



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

Estudos anatômicos aplicados à taxonomia de *Pouteria ramiflora* da Bahia

Marco Daniel Medeiros Lima¹; Cláudia Elena Carneiro²

1. Marco Daniel Medeiros Lima PIVIC, Licenciatura em ciências biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mdanielmedeiroslima@gmail.com
2. Cláudia Elena Carneiro, Departamento de Bio, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: carneiro@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: *Pouteria ramiflora*; Anatomia; Histoquímica.

INTRODUÇÃO

A família Sapotaceae pertence à ordem Ericales e compreende aproximadamente 1.250 espécies, distribuídas em 58 gêneros e três subfamílias, Sarcospermatoideae; Sapotoideae e Chrysophylloideae com distribuição pantropical (Swenson & Anderberg 2005; Faria et al. 2017). Na região Neotropical, Sapotaceae é um dos grupos de maior abundância e diversidade, com cerca de 400 espécies descritas. Os táxons da família são geralmente arbustos ou árvores. Economicamente, fornece produtos como o látex, para a produção de cola e borracha; a madeira, principalmente para construção de embarcações e os frutos; que compõem a alimentação humana, e possuem grande importância ecológica, uma vez que participam da dieta de animais de formações florestais, muitos deles em perigo de extinção. Sapotaceae possui 12 gêneros e 234 espécies ocorrentes no Brasil, dentre as quais 78 nomes de espécies são aceitos para a Bahia (Flora do Brasil 2020). Acredita-se que ainda há espécies não descritas para este Estado, assim como novas ocorrências, principalmente em formações florestais do sul baiano. Taxonomicamente, os gêneros desta família apresentam problemas na delimitação de suas espécies, dificultando a identificação correta de seus táxons, principalmente devido à ausência ou carência de dados morfológicos que possam sustentar as relações existentes entre eles. Os estudos filogenéticos indicam a necessidade de estudos morfológicos que possam sustentar agrupamentos obtidos das análises moleculares (APG IV 2016; Bartish et al. 2005; Bartish et al. 2011; Swenson & Anderberg 2005; Swenson et al. 2008; Faria et al. 2017). A necessidade da busca de detalhes torna-se essencial para o entendimento do organismo, portanto foi selecionado a espécie *Pouteria ramiflora* pertencente à família Sapotaceae para o estudo anatômico e histoquímico de suas folhas. A espécie é uma árvore que mede cerca de 10 m de altura, possui folhas simples, glabras, opostas cruzadas, de base obtusa e ápice arredondado, com venação penínervia com pecíolos de até 1,5 cm, e está distribuída no centro e no sul do Brasil, estendendo-se ao norte para a Amazônia e à oeste para a Bolívia, com um pequeno registro no Paraguai (Pennington, 1990), no estado da Bahia são encontradas na região da chapada diamantina se estendendo até o oeste baiano (Herbário da Universidade de Feira de Santana). O material coletado de *P. ramiflora* foi submetido a secção transversal e depois foram clarificados com hipoclorito de sódio 10% e corados com safranina 1%, azul astra 1%, para a identificação de algumas estruturas, também foram submetidos a teste de identificação de lipídeos com sudan III. A caracterização anatômica das folhas da espécies

estudada é apresentada a seguir, conforme as regiões analisadas, na seguinte ordem: pecíolo e lâmina foliar (epiderme, mesofilo e feixe vascular do meio e ápice da folia).

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA A espécie *Pouteria ramiflora* foi estudada a partir do material fresco coletado em campo, aplicando a esta, técnicas de anatomia e histoquímica vegetal indicada na literatura específica. São apresentados dados da anatomia foliar da espécie que podem ser utilizados como dados de base para estudos taxonômicos e abordagens mais aprofundadas sobre a espécie. As amostras coletadas em campo foram fixadas em FAA 70% e estocadas em álcool etílico 70% (Kraus & Arduin 1997). As amostras foram seccionadas à mão ou no micrótomo de congelamento para obtenção de cortes histológicos, os quais foram clarificados com hipoclorito de sódio 10% e corados com safranina 1%, safrablau 1%, ou sudan no caso de análise na presença de ceras e lipídios, conforme a técnica utilizada (Johansen 1940; Kraus & Arduin 1997; Macêdo 1997). Para o estudo da epiderme, são utilizados os métodos de dissociação de Jeffrey e a técnica de Foster (Macêdo 1997), para comparação e verificação do que for mais adequado para os espécimes. As amostras foram submetidas a cortes transversais à mão livre com utilização de lâmina de barbear e isopor como suporte, ou no micrótomo de congelamento, onde foram congeladas à -25 graus celsius com água destilada, com a espessura de 40 micrometros. As partes amostradas foram todo o pecíolo e parte da lâmina foliar delimitada em duas partes: mediana, ápice e bordo. Os cortes obtidos foram clarificados com hipoclorito de sódio a 10%, com tempo variável de imersão entre 2 a 3 minutos. Em seguida o material foi submetido a três lavagens com água destilada, sendo acrescentado a última uma gota de ácido clorídrico 10%, com a finalidade de neutralizar o meio e assim não prejudicar o processo de coloração (Johansen, 1940; Kraus & Arduin, 1997). A coloração dos cortes foi feita utilizando “safrablau” (azul de astra 1% e safranina 1%, 9v:1v), para evidenciar os tecidos vegetais presentes, onde foram imergidos por a 10 segundos e depois lavados três vezes em água destilada e imerso em glicerina 50% para retirada do excesso de corante.

Para obtenção da epiderme foi utilizado o método de dissociação de Jeffrey (Macêdo, 1997), o qual consiste em submeter as amostras de folhas segmentadas, em partes iguais de ácido crômico 10% e ácido nítrico 10%, até que sejam cobertas pela solução. O material ficou submerso nesta solução por um período de 12 a 48 horas. Ao concluir o processo de dissociação, o material foi lavado várias vezes com água destilada em abundância. Os segmentos da folha foram transferidos para uma lâmina, e os bordos foram cortados com lâmina de barbear, separando as amostras de epiderme adaxial e abaxial. Em seguida, as amostras de epiderme foram coradas com safranina alcoólica 1% e montadas em preparações semipermanentes com glicerina 50% e vedadas com esmalte incolor (Johansen, 1940). Para a identificação de lipídeos foi utilizada a técnica histoquímica de Sass 1951, no qual foram feitas secções transversais e colocadas em etanol 50%, em seguida foram transferidas para um vidro relógio onde pingou-se 3 gotas de Sudan III sobre as secções e então cobertas para evitar evaporação. As secções permaneceram pelo período de 30 minutos e depois foram lavadas em etanol 80% para montagem das lâminas em glicerina 50%. No caso da identificação de amido as secções foram postas num vidro relógio onde foram pingadas 3 gotas de lugol e depois cobertas onde ficaram em repouso por 5 minutos em seguida as lâminas foram em água destilada

As amostras foram analisadas utilizando microscopia de luz (LeicaDM500) e fotodocumentadas em microscópio com captura de imagem (LeicaDM500) e em estereomicroscópio (lupa) com

captura de imagem (LeicaEZ4W). Os dados obtidos foram descritos e as características anatômicas foram ilustradas através de fotografias

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO Pecíolo - Em secção transversal, o pecíolo da espécie de *Pouteria ramiflora* apresentou padrão correspondente a côncavo-convexo e possui epiderme uniestratificada revestida por uma camada de cutícula espessa com presença de flanges e tricomas. Abaixo da camada de células epidérmicas são encontradas células colenquimáticas do tipo angular organizadas em aproximadamente seis a sete estratos de células, seguidas de três camadas de células de parênquima fundamental ou de preenchimento. Possui medula parenquimática com feixe vascular central apresentando formato de arco fechado, composto por xilema, seguido por camadas de floema e circundado por fibras de esclerênquima. Presença de laticíferos por todo córtex e centro da medula. Não foi observado nenhum cristal nas secções de pecíolo da espécie. O teste com o corante sudan III indicou a presença de lipídeos associados à cutícula e aos laticíferos presentes.

Lâmina Foliar - Mesofilo - A espécie apresenta mesofilo dorsiventral como descrito por Metcalfe & Chalk (1972), composto por estratos de parênquima paliçádico (dois a três estratos) onde o comprimento das células de um estrato é duas vezes o tamanho da camada posterior, e parênquima esponjoso ou lacunoso que podem apresentar até cinco estratos, no qual os feixes vasculares encontram-se imersos no mesmo. O bordo da espécie está caracterizado como fletido e as células do parênquima paliçádico não mudam sua conformação ao se aproximar da região distal do bordo, continuando retangulares, porém menores e mais numerosas. O mesofilo apresenta epiderme uniestratificada revestida por uma camada de cutícula com espessamento maior na região bordo, é possível observar ornamentações como flanges, e a presença de estômatos na parte inferior da folha, por isso é classificada como hipoestomática.

Lâmina Foliar - Feixe Vascular - Em secção transversal, a nervura principal das folhas apresentou feixe vascular único com formato de arco fechado, circundado por fibras de esclerênquima, porém apresentou variação na conformação da medula central na região mediana da lâmina foliar. Na região mediana o feixe vascular central apresenta ramificação, onde é possível observar o deslocamentos de dois feixes a partir do feixe central. Na região do córtex é possível identificar colênquima do tipo angular, disposto em três à quatro estratos de células, seguidas por três a quatro camadas de parênquima de preenchimento. Os cortes transversais também apresentaram laticíferos no córtex e na medula.

Lâmina Foliar - Epiderme - A epiderme de *P. ramiflora* é simples, apresenta células retangulares ou quadrangulares, recoberta por uma cutícula espessa, em geral equivalente a metade da altura da célula, chegando a formar flanges. A cutícula apresenta leve ondulação. Na face abaxial encontram-se os estômatos levemente imerso na cutícula, na parte adaxial não possui estômatos caracterizando a espécie como hipoestomática, porém é observado maior espessamento da cutícula.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir desse estudo foi possível realizar o levantamento das características anatômicas das folhas de *Pouteria ramiflora*, onde pude conhecer a espécie e também sobre a sua família

Sapotaceae, bem como sua anatomia, relações ecológicas, e importância econômica. Para além fui inserido na dinâmica do laboratório e aprendi a manusear equipamentos, vidrarias e reagentes, junto às práticas de biossegurança necessárias, também tive contato com alunos da pós graduação que desenvolvem diversos projetos de mestrado e doutorado na área da anatomia vegetal e em outros campos da botânica, tendo constante contato com método científico. Fui iniciado ao estudo da anatomia vegetal e aprendi diversas técnicas de processamento microanatômicos e histoquímicos, isso dentro de um contexto onde comecei a estagiar no meu primeiro semestre sendo que a matéria (Morfologia Vegetal) que me daria suporte na área só vou ter contato no meu quinto semestre. Foi no projeto que tive meu primeiro contato com a produção textual científico/acadêmica como artigos e relatórios. As informações obtidas podem contribuir com elementos que dão ajuda a trabalhos de outra natureza, e me introduziu a uma dinâmica de produção científica, além de dar mais elementos para continuação e construção de novos projetos.

REFERÊNCIAS

- Appezato-da-Glória, B; Carmello-guerreiro, S. M.2003. **Anatomia Vegetal**. Viçosa; Editora UFV.
- APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181: 1–20. 2016.
- Bartish, I.V.; Antonelli, A.; Richardson, J.E. & Swenson, U. Vicariance or long-distance dispersal: historical biogeography of the pantropical subfamily Chrysophylloideae (Sapotaceae). *Journal of Biogeography*, 38: 177–190. 2011.
- Bartish, I.V.; Swenson, U.; Munzinger, J. & Anderberg, A.A. Phylogenetic relationships among New Caledonian Sapotaceae (Ericales): molecular evidence for generic polyphyly and repeated dispersal. *American Journal of Botany*, 92: 667–673. 2005.
- Flora do Brasil 2020 em construção. Sapotaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB217>>. Acesso em: 20 Jul. 2018.
- Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana
- Kraus, J. E. & Arduin, M 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro, EDUR.
- Macedo, N.A 1997. **Manual de técnicas em histologia vegetal**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 98p.
- Pennington, T.D. 1990. **Sapotaceae. Flora Neotropica Monograph 52**. New York Botanical Garden
- Swenson, U. & Anderberg, A.A. Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales). *Cladistics*, 21: 101–130. 2005.
- Swenson, U.; Richardson, J.E. & Bartish, I.V. Multi-gene phylogeny of the pantropical subfamily Chrysophylloideae (Sapotaceae): evidence of generic polyphyly and extensive morphological homoplasy. *Cladistics*, 24: 1006–1031. 2008.