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita e pelo Dr. André Olmos Simões. Observações sobre a fenologia dos indivíduos marcados da Fazenda Campininha foram realizadas mensalmente durante o ano de 2003.

O material coletado foi fixado em FAA (Johansen 1940) por 24 horas. Alguns indivíduos foram fixados em formalina neutra tamponada (FNT) por 48 horas (Lillie 1948 *apud* Clark 1973) e em sulfato ferroso em formalina (SFF) por 48 horas (Johansen 1940). Todo o material fixado foi estocado em etanol 70%. Folhas adultas foram selecionadas do material fixado ou herborizado e ápices caulinares vegetativos foram isolados do material fixado. A região mediana da folha adulta e a região proximal do pecíolo (junto à base da lâmina foliar) foram utilizadas para o estudo estrutural; a nervura mediana e a margem da lâmina foram isoladas em peças com cerca de 1 cm².

Ápices vegetativos e peças isoladas das folhas adultas foram transferidos para álcool butílico 70, desidratados pela série butílica (Johansen 1940) e incluídos em Paraplast. Cortes

Tabela 1. Relação dos espécimes de *Forsteronia*.

Table 1. List of *Forsteronia* specimens.

Espécie	Indivíduo	Local (tipo de vegetação)	Coletor e número	Data
<i>Forsteronia australis</i>	AUS1	Moji-Guaçu (cerrado)	M.C.S. do Rio <i>et al.</i> 21	6.I.2002
	AUS2	Moji-Guaçu (cerrado)	M.C.S. do Rio <i>et al.</i> 26	6.II.2003
<i>F. glabrescens</i>	GLA1	Moji-Guaçu (cerrado)	M.C.S. do Rio <i>et al.</i> 19	22.XI.2001
	GLA8	Itirapina (cerrado)	M.C.S. do Rio <i>et al.</i> 32	8.XI.2003
<i>F. pubescens</i>	PUB1	Itirapina (cerrado)	M.C.S. do Rio <i>et al.</i> 28	8.XI.2003
	PUB94	São José do Rio Pardo (cerradão)	L.S. Kinoshita & A. Sartori 94-19	8.XI.1994
	PUB95	Suzanópolis (cerrado)	M.R. Pereira-Noronha <i>et al.</i> 1583	VIII.1995
<i>F. thyrsoides</i>	THY1	Itirapina (cerrado)	M.C.S. do Rio <i>et al.</i> 29	8.XI.2003
	THY98	Pilar do Sul – Sarapuí (cerrado)	A.M.G.A. Tozzi <i>et al.</i> 357	3.XII.1998

seriados longitudinais e transversais, com espessura de 12 a 16 μm , foram obtidos em micrótomo rotativo, corados com safranina e azul de astra (Gerlach 1969) e as lâminas montadas em resina sintética Permout. Os cortes obtidos a partir do material fixado em SFF (Johansen 1940), específico para evidenciar compostos fenólicos, foram desparafinizados, diafanizados e montados em resina sintética.

Folhas adultas selecionadas de exsiccatas de *F. pubescens* e *F. thyrsoides* depositadas no Herbário UEC foram hidratadas; o material permaneceu em hidróxido de potássio para distensão dos tecidos (Smith & Smith 1942) e folhas inteiras foram utilizadas para a clarificação da lâmina foliar. A região mediana da lâmina foliar e a região proximal do pecíolo foram isoladas para inclusão das peças em resina plástica. As peças isoladas foram desidratadas rapidamente, transferidas para etanol 100% e incluídas em resina plástica (Gerrits 1991). Cortes com 10 μm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo e corados com azul de toluidina 0,05% pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964); as lâminas permanentes, montadas em resina sintética.

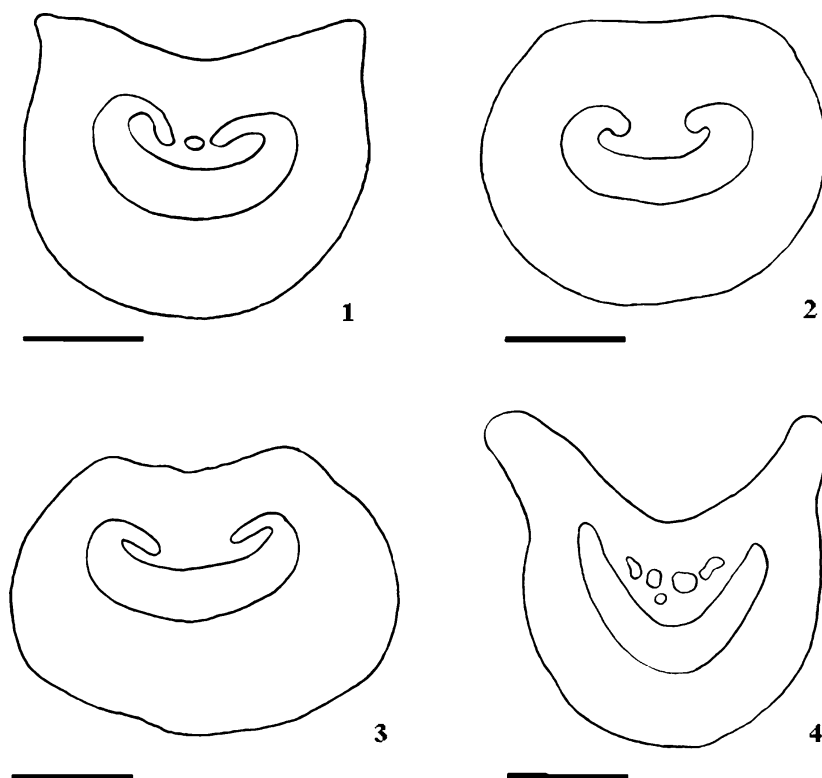
Para a clarificação das lâminas foliares, foram utilizadas folhas adultas fixadas em FAA (*F. australis* e *F. glabrescens*) ou hidratadas de material herborizado (*F. pubescens* e *F. thyrsoides*). As folhas foram diafanizadas e coradas

segundo Shobe & Lersten, modificado por Monteiro *et al.* (1979), para estudo da epiderme em vista frontal, com especial atenção às domácias.

Os esquemas dos pecíolos foram obtidos em câmara clara acoplada a microscópio. As ilustrações foram efetuadas através de fotomicrografias coloridas obtidas em microscópio Olympus BX51 com o uso de filme Kodak ProImage 100 ou Kodak Gold 100; as escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações. Todas as figuras foram digitalizadas com alta resolução (600 dpi) e as pranchas montadas em meio digital.

Resultados

Os dados referentes ao pecíolo (figuras 1-17) e lâmina foliar (figuras 18-41) permitem diferenciar *Forsteronia australis* Müll.Arg. (figuras 1, 5-8, 18-23) de *F. glabrescens* Müll.Arg. (figuras 2, 9-12, 24-29) e *F. pubescens* A.DC. (figuras 3, 13, 14, 30-36) de *F. thyrsoides* (Vell.) Müll.Arg. (figuras 4, 15-17, 37-41). Pecíolo – O contorno da secção transversal do pecíolo (figuras 1-4) é um carácter macromorfológico útil na



Figuras 1-4. Esquemas das secções transversais da região proximal dos pecíolos obtidos dos cortes ilustrados nas figuras 5, 9, 13 e 15 respectivamente. 1. *F. australis*. 2. *F. glabrescens*. 3. *F. pubescens*. 4. *F. thyrsoides*. Barras = 500 μm .

Figures 1-4. Diagrams of petiole outline and midrib in transection obtained from sections illustrated in figures 5, 9, 13 and 15, respectively. 1. *F. australis*. 2. *F. glabrescens*. 3. *F. pubescens*. 4. *F. thyrsoides*. Bars = 500 μm .

distinção das espécies. *Forsteronia australis* (figuras 1, 5) e *F. thyrsoides* (figuras 4, 15) possuem o pecíolo achatado dorsiventralmente. *Forsteronia glabrescens* e *F. pubescens* têm pecíolos cilíndricos (figuras 2, 3, 9, 13). A epiderme apresenta células pequenas com paredes arqueadas (figuras 6, 10, 14), com aspecto papiloso apenas em *F. thyrsoides* (figuras 16, 17). O feixe vascular é bicolateral em todas as espécies e tem formato de arco tênue com as extremidades curvas em *F. australis* (figuras 5, 7) e *F. glabrescens* (figuras 9, 11); arco tênue em *F. pubescens* (figura 13) e arco pronunciado em formato de “V” em *F. thyrsoides* (figura 15). Cordões de floema são observados acompanhando o feixe mediano em *F. australis* (figuras 5, 7, 8) e *F. thyrsoides* (figura 15).

Forsteronia australis difere de *F. glabrescens* quanto à distribuição dos idioblastos secretores. Em *F. australis*, os idioblastos são raros e possuem um conteúdo fracamente corado (figura 6), sendo encontrados no córtex, acima da nervura mediana (figura 5), e junto ao floema (figuras 7, 8). Em *F. glabrescens*, os idioblastos constituem uma hipoderme contínua em toda a circunferência do pecíolo; também estão presentes no parênquima cortical (figura 9) e apresentam um conteúdo acidófilo de aspecto denso fortemente corado pela safranina (figuras 10, 12).

Forsteronia thyrsoides também difere de *F. pubescens* quanto à posição dos idioblastos secretores, que se encontram dispersos na porção inferior do córtex e seu conteúdo apresenta coloração verde (figura 15). Idioblastos nesta posição nunca foram observados em *F. pubescens* (figura 13); nessa espécie, eles ocorrem associados ao floema do feixe mediano e também possuem um conteúdo acidófilo de aspecto denso, corado em vermelho pela safranina.

Laticíferos foram observados no córtex e ao redor dos feixes vasculares (indicados por setas) em todas as espécies. Suas células apresentam parede espessa em *F. australis* e *F. glabrescens* (figuras 8, 12) e calibre maior que as demais em *F. pubescens* e *F. thyrsoides* (figuras 13, 15).

Lâmina foliar – Nas quatro espécies estudadas, a epiderme é unisseriada em ambas as faces (figuras 18, 23-26, 30, 31, 37, 38). *Forsteronia australis* e *F. glabrescens* possuem células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas (figuras 22 e 27, respectivamente); em *F. pubescens* (figura 34) e *F. thyrsoides* as paredes são retas, o que confere um aspecto poligonal a essas células.

Estômatos estão restritos à epiderme da face inferior, são predominantemente do tipo paracítico (figura 22) e

encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas (figuras 23, 26, 31, 38). Tricomas multicelulares unisseriados não secretores são encontrados em três espécies; em *F. glabrescens*, eles estão restritos às criptas das domácias (figura 25). Em *F. pubescens* (figura 36) e *F. thyrsoides*, esses tricomas predominam ao longo das nervuras mediana e laterais, principalmente na face inferior. Nesta última espécie, um adensamento de tricomas tectores é observado nas axilas da nervura mediana com as laterais. Apenas a epiderme de *F. australis* é glabra.

Em corte transversal (figuras 18, 24, 30, 37), as células epidérmicas da nervura mediana são menos volumosas que as demais, tanto na face superior quanto na inferior. Ao longo da nervura, duas a três camadas de colênquima ocorrem junto à epiderme em ambas as faces da lâmina foliar.

O feixe vascular é bicolateral e apresenta formato de arco (figuras 18, 24, 30) à exceção de *F. thyrsoides*, que tem arco pronunciado em forma de “V” e cinco cordões de floema voltados em direção à face adaxial (figura 37); apenas *F. pubescens* possui costela na nervura mediana (figura 30). O metaxilema é constituído por elementos de condução de grande calibre entremeados por células parenquimáticas pouco volumosas (figuras 18, 24, 30, 33, 37, 40). Células esclerenquimáticas são encontradas acima do floema próximo à face superior em *F. australis* (figura 18) e *F. glabrescens* (figura 24). O floema apresenta idioblastos secretores de compostos fenólicos com conteúdo de aspecto denso em *F. australis* (figura 18), *F. pubescens* (figura 13) e *F. glabrescens* (figuras 24, 25).

Laticíferos são encontrados ao redor do feixe vascular mediano (figuras 18, 24, 30, 33, 37, 40, 41). Essas estruturas (setas) possuem parede espessada em *F. pubescens* (figura 33) e calibre maior que as demais células em *F. thyrsoides* (figuras 37, 40, 41).

As espécies apresentam mesofilo dorsiventral (figuras 23, 26, 38) exceto *F. pubescens* (figura 31), cujo mesofilo é homogêneo, sem clara distinção entre parênquima paliádico e lacunoso. O número de camadas do clorênquima é próximo de cinco em *F. australis* (figura 23); de três em *F. glabrescens* (figura 26) e *F. pubescens* (figura 31) e de duas em *F. thyrsoides* (figura 38). Laticíferos são encontrados apenas em *F. australis* (figura 23).

Os feixes vasculares do mesofilo são bicolaterais em *F. glabrescens* (figura 26) e colaterais em *F. australis* (figura 23), *F. pubescens* (figura 31) e em *F. thyrsoides* (figura 38). Em *F. pubescens*, a bainha parenquimática do feixe apresenta cloroplastos e as suas extensões

atingem a epiderme em ambas as faces (figura 31). Fibras não são registradas nos feixes vasculares de *F. thyrsoidea* e a bainha do feixe com suas extensões são bem definidas (figura 38). Apenas *F. pubescens* apresenta costela nas nervuras laterais de primeira ordem (figura 31).

Dois tipos de idioblastos foram encontrados: os secretores, com conteúdo granuloso (figura 23) ou denso (figura 26); e os cristalíferos, sob a forma de drusas (figura 26), cristais romboidais (figura 29) ou prismáticos (figura 35).

Os idioblastos secretores estão presentes em *F. australis* (figuras 20, 23), *F. glabrescens* (figuras 24-26) e *F. thyrsoidea* (figuras 37, 41). Nas duas primeiras, eles estão distribuídos no parênquima paliçádico, onde apresentam formato retangular (figuras 23, 26) e na bainha dos feixes vasculares e suas extensões, onde são arredondados; na terceira, estão presentes no córtex, ao redor do feixe vascular mediano (figuras 37, 41). Os idioblastos de *F. glabrescens* são mais longos que as demais células do parênquima paliçádico (figura 26) e podem apresentar conteúdo denso (figura 26) ou granuloso (figura 25). Em *F. australis*, há somente idioblastos com conteúdo granuloso (figuras 20, 23), três a quatro vezes mais longos que as células do parênquima paliçádico (figura 23).

Idioblastos cristalíferos são observados dispersos no mesofilo em todas as espécies estudadas à exceção de *F. thyrsoidea*. O formato dos cristais e sua frequência variam de espécie para espécie. *Forsteronia glabrescens* apresenta drusas (figuras 26, 29) e cristais romboidais em grande quantidade (figura 29); em *F. australis*, ambos os tipos de cristais são raros. *Forsteronia pubescens* apresenta cristais prismáticos (figura 35) e drusas.

Forsteronia pubescens e *F. thyrsoidea* diferem quanto ao tipo de idioblastos que apresentam. *Forsteronia pubescens* possui idioblastos cristalíferos com cristais prismáticos dispersos pelo parênquima ao redor da nervura mediana (figura 30); esse tipo de idioblasto não foi registrado em *F. thyrsoidea*. Já nesta última, idioblastos secretores com conteúdo acidófilo (denso ou granuloso) são encontrados no parênquima fundamental ao redor do feixe vascular (figura 37); esses idioblastos não ocorrem nesta posição em *F. pubescens* (figura 30).

Domácias foram registradas em *F. australis* (figuras 19, 20) e *F. glabrescens* (figura 25), estando presentes nas axilas da nervura mediana com as laterais, na face inferior da lâmina foliar. Em *F. australis*, as domácias estão restritas à região mediana da lâmina, as criptas são rasas e revestidas por duas camadas de

células com conteúdo granuloso; tricomas não são observados (figuras 19, 20). Em *F. glabrescens*, elas são encontradas ao longo da nervura mediana, em quase toda a extensão da lâmina foliar, estando ausentes apenas no ápice e na base da lâmina. São criptas profundas revestidas por duas camadas de células obliteradas; tricomas tectores multicelulares unisseriados, eretos ou recurvados, estão presentes apenas próximo à região de abertura da cripta (figura 25). Em ambas as espécies, observa-se que a cripta é formada com redução apenas do parênquima lacunoso (figuras 19, 20, 25).

Coléteres em fase secretora são encontrados nos ápices caulinares vegetativos das quatro espécies (figuras 21, 28, 32, 39). Todos eles têm origem no primórdio foliar, ocupando posição marginal ou axilar e não apresentam tecido vascular ou qualquer tipo de modificação estrutural.

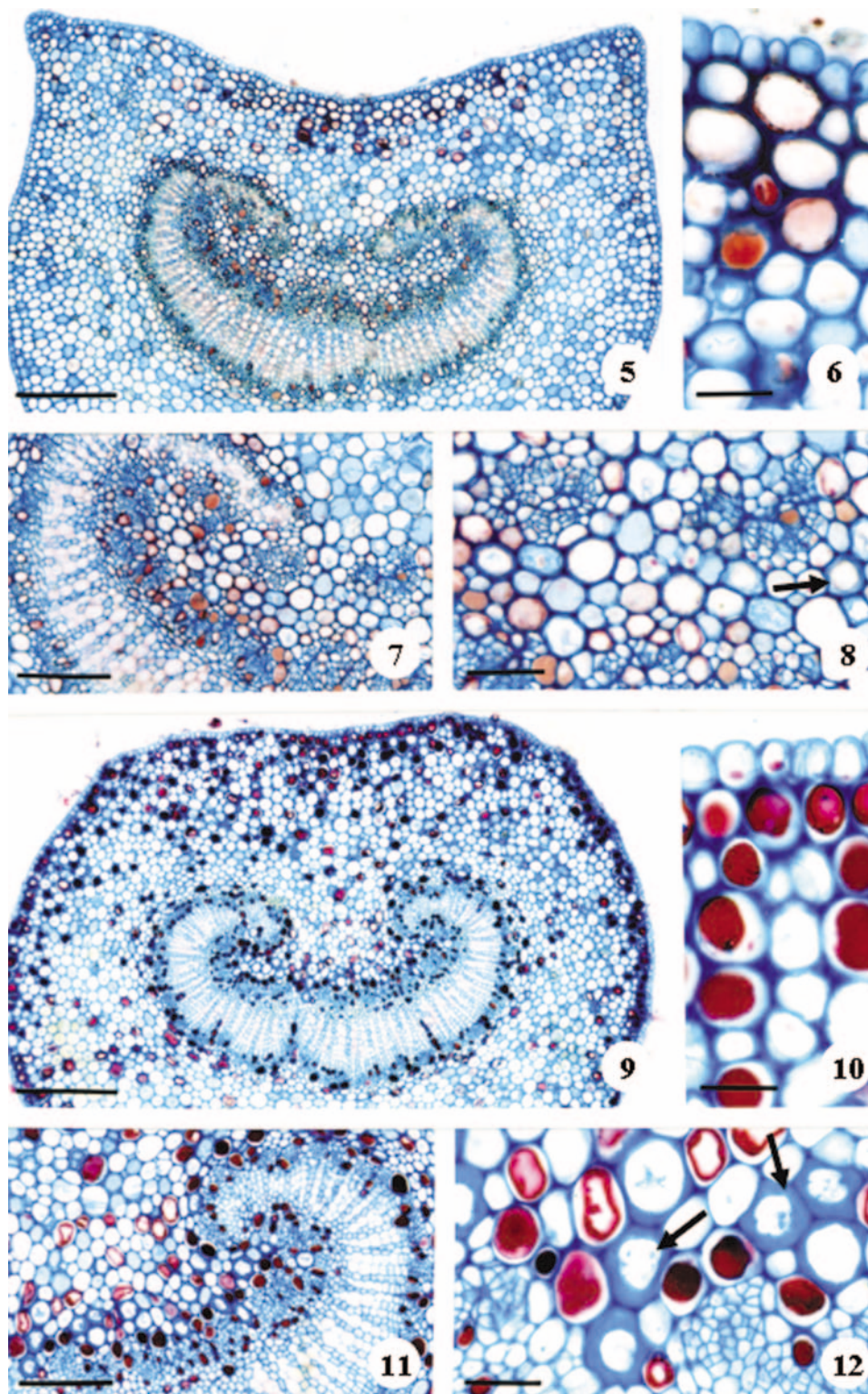
Os coléteres marginais são caducos em órgãos adultos, restando apenas cicatrizes em posição interpeciolar. Os coléteres axilares são persistentes e ficam reduzidos a pequenas estruturas senescentes posicionadas na base da lâmina foliar próximas ao pecíolo, sobre a nervura mediana. O número de coléteres marginais e axilares é variável nas quatro espécies; 4-8 marginais e 2-8 axilares são encontrados em média por nó vegetativo, considerando os dois primórdios foliares com filotaxia oposta. O número de coléteres varia entre as espécies, entre indivíduos da mesma espécie e em nós diferentes de um mesmo indivíduo.

Três tipos de coléteres foram registrados: padrão, sésil e ramificado. O tipo padrão é formado por um eixo alongado recoberto por epiderme em paliçada e um pedúnculo curto (figura 21). O tipo sésil não apresenta pedúnculo e possui a paliçada secretora extremamente espessa (figura 28). O tipo ramificado é semelhante ao tipo padrão e ramifica-se ao longo do seu comprimento (figura 32). A ramificação só é registrada através da análise de cortes transversais seriados.

O tipo padrão foi encontrado nos coléteres marginais de todas as espécies; apenas *F. pubescens* possui dois tipos: padrão e sésil. Em relação aos coléteres axilares, *F. australis* e *F. glabrescens* apresentam os tipos padrão e sésil respectivamente. *F. pubescens* possui os três tipos; o ramificado não foi observado em *F. thyrsoidea* (tabela 2).

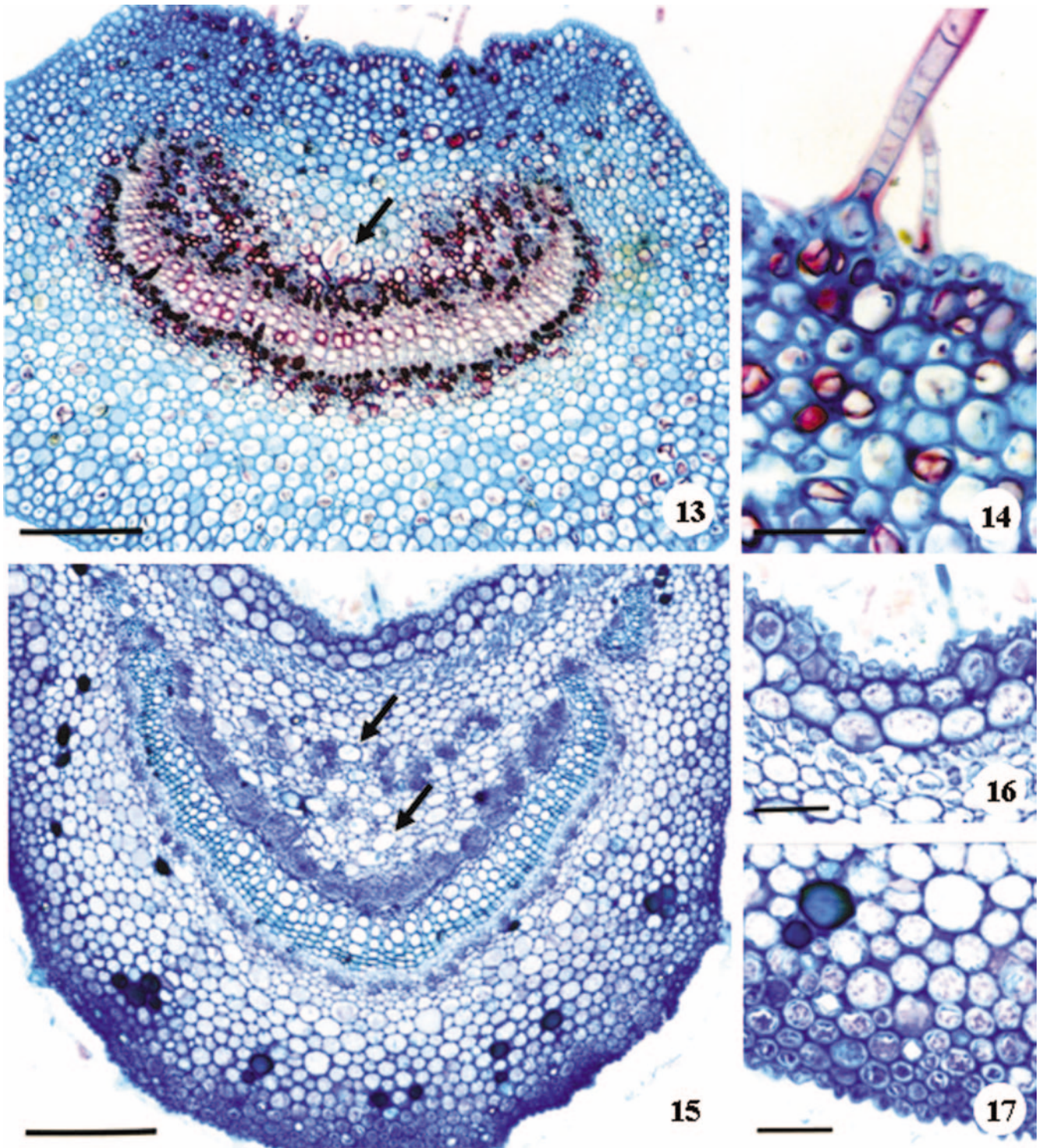
Discussão

Todas as espécies de *Forsteronia* estudadas apresentam epiderme unisseriada em ambas as faces da lâmina foliar e estômatos predominantemente paracíticos



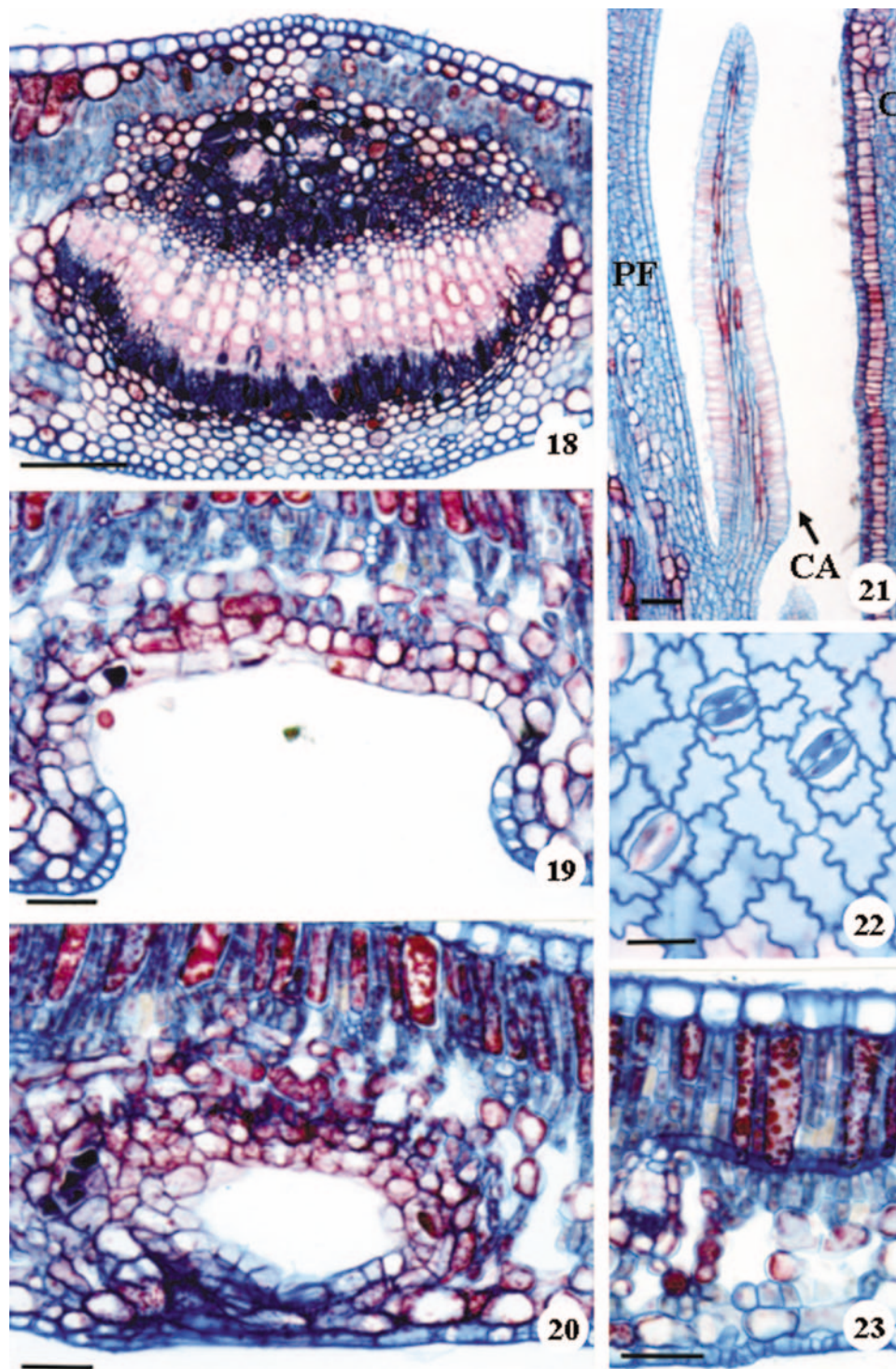
Figuras 5-12. Pecíolo de folhas adultas de *F. australis* (5-8) e *F. glabrescens* (9-12) em secções transversais. 5, 9. Vista geral. 6, 10. Detalhe da região cortical da face adaxial. 7, 11. Detalhe do feixe vascular. 8. Detalhes dos cordões floemáticos e de laticífero (seta). 12. Detalhe do floema; idioblastos e laticíferos (setas). Barras = 200 μm (5, 9), 100 μm (7, 11), 25 μm (6, 8, 10, 12).

Figures 5-12. Petiole of *F. australis* (5-8) and *F. glabrescens* (9-12) mature leaves; transections. 5, 9. General view. 6, 10. Region above midrib. 7, 11. Vascular bundle. 8. Phloem strands and laticifer (arrow). 12. Phloem; idioblasts and laticifers (arrows). Bars = 200 μm (5, 9), 100 μm (7, 11), 25 μm (6, 8, 10, 12).



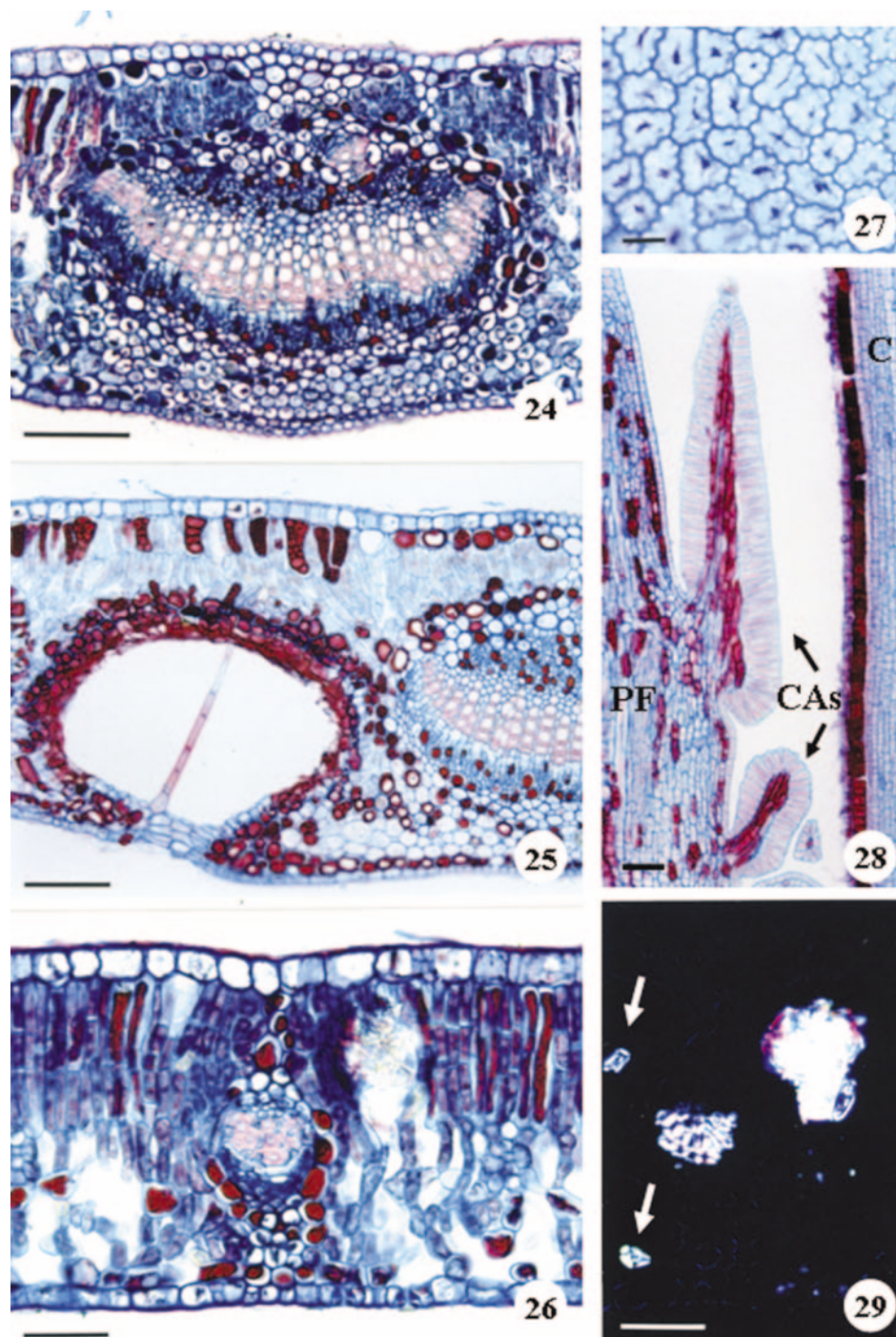
Figuras 13-17. Pecíolo de folhas adultas de *F. pubescens* (13-14) e *F. thyrsoides* (15-17) em secções transversais. 13, 15. Vista geral; laticíferos (setas). 14. Detalhe da região cortical da face adaxial. 16-17. Detalhes da epiderme das faces superior (16) e inferior (17); células epidérmicas papilosas. Barras = 200 μm (13, 15), 50 μm (14, 16, 17).

Figures 13-17. Petiole of *F. pubescens* (13-14) and *F. thyrsoides* (15-17) mature leaves; transections. 13, 15. General view; laticifers (arrows). 14. Region above midrib. 16-17. Upper (16) and lower (17) papillose epidermis. Bars = 200 μm (13, 15), 50 μm (14, 16, 17).



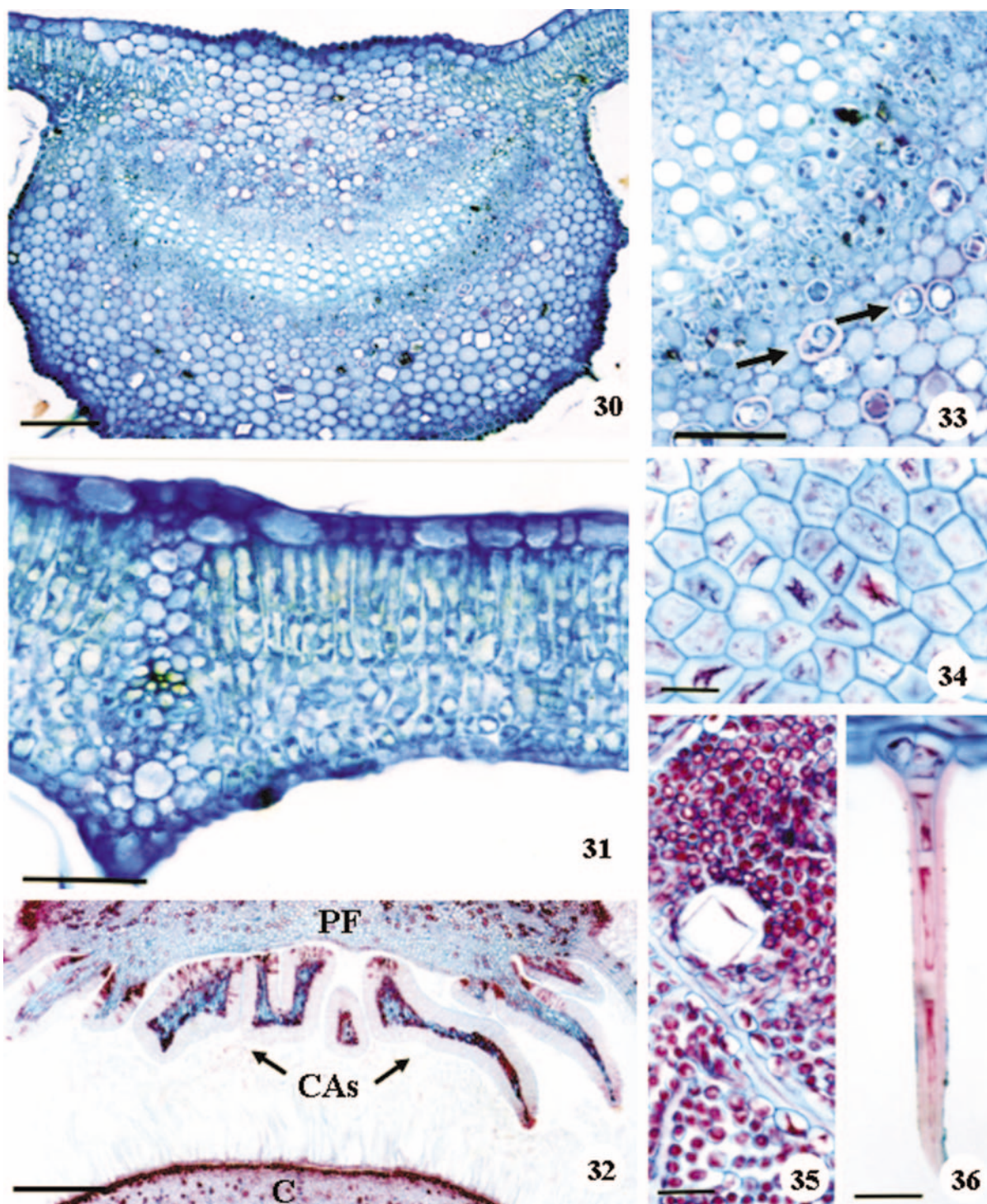
Figuras 18-23. Folha adulta (18-20, 22-23) e primórdio foliar (21) de *F. australis* em secções transversais (18-20, 23) e longitudinais (21-22). 18. Nervura mediana. 19. Domácia em secção transversal mediana. 20. Domácia em secção tangencial. 21. Coléter axilar padrão. 22. Epiderme da face abaxial em vista frontal; estômatos paracíticos e células com paredes sinuosas. 23. Mesofilo dorsiventral; laticífero e feixe vascular lateral. C = caule; CA = coléter axilar; PF = primórdio foliar. Barras = 100 μm (18), 50 μm (19-21, 23), 25 μm (22).

Figures 18-23. Mature (18-20, 22-23) and young leaf (21) of *F. australis*; transections (18-20, 23) and longisections (21-22). 18. Midrib. 19. Median transection of domatia. 20. Tangential transection of domatia. 21. Standard axillar colleter. 22. Lower epidermis in surface view; paracytic stomata and wavy walls. 23. Dorsiventral mesophyll; laticifer and lateral vascular bundle. C = stem; CA = axillar colleter; PF = young leaf. Bars = 100 μm (18), 50 μm (19-21, 23), 25 μm (22).



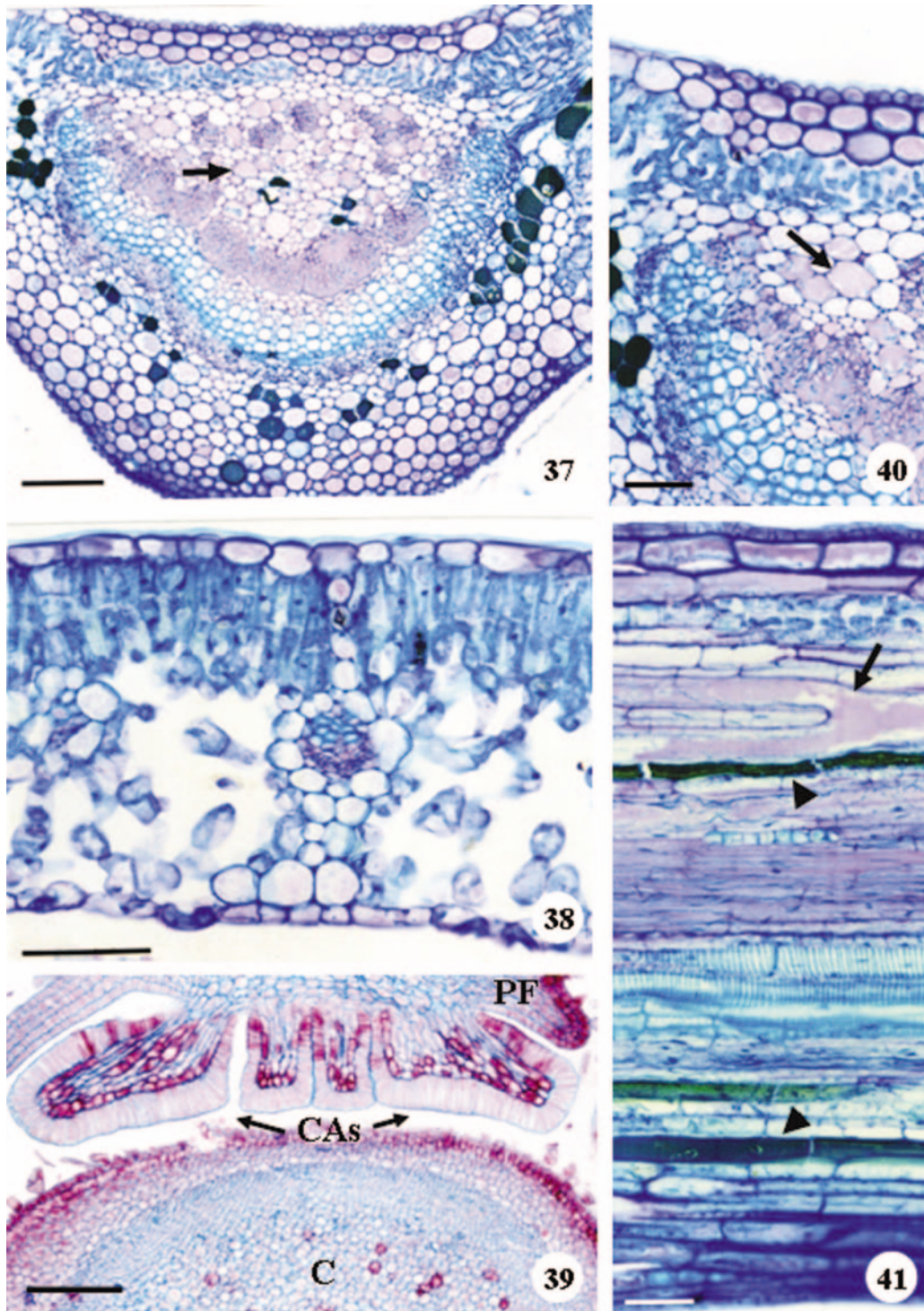
Figuras 24-29. Folha adulta (24-27, 29) e primórdio foliar (28) de *F. glabrescens* em secções transversais (24-26, 29) e longitudinais (27-28). 24. Nervura mediana. 25. Domácia; tricoma tector multicelular unisseriado. 26. Mesófilo dorsiventral; idioblastos com conteúdo denso no parênquima paliádico, na bainha do feixe vascular e extensões. 27. Epiderme da face adaxial em vista frontal com células de paredes sinuosas. 28. Coléter axilar séssil. 29. Mesófilo em luz polarizada; drusa e cristais romboidais (setas). C = caule; CAs = coléteres axilares; PF = primórdio foliar. Barras = 100 μm (24, 25), 50 μm (26, 28, 29), 25 μm (27).

Figures 24-29. Mature (24-27, 29) and young leaf (28) of *F. glabrescens*; transections (24-26, 29) and longisections (27-28). 24. Midrib. 25. Domatia; multicellular uniseriate trichome. 26. Dorsiventral mesophyll; idioblasts with dense contents in palisade parenchyma, bundle sheaths and bundle-sheath extensions. 27. Upper epidermis in surface view with wavy walls. 28. Sessile axillary colleter. 29. Mesophyll observed under polarized light; druse and rhomboid (arrows) crystal. C = stem; CA = axillary colleter; PF = young leaf. Bars = 100 μm (24, 25), 50 μm (26, 28, 29), 25 μm (27).



Figuras 30-36. Folha adulta (30-31, 33-36) e primórdio foliar (32) de *F. pubescens* em secções transversais (30-33, 36) e longitudinais (34-35). 30. Nervura mediana. 31. Mesofilo homogêneo; feixe vascular lateral. 32. Coléteres axilares ramificados. 33. Detalhe do feixe vascular mediano; laticíferos (setas). 34. Epiderme da face adaxial em vista frontal; células com paredes retas. 35. Cristal prismático no mesofilo. 36. Tricoma tector multicelular unisseriado. C = caule; CAs = coléteres axilares; PF = primórdio foliar. Barras = 200 μ m (32), 100 μ m (30), 50 μ m (31, 33), 25 μ m (34-36).

Figures 30-36. Mature (30-31, 33-36) and young leaf (32) of *F. pubescens*; transections (30-33, 36) and longisections (34-35). 30. Midrib. 31. Regular mesophyll; lateral vascular bundle. 32. Branched axillary colletes. 33. Detailed view of midrib; laticifers (arrows). 34. Upper epidermis in surface view; straight walls. 35. Prismatic crystal. 36. Multicellular uniseriate trichome. C = stem; CAs = axillary colleter; PF = young leaf. Bars = 200 μ m (32), 100 μ m (30), 50 μ m (31, 33), 25 μ m (34-36).



Figuras 37-41. Folha adulta (37-38, 40-41) e primórdio foliar (39) de *F. thyrsoides* em seções transversais (37-40) e longitudinal (41). 37. Nervura mediana; laticíferos (seta). 38. Mesofilo dorsiventral; feixe vascular lateral e estômatos. 39. Coléteres axilares não ramificados. 40-41. Detalhe da nervura mediana. 40. Colênquima e laticíferos (seta). 41. Idioblastos secretores (cabeças de seta) e laticífero (seta). C = caule; CAS = coléteres axilares; PF = primórdio foliar. Barras = 100 µm (37, 39), 50 µm (38, 40, 41).

Figures 37-41. Mature (37-38, 40-41) and young leaf (39) of *F. thyrsoides*; transections (37-40) and longisections (41). 37. Midrib; laticifers (arrow). 38. Dorsiventral mesophyll; lateral vascular bundle and stomata. 39. Not branched axillary colletes. 40-41. Detailed view of midrib. 40. Colenchyma and laticifers (arrow). 41. Secretory idioblasts (arrow heads) and laticifer (arrow). C = stem; CAS = axillary colleter; PF = young leaf. Bars = 100 µm (37, 39), 50 µm (38, 40, 41).

Tabela 2. Tipo de coléteres nas espécies de *Forsteronia*. P = padrão; S = séssil; R = ramificado.

Table 2. Colleters types of *Forsteronia* species. P = standard; S = sessile; R = branched.

	Marginais	Axilares
<i>Forsteronia australis</i>	P	P
<i>F. glabrescens</i>	P	S
<i>F. pubescens</i>	P, S	P, S, R
<i>F. thyrsoides</i>	P	P, S

restritos à face inferior, assim como feixe vascular em forma de arco na nervura mediana. Esses caracteres foram anteriormente registrados para as folhas de *Allamanda neriifolia* Hook. (hoje *A. schottii* Pohl), *Thevetia peruviana* (Pers.) K.Schum e *Vinca minor* L., consideradas xeromórficas por Fjell (1983).

Todas as espécies analisadas neste trabalho à exceção de *F. pubescens* apresentam mesofilo dorsiventral, da mesma forma que *A. neriifolia*, *T. peruviana* e *V. minor* (Fjell 1983). Segundo Metcalfe & Chalk (1950), este é o tipo de mesofilo mais comum em Apocynaceae, podendo ocorrer raramente mesofilo isobilateral. Idioblastos secretores de compostos fenólicos com conteúdo granuloso ou denso estão presentes no parênquima paliçádico apenas em *F. australis* e *F. glabrescens* respectivamente. Esse tipo de idioblasto não foi registrado nas espécies estudadas por Fjell (1983); Metcalfe & Chalk (1950) mencionaram a ocorrência de células secretoras abaixo do parênquima paliçádico em *Cleghornia*, *Echites*, *Kopsia* e *Tabernaemontana*. Idioblastos cristalíferos (drusas e cristais prismáticos ou romboidais) são encontrados nas espécies de *Forsteronia* estudadas, à exceção de *F. thyrsoides*. Cristais foram anteriormente registrados em *A. neriifolia* e *T. peruviana* (Fjell 1983), sendo as drusas o tipo mais comum, e em *Acokanthera*, *Alstonia*, *Apocynum*, *Cerbera*, *Gonioma*, *Hunteria* e *Oncinotis* (Metcalfe & Chalk 1950).

O tipo de idioblasto cristalífero varia entre as espécies estudadas; este não é considerado um caráter diagnóstico importante, pois pode variar com o meio ambiente (Metcalfe 1983). Os cristais podem estar presentes em maior ou menor quantidade de acordo com a composição do solo onde a planta se encontra. O estudo de um maior número de indivíduos, inclusive de outras localidades, seria necessário para avaliar melhor a questão da variação da frequência dos cristais.

Tricomas de vários tipos podem ser encontrados em Apocynaceae (Metcalfe & Chalk 1950). Em *Forsteronia*, apenas tricomas multicelulares unisseriados

não secretores (tipo 1) são observados em três das espécies estudadas. Os coléteres presentes nos nós vegetativos e na base da lâmina foliar das quatro espécies de *Forsteronia* estudadas não são considerados tricomas e sim emergências, uma vez que sua origem não é exclusivamente protodérmica.

O termo domácia é usualmente aplicado a tufo de tricomas, depressões, bolsos ou sacos presentes nas axilas das nervuras de maior calibre, quando ocorrem exclusivamente na face inferior das folhas (Wilkinson 1979). Segundo Brouwer & Clifford (1990), as domácias foram definidas pela primeira vez como formações ou transformações em plantas com função de hospedar simbiontes durante um período essencial do seu desenvolvimento, configurando mutualismo. Vários autores consideram que há uma relação restrita entre as domácias e organismos animais, principalmente ácaros e formigas (Wilkinson 1979). Domácias são encontradas predominantemente em plantas lenhosas de regiões tropicais úmidas ou subtropicais; apesar de estarem presentes em plantas de regiões frias, nunca foram registradas em espécies que ocorrem em solos permanentemente secos. Os tipos de domácias foliares já descritos são: tufo de tricomas, bolsos, sacos (bolsos estendidos), criptas e margem revoluta na base da lâmina (Wilkinson 1979).

Dentre as espécies estudadas, domácias são registradas em *F. australis* e *F. glabrescens*, constituindo-se um importante caráter macromorfológico devido à presença de tricomas na cripta. As características anatômicas das domácias encontradas em *Forsteronia* assemelham-se às descritas por Wilkinson (1979), principalmente quanto à compactação das células, redução do número de camadas do parênquima lacunoso na região da cripta e ausência de estômatos na epiderme interna. Diferentemente do descrito por essa autora, nenhum tecido de sustentação foi encontrado ao redor da domácia. A descrição da anatomia das domácias foliares é inédita para espécies de Apocynaceae. A distribuição das domácias não se mostrou um caráter consistente para a identificação de espécies a partir dos indivíduos coletados em estágio vegetativo, uma vez que se observou uma grande variação entre diferentes indivíduos da mesma espécie e entre diferentes folhas de um mesmo indivíduo. No entanto, a ocorrência de tricomas nas domácias é sempre constante e independe do número de domácias por folha.

Coléter do tipo padrão, caracterizado pela presença de um eixo alongado recoberto por epiderme em paliçada e um pedúnculo curto (Lersten 1974), foi encontrado em todas as espécies estudadas de *Forsteronia*. Este

termo, proposto para coléteres de Rubiaceae, tem sido amplamente utilizado na descrição dos coléteres de várias famílias, inclusive Apocynaceae (Thomas 1991, Appezzato-da-Glória & Estelita 2000, Rio *et al.* 2002). Além de coléteres do tipo padrão, coléteres sésseis foram registrados em *F. glabrescens*, *F. pubescens*, *F. thyrsoides* e coléteres ramificados em *F. pubescens* (tabela 2). Os tipos sésseis e ramificados são descritos pela primeira vez para órgãos vegetativos de espécies de Apocynaceae.

Considerando-se as espécies estudadas, os coléteres marginais são caducos em órgãos completamente desenvolvidos, restando apenas cicatrizes em posição interpeciolar, restringindo sua utilização para fins taxonômicos. O tipo dos coléteres axilares é um caráter constante e importante na distinção entre *F. australis* e *F. glabrescens*, e entre *F. pubescens* e *F. thyrsoides*, devendo ser observado nos ápices caulinares vegetativos (tabela 3). Os coléteres observados nestas espécies de *Forsteronia* são equivalentes às glândulas nodais e foliares registradas por Hansen (1985).

O número de coléteres encontrados por nó vegetativo é variável em diferentes indivíduos de uma mesma espécie e em folhas de um mesmo indivíduo, e por isto não constitui um caráter útil para fins taxonômicos. Variações no número de coléteres em folhas

de uma mesma espécie são comuns e já foram relatadas para outras espécies de Apocynaceae (Ramayya & Bahadur 1968, Thomas & Dave 1989, Thomas 1991).

Forsteronia australis distingue-se de *F. glabrescens* pelo contorno do pecíolo em secção transversal, ocorrência dos idioblastos secretores no pecíolo e nervura mediana e ocorrência de cordões de floema acima do feixe vascular no pecíolo. Essas características, somadas à ocorrência de tricomas nas domácias, ocorrência de laticíferos no mesofilo e tipo dos coléteres axilares, constituem um conjunto de caracteres taxonomicamente consistentes para diagnóstico destas espécies a partir de indivíduos coletados apenas em estágio vegetativo.

Forsteronia pubescens diferencia-se de *F. thyrsoides* pelo contorno do pecíolo e formato do feixe vascular em secção transversal, tipo de mesofilo, ocorrência de idioblastos cristalíferos, ocorrência de cordões de floema acima do feixe vascular e ocorrência de idioblastos secretores ao redor do feixe vascular mediano da lâmina foliar.

Os principais caracteres diagnósticos das folhas adultas das espécies estudadas de *Forsteronia* de cerrado referem-se às domácias; ocorrência, tipo e posição das estruturas secretoras e formato do feixe vascular mediano em secção transversal. Alguns caracteres destacam-se

Tabela 3. Caracteres diagnósticos levantados para *Forsteronia australis*, *F. glabrescens*, *F. pubescens* e *F. thyrsoides*. + = presença; - = ausência; P = padrão; S = sésseis; R = ramificado.

Table 3. Diagnostic character survey of *Forsteronia australis*, *F. glabrescens*, *F. pubescens* e *F. thyrsoides*. + = presence; - = absence; P = standard; S = sessile; R = branched.

Caracteres diagnósticos		<i>F. australis</i>	<i>F. glabrescens</i>	<i>F. pubescens</i>	<i>F. thyrsoides</i>
Pecíolo	Contorno em secção transversal	achatado	cilíndrico	cilíndrico	achatado
	Cordões de floema acima do feixe vascular	+	-	-	+
	Hipoderme secretora	-	+	-	-
	Formato do feixe vascular	arco tênue	arco tênue	arco tênue	arco pronunciado (V)
	Posição dos idioblastos secretores	floema	floema e córtex	floema	córtex
Lâmina foliar	Domácias	+	+	-	-
	Indumento nas domácias	-	+		
	Idioblastos secretores na nervura mediana	+	+	-	-
	Aspecto do conteúdo dos idioblastos	granuloso	denso		
	Tipo de coléter axilar	P	S	P, S, R	P, S
	Tipo de mesofilo	dorsiventral	dorsiventral	homogêneo	dorsiventral
	Idioblastos cristalíferos	+	+	+	-
	Idioblastos secretores no córtex da nervura mediana	+	+	-	+
	Coléter axilar ramificado	-	-	+	-

pela facilidade de observação na lupa ou através da obtenção de cortes a mão livre, diferenciando *F. australis* de *F. glabrescens* e *F. pubescens* de *F. thyrsoides* (tabela 3).

Agradecimentos – As autoras agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pela bolsa de doutorado (proc. 01/05341-3) e pelo auxílio à pesquisa do projeto temático (Biota/Fapesp proc. 00/12469-3) concedidos.

Referências bibliográficas

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA-TEIXEIRA, M.E.M. 1992. Anatomia do sistema aéreo vegetativo de *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. Gentry (Apocynaceae). *Hoehnea* 19:39-50.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 1997. Laticifer systems in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* Apocynaceae. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 66:301-306.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & ESTELITA, M.E.M. 2000. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23:113-120.
- BROUWER, Y.M. & CLIFFORD, H.T. 1990. An annotated list of domatia-bearing species. *Notes from the Jodrell Laboratory* 12:1-33.
- CLARK, G. 1973. *Staining procedures*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. 2000. A revised classification of Apocynaceae *s.l.* *The Botanical Review* 66:1-56.
- FJELL, I. 1983. Anatomy of the xeromorphic leaves of *Allamanda neriifolia*, *Thevetia peruviana* and *Vinca minor* (Apocynaceae). *Nordic Journal of Botany* 3:383-392.
- GERLACH, D. 1969. *Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung*. Georg Thieme, Stuttgart.
- GERRITS, P.A. 1991. The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles. Department of Anatomy and Embryology State University Groningen, Netherlands.
- GREGORY, M. 1990. Additional records of occurrence of domatia. *Notes from the Jodrell Laboratory* 12:34-50.
- HANSEN, B.F. 1985. A monographic revision of *Forsteronia* (Apocynaceae). PhD Thesis. University of South Florida, Tampa.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- KOCH, I. & KINOSHITA, L.S. 2005. Apocynaceae - *Forsteronia* G.Mey. In *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo* (M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, T.S. Melhem & A.M. Giuliatti, coords.). Fapesp, Rima, São Paulo, v.4, p.48-53.
- LERSTEN, N.R. 1974. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 61:973-981.
- METCALFE, C.R. 1983. Secreted mineral substances. In *Anatomy of the dicotyledons. Wood structure and conclusion of the general introduction* (C.R. Metcalfe & L. Chalk, eds.). Clarendon Press, Oxford, v.2, p.82-97.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject*. Clarendon Press, Oxford.
- MOHAN, J.S.S. & INAMDAR, J.A. 1982. Leaf architecture of Apocynaceae. *Proceedings of Indian Academy of Science (Plant Science)* 91:189-200.
- MONTEIRO, W.R., GIULIETTI, A.M., MAZZONI, S.C. & CASTRO, M.M. 1979. Hairs on reproductive organs of some Eriocaulaceae and their taxonomic significance. *Boletim de Botânica, Universidade de São Paulo* 7:43-59.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368-373.
- RAMAYYA, N. & BAHADUR, B. 1968. Morphology of the "squamellae" in the light of their ontogeny. *Current Science* 18:520-522.
- RIO, M.C.S., CASTRO, M.M. & KINOSHITA, L.S. 2002. Distribuição e caracterização anatômica dos coléteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 25:339-349.
- SMITH, F.H. & SMITH, E.C. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany* 29:464-471.
- SOLEREDER, H. 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- THOMAS, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany* 68:287-305.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1989. Histochemistry and senescence of colleters of *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae). *Annals of Botany* 64:201-203.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1991. Comparative and phylogenetic significance of colleters in Apocynaceae. *Feddes Repertorium* 102:23-28.
- THOMAS, V., DAVE, Y. & MENON, A.R.S. 1989. Anatomy and histochemistry of colleters in *Roupelia grata* (Apocynaceae). *Nordic Journal of Botany* 8:493-496.
- WILKINSON, H.P. 1979. The plant surface (mainly leaf). In *Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject* (C.R. Metcalfe & L. Chalk, eds.). Clarendon Press, Oxford, v.1, p.97-165.
- WILLIAMS, R.F., METCALFE, R.A. & GUST, L.W. 1982. The genesis of form in oleander (*Nerium oleander* L.). *Australian Journal of Botany* 30:677-687.