

A

ANATOMIA FOLIAR DE *CORYMBIA CITRIODORA* (HOOK.) K.D. HILL & L.A.S. JOHNSON ORIUNDAS DA REGIÃO NOROESTE DO PARANÁ**GABRIELA SILVA MOURA**

Universidade Estadual de Maringá (UEM). Av. Colombo, 5790, CEP: 87020-200, Maringá, Paraná, Brasil. E-mail: bismoura@hotmail.com

GILMAR FRANZENER

Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Campus Laranjeiras do Sul, BR 158, km 405, CEP: 85301970 Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil. E-mail: gilmar.franzener@uffs.edu.br

116

Resumo: Tendo em vista a escassez de trabalhos anatômicos utilizados em análises taxonômica e evolutiva da família Myrtaceae, especialmente para os gêneros de *Corymbia*, este trabalho teve como objetivo descrever a estrutura e ilustrar a anatomia foliar de *C. citriodora* oriundos da região Noroeste do Paraná, visando contribuir com dados estruturais à família Myrtaceae e para o conhecimento sobre a biologia e a taxonomia da espécie. O material vegetal foi fixado em FAA 50, submetido ao processo de desidratação, em seguida transferido para etapa de infiltração utilizando-se uma mistura da Resina Líquida mais Ativador em Pó (Meio A). Para a polimerização foi utilizado o Meio B que, consiste na mistura do Meio A mais Hardner (endurecedor). Esta solução foi colocado nos moldes de polietileno (Histomold) e os fragmentos do tecido vegetal foram dispostos em corte transversal e longitudinal. Após a montagem dos blocos foi realizado o corte para a visualização das estruturas anatômicas ao microscópio óptico. As características anatômicas evidenciadas no presente estudo são aquelas comumente encontradas em representantes da família Myrtaceae e no gênero *Corymbia*. O estudo da anatomia foliar deve ser considerado em filogenia, pois há caracteres promissores, tais como: o formato das células comuns da epiderme, presença de tricomas ou não, cavidades secretoras presente na face adaxial e/ou abaxial, entre outros, que possibilitam a classificação taxonômica das espécies, além de fornecer dados importantes para a construção de filogenia.

Palavras-chave: Cavidades secretoras, estudo anatômico, folha, lisígenas, taxonomia.

Abstract: Given the lack of anatomical studies used in taxonomic and evolutionary analysis of Myrtaceae family, especially to the genera *Corymbia*, this study aimed to describe the structure and illustrate the morphology and anatomy of the leaf of *C. citriodora* coming from Northwest of Paraná, aiming to contribute to the Myrtaceae structural data and knowledge on the biology and taxonomy of the species. The plant material was fixed in FAA 50, subjected to the dehydration process then transferred to the infiltration step using a mixture of liquid resin over Activator Powder h (Method A). For the polymerization Medium B which consists in mixing of the medium over Hardner (curing agent) was used. This solution was placed in polyethylene molds (Histomold) and plant tissue fragments were arranged in transverse and longitudinal section. After assembly of the cut blocks to visualize anatomical structures by optical microscopy was performed. The morphological and anatomical features found in the present study are those commonly found in representatives of the Myrtaceae family and the genus *Corymbia*. The study of leaf anatomy must be considered in phylogeny, since there is promising characters, such as the format of the common cells of the epidermis, the presence or not of trichomes, secretory cavities present on the adaxial phase and/or abaxial, among others, which enable taxonomic classification of the species as well as providing important for the construction of phylogenetic data.

Key words: Secretory cavities, anatomical study, leaf, lisígenas, taxonomy.

INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae possui em torno de 140 gêneros e mais de 3.000 espécies, o que a posiciona como a maior família de Myrtales (Johnson & Briggs 1984; Wilson et al., 2001). Encontra-se dividida em duas grandes subfamílias, Mytoidea (predominante na América tropical e subtropical e compreende espécies com frutos carnosos baciformes e folhas opostas) e Leptospermoideae (ocorre predominantemente na Austrália e Polinésia e reúne espécies com fruto seco, geralmente cápsulas loculicidas e folhas alternas) (Heywood, 1993).

O gênero *Corymbia* pertence à subfamília Leptospermoideae, é nativo da Austrália e compreende aproximadamente 680 espécies (Mabberley, 2008). De acordo com Sampaio (1961), é difícil determinar, com segurança, a data da introdução do eucalipto no Brasil.

Presume-se que os primeiros eucaliptos tenham sido plantados por Frederico de Albuquerque, em 1868 no Rio Grande do Sul. No entanto, em 1904, Edmundo Navarro de Andrade, deu início aos primeiros reflorestamentos de áreas nativas que haviam sido derrubadas no Brasil, no Horto de Jundiá (Sampaio, 1961).

O cultivo comercial das espécies de eucalipto tem ganhado importante destaque na economia do Brasil, em decorrência da multiplicidade de seus usos e da significativa área de florestas introduzidas no território nacional (Costa, 1996).

O *Eucalyptus citriodora* Hook, atualmente *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill e L.A.S. Johnson, estabelecido a partir de 1995 como um novo grupo taxonômico de Myrtaceae (Hill & Johnson, 1995) é a espécie mais utilizada na exploração comercial de folhas para a extração de óleo essencial, entrando na composição de diversos produtos tais como sabonetes, perfumes, desodorantes, detergentes, desinfetantes, inseticidas, repelentes, dentre outros (Andrade & Gomes, 2000).

O gênero *Corymbia* tem-se destacado pela grande diversidade de espécies botânicas, provavelmente decorrentes da resposta da pressão de seleção causada pelas alterações do meio ambiente. O mosaico formado pela distribuição das espécies reflete diferentes adaptações a uma grande variação de clima e solo (Florence, 1985).

Embora o eucalipto seja, na maioria das vezes, tratado como uma simples entidade, o gênero é dividido em subgêneros, que alguns botânicos consideram serem suficientemente distintos para serem separados em gêneros.

Apesar dos avanços nos últimos anos para o reconhecimento dos subgêneros, ainda sim sua classificação torna-se confusa. Isto é devido o gênero apresentar uma constituição anatômica muito homogênea entre as espécies, sendo, portanto de difícil identificação. Neste sentido, pesquisas sobre a anatomia foliar podem conduzir a soluções significativas, subsidiando trabalhos taxonômicos.

Tendo em vista a escassez de informações sobre a anatomia da família Myrtaceae, o presente trabalho teve com objetivo descrever a estrutura e ilustrar a anatomia foliar de *C. citriodora* oriundos da região Noroeste do Paraná, visando contribuir com dados estruturais à família Myrtaceae e para o conhecimento sobre a biologia e a taxonomia dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas adultas de *Corymbia citriodora* foram coletadas no Horto de Plantas Mediciniais da Universidade Estadual de Maringá, na região noroeste do Paraná. As folhas foram acondicionadas em sacos plásticos contendo água e imediatamente transportadas para o Laboratório de Anatomia Vegetal, onde foram realizadas as análises anatômicas. Os estudos anatômicos foram realizados na base do pecíolo e na nervura principal do limbo foliar, através de pequenos cortes longitudinais e transversais nessas estruturas. O material foi fixado em FAA 50% (Johansen, 1940) e sua conservação foi feita em etanol 70% (Jensen, 1962). As amostras foram então incluídas em historresina, de acordo com metodologia descrita por Guerrits (1991) e cortados em micrótomo numa espessura de 5 µm a 10 µm com navalha de aço.

As lâminas foram coradas em azul de toluidina (O'Brien, Feder & McCully, 1984), visualizadas em microscópio óptico e fotografadas por uma câmera para captura de imagens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas adultas de *Corymbia citriodora* são anfiestomáticas e glabras, na face abaxial e adaxial da epiderme os estômatos ficam restritos às proximidades da nervura mediana (Figuras 1, 2 e 3) e não apresentaram tricomas. A espécie apresenta epiderme unisseriada, em ambas as faces, assim como registrado nas folhas de *E. globulus* (Oliveira et al., 1991; Farmacopéia Brasileira, 1996).

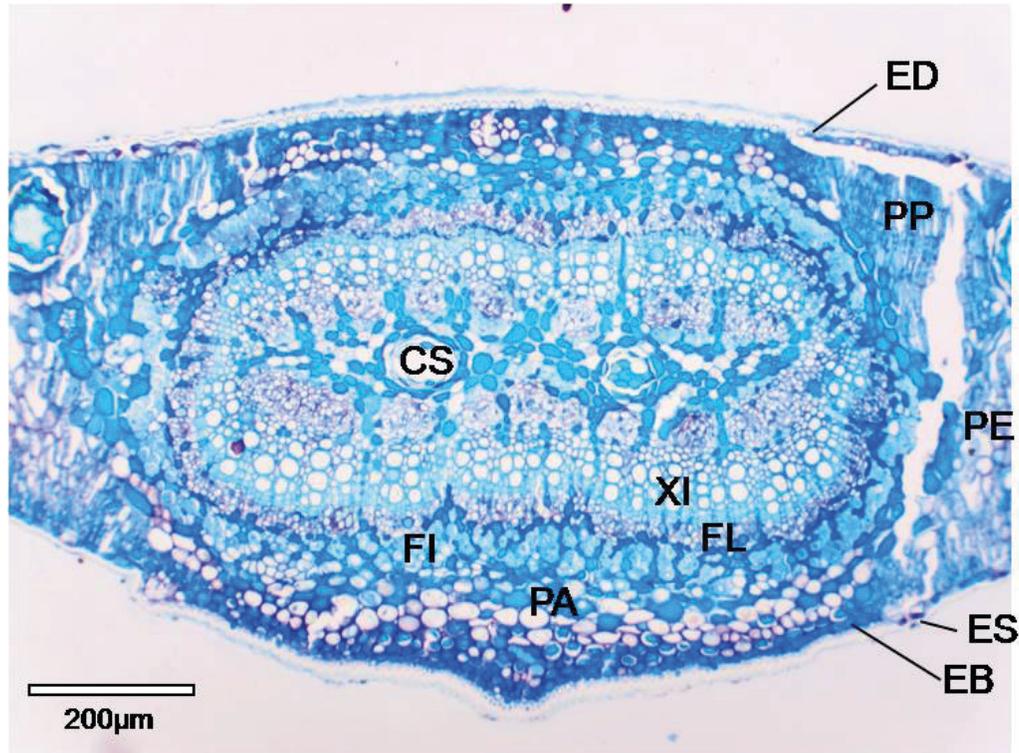


Figura 1 - Nervura central do limbo de *C. citriodora* em seção transversal. CS - cavidade secretora; EB - face adaxial da epiderme; ED - face adaxial da epiderme; ES - estômato; FI - fibras; FL - floema; PA - parênquima; PE - parênquima esponjoso; PP - parênquima paliçádico; XI - xilema.

118

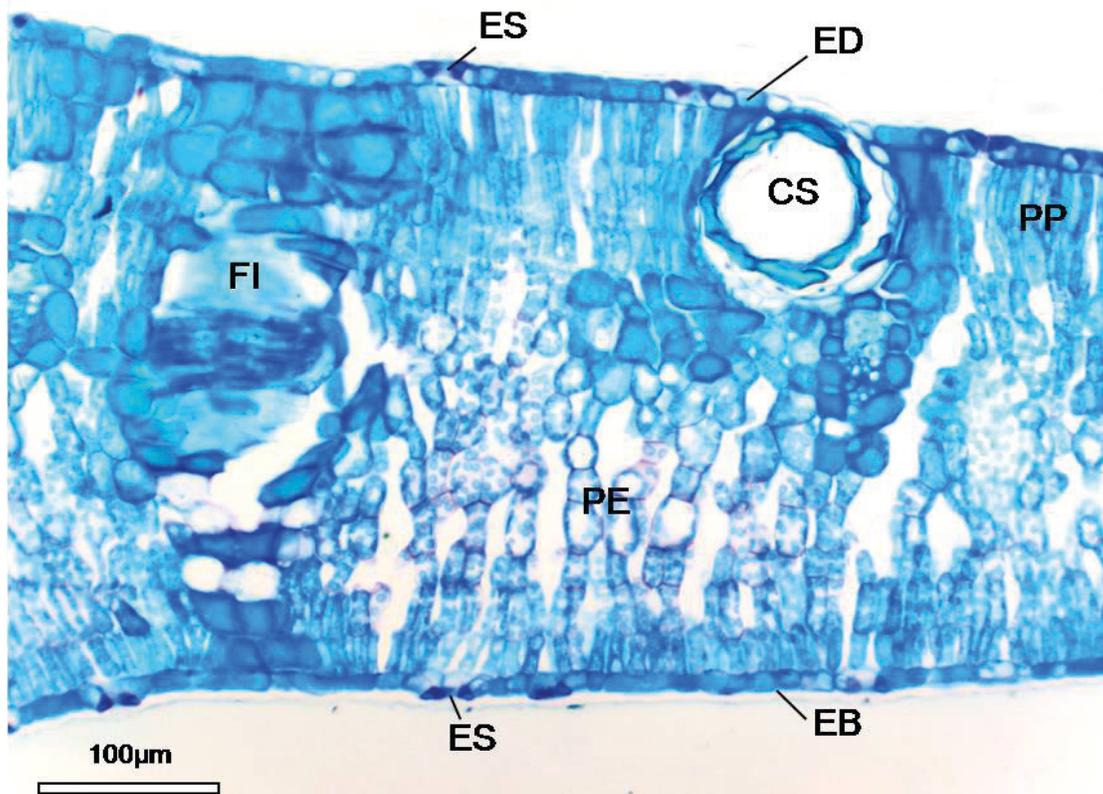


Figura 2 - Nervura central do limbo de *C. citriodora* em seção transversal. CS-cavidade secretora; EB-face abaxial da epiderme; ED-face adaxial da epiderme; ES-estômato; FI- fibras; PA-parênquima; PE-parênquima esponjoso; PP-parênquima paliçádico.

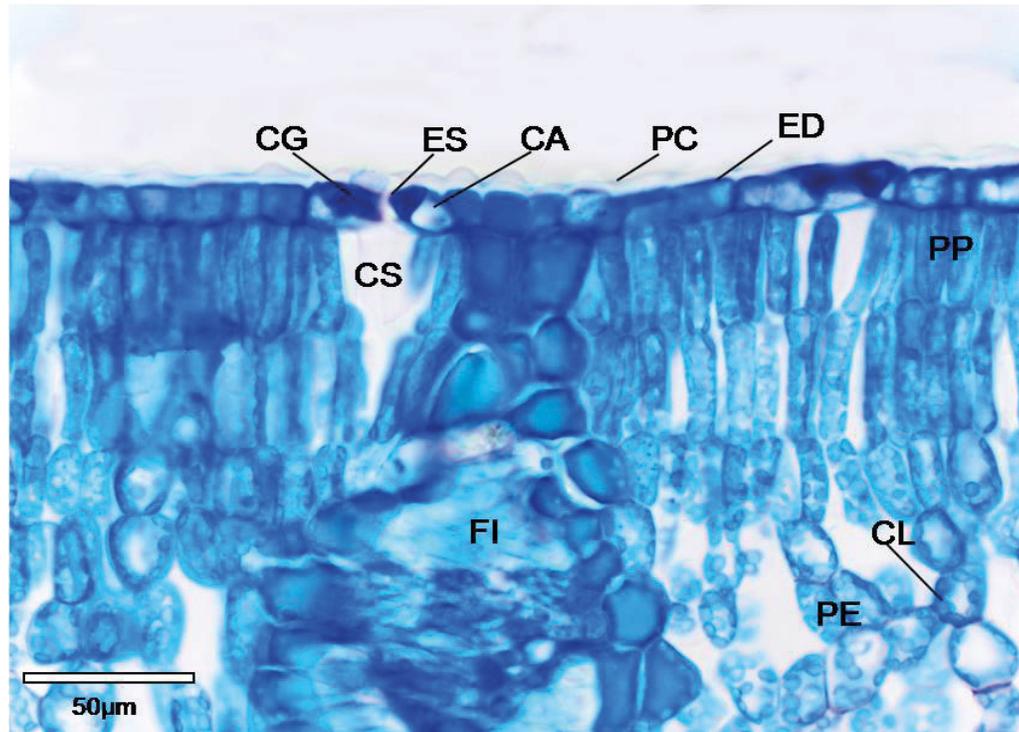


Figura 3 - Nervura central do limbo de *C. citriodora* em seção transversal. CA-célula anexa; CG-célula-guarda; CL-cloroplasto; CS-cavidade subestomática; ED-face adaxial da epiderme; ES-estômato; FI-fibras; PE-parênquima esponjoso; PC-parede cutinizada; PP-parênquima paliçádico.

Duarte (2007) também caracterizou a folha de *Eucalyptus citriodora* como anfiestomática, característica geralmente observada para as espécies de Myrtaceae (Tuffi Santos et al., 2008). Entretanto, Döll-Boscardin et al. (2010), observou a presença de estômatos somente na superfície abaxial do limbo foliar de *Corymbia calophylla*.

Com relação ao mesófilo, foi possível constatar um arranjo heterogêneo simétrico, do tipo isobilateral, ou seja, com parênquima paliçádico em ambas as faces da epiderme. Esse mesmo tipo foi encontrado nas folhas de *E. smithii*, *E. camaldulensis* e nas folhas adultas de *E. globulus* ssp. *globulus* e *E. globulus*, estudadas por Fabrowski (2002); Tantaway (2004).

Segundo Metcalfe & Chalk (1950), o mesófilo das Myrtaceae são frequentemente isobilaterais. Espécies de *Corymbia*, que possuem folhas em posições verticais e horizontais, podem algumas vezes exibir estrutura isobilateral no início, mas com tendência a se tornarem dorsiventrals no decorrer de seu desenvolvimento.

Verificou-se, na face adaxial da folha, 3 camadas de parênquima paliçádico e, na face abaxial de 1 a 2 camadas (Figura 2). Semelhantemente aos resultados obtidos neste trabalho, Duarte (2007) observou em folhas de *C. citriodora* parênquima paliçádico, composto por duas a três camadas ordenadas de células voltada a superfície adaxial da

folha, e parênquima lacunoso, com espaços intercelulares característicos, voltado a superfície abaxial das folhas, característica comum em folhas dorsiventrals.

Diferentemente do que foi observado nesse estudo, Duarte (2007), descreveu mesófilo dorsiventral para a mesma espécie, assim como Tuffi Santos et al. (2008), para seis clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden submetidos ao herbicida glifosato.

No corte feito transversalmente no pecíolo (Figura 4) observa-se de fora para dentro estrutura epidérmica, colênquima, parênquima e tecido vascular. Na Figura 5 mostra um corte em seção longitudinal do pecíolo de *C. citriodora*, sendo possível evidenciar a cavidade secretora, epiderme da face abaxial, epiderme da face adaxial, estômato, fibras, floema, parênquima fundamental, parênquima esponjoso, parênquima paliçádico e xilema.

Verificou-se a presença de cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusa, na região mediana das folhas de *C. citriodora* (Figura 6). Cronquist, (1981) ressalta que a família das Myrtaceae comumente revela a presença de drusas de oxalato de cálcio, isoladas ou agrupadas, em células presentes no tecido parenquimatoso (Figura 6).

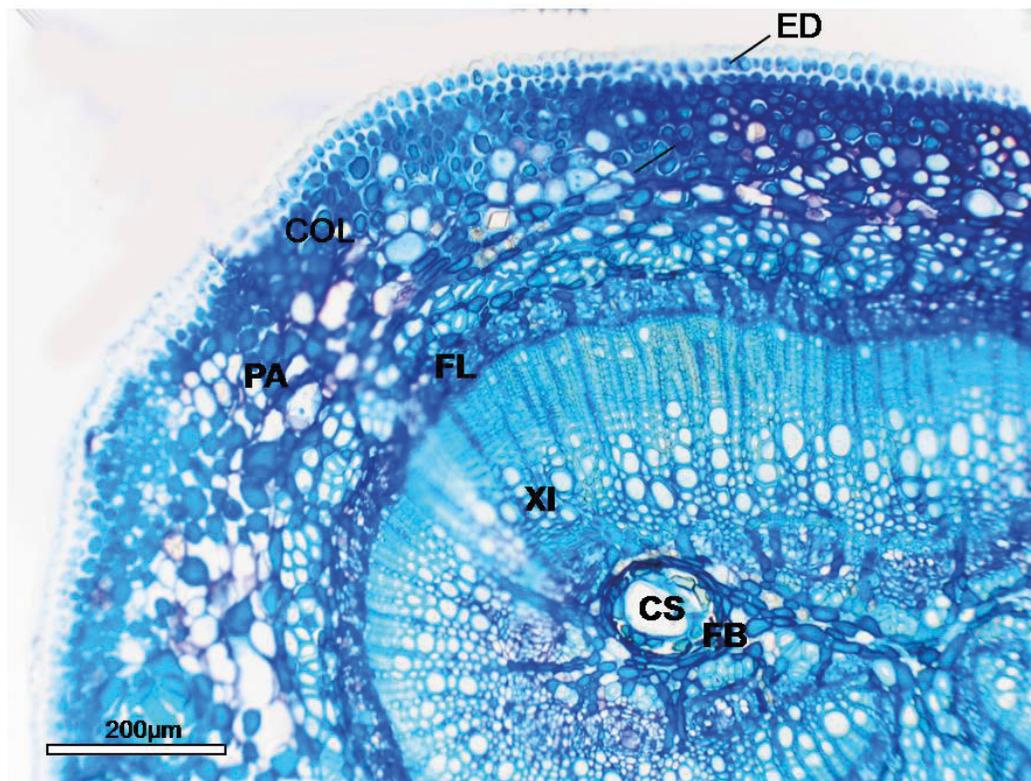


Figura 4 - Pecíolo de *C. citriodora* em seção transversal. COL-colênquima; CS-cavidade secretora; ED- face adaxial da epiderme; FB-fibras da bainha; FL-floema; PA-parênquima; XI-xilema.

120

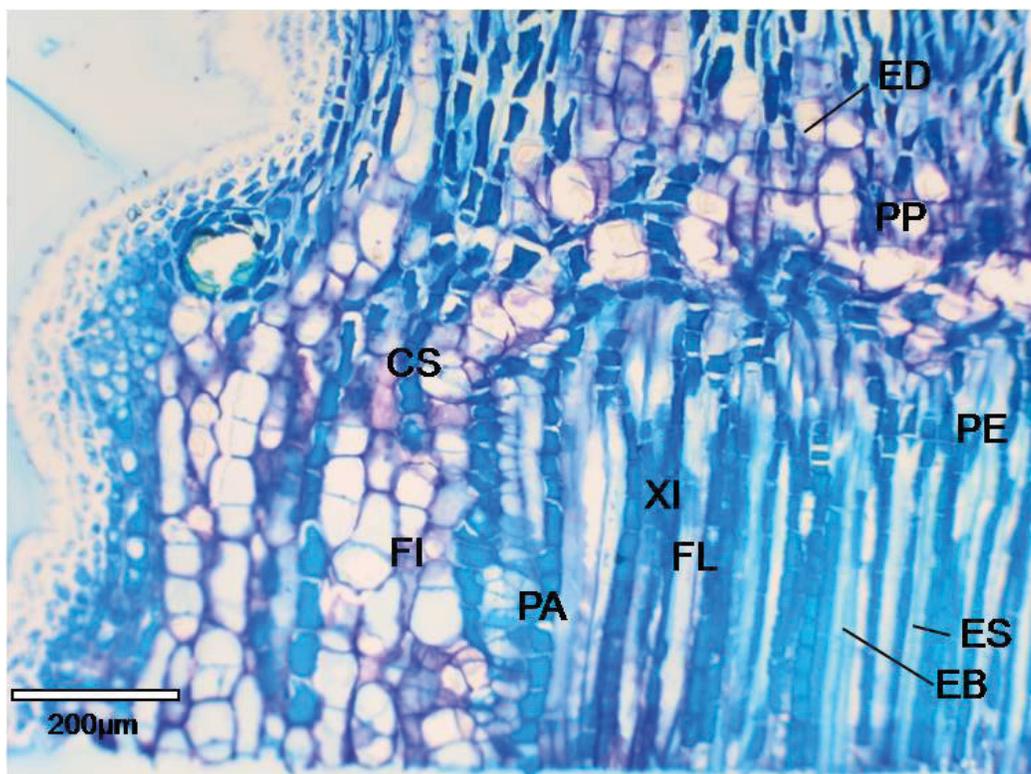


Figura 5 - Pecíolo de *C. citriodora* em seção longitudinal. CS-cavidade secretora; EB- face abaxial da epiderme; ED- face adaxial da epiderme; ES-estômato; FI-fibras; FL-floema; PA-parênquima; PE-parênquima esponjoso; PP-parênquima paliçádico; XI-xilema.

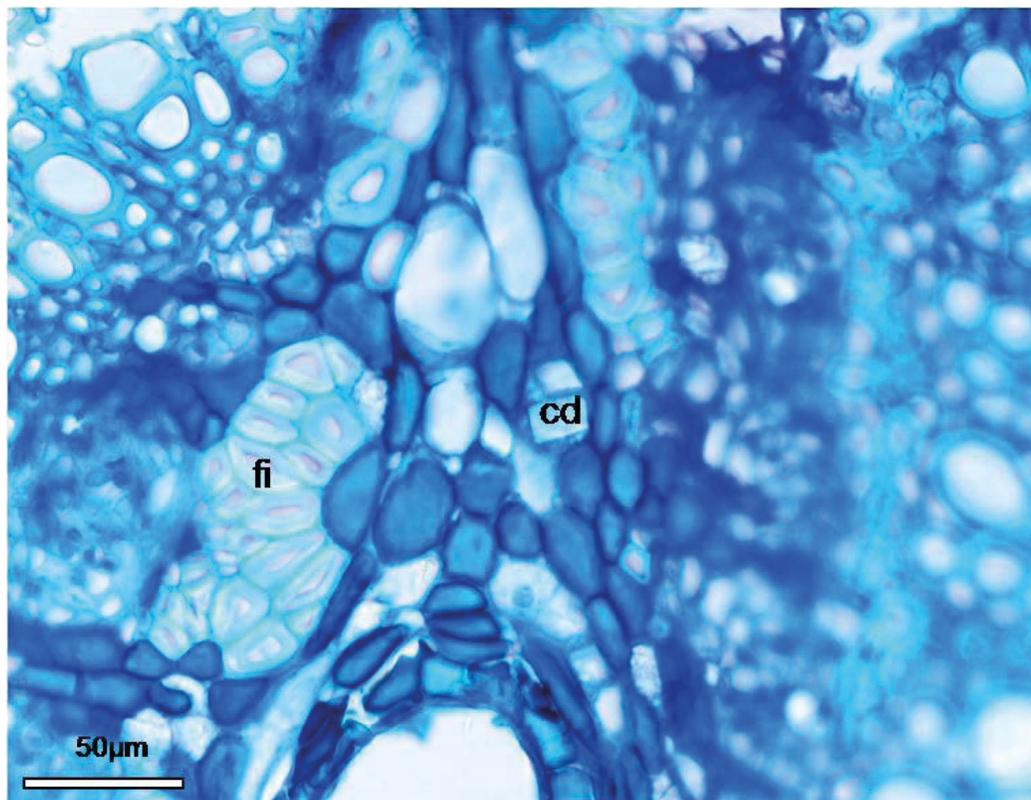


Figura 6 - Pecíolo de *C. citriodora* em seção transversal. CD: cristal de drusa; FI-fibras.

A região de nervura mediana das folhas de *E. benthamii* também revelou cristais de oxalato de cálcio no parênquima (Döll-Boscardin, 2009). No estudo realizado por Tuffi Santos et al. (2008), a presença de cristais na área de vascularização foi uma característica comum às espécies estudadas.

Donato & Morretes (2007) registraram a presença de idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio no mesófilo de *Eugenia brasiliensis*. No estudo anatômico de *C. calophylla*, idioblastos contendo drusas, em pequeno número, integram a região parenquimática da nervura mediana, não sendo visualizados na região de mesófilo.

Na nervura central do limbo foliar e no mesófilo, próximo à face adaxial da epiderme, foram observadas cavidades secretoras do tipo lisígeno (Figura 1 e 2).

De acordo com Metcalfe & Chalk (1957), na maioria das espécies conhecidas como eucalipto, as cavidades secretoras estão localizadas abaixo da epiderme e distribuídas nos tecidos parenquimáticos, sendo substituídas, em algumas espécies, como a *Corymbia citriodora*, por emergências secretoras distribuídas em ambas as faces da folha.

A presença de cavidades secretoras é uma característica peculiar da família Myrtaceae sendo, geralmente esquizolisígenas, indistintamente em ambas as faces, alinhadas com o epitélio, quando do desenvolvimento inicial do órgão vegetal (Metcalfe & Chalk, 1979).

Döll-Boscardin et al. (2010) afirma que a avaliação anatômica das folhas do gênero *Corymbia*, associada à descrição de elementos estruturais específicos, como as estruturas secretoras descritas, contribuem de forma determinante para a identificação das espécies pertencentes a este gênero. Desta forma, cabe ressaltar a importância de estudos de anatomia foliar na diagnose de espécies pertencentes ao gênero *Corymbia*, podendo fornecer importantes dados para a construção de filogenia.

Johnson (1926) verificou em *Eucalyptus globulus* Labill., a presença de elevado número de cavidades secretoras, quase sempre com conteúdo de natureza oleosa, conferindo aspecto translúcido para as folhas jovens e adultas. As cavidades secretoras observadas na espécie *C. calophylla* têm características concordantes com as descritas para a família e para o gênero *Eucalyptus*, exceto por se encontrarem posicionadas mais próximas à face adaxial do limbo foliar (Döll-Boscardin et al., 2010).

Alguns taxa de *Eucalyptus*, apresentam na lâmina foliar a presença de súber cicatricial, sendo revelada como pequenas áreas escuras, salientes, formadas de células suberosas para evitar a perda de água e de outras substâncias voláteis, como ocorre para *Eucalyptus globulus* Labill. A presença do súber cicatricial foi verificada como característica típica para a espécie *E. benthamii* (Oliveira et al., 1998).

A camada de súber cicatricial não foi evidenciada no presente estudo, dessa forma, esse detalhe anatômico tem elevada importância e pode ser considerado um aspecto diferencial na diagnose de *C. citriodora* frente a outros exemplares de Myrtaceae.

Também foram observadas células colenquimáticas subepidérmicas no limbo foliar de *C. citriodora* (Figura 3). Oliveira et al. (1998), observaram na nervura mediana presença de células colenquimáticas subepidérmicas, em *Eucalyptus globulus*.

CONCLUSÕES

As características anatômicas evidenciadas no presente estudo são aquelas comumente encontradas em representantes da família Myrtaceae e no gênero *Corymbia*. O estudo da anatomia foliar deve ser considerado em filogenia, pois há caracteres promissores, tais como: o formato das células comuns da epiderme, cavidades secretoras presente na fase adaxial e/ou abaxial, presença ou não de estômatos, as camadas celulares incolores subepidérmicas, tipo de mesófilo, o formato do feixe vascular na nervura mediana, cristal de drusa entre outros, que possibilitam a classificação taxonômica das espécies, além de fornecer dados importantes para a construção de filogenia.

REFERÊNCIAS

- Andrade, A. M. & S. S. Gomes.** 2000. Influência de alguns fatores não genéticos sobre o teor de óleo essencial em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. Floresta e Ambiente 7:181-189.
- Costa, E. M.** 1996. A madeira do eucalipto na indústria moveleira. Anais do IV SEMADER, Curitiba.
- Cronquist, A.** 1981. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press.
- Döll-Boscardin, P. M., P. V. Farago, J. P. Paula de & T. Nakashima.** 2010. Leaf anatomy of *Corymbia calophylla* (Lindl.) K.D. Hill e L.A.S. Johnson (Myrtaceae). Revista Brasileira Farmacognosia 20: Curitiba.
- Döll-Boscardin, P. M.** 2009. Morfoanatomia, fitoquímica e atividades biológicas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage-Myrtaceae. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal do Paraná, Paraná, 139p.
- Donato, A. M. & B. L. Morretes.** 2007. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. Revista Brasileira Farmacognosia 17:426-443.
- Duarte, E. S. M.** 2007. Crescimento e teor de óleo essencial em plantas de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* tratadas com homeopatia. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 188p.
- Fabrowski, F. J.** 2002. *Eucalyptus smithii* R. T. Baker (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 225p.
- Florence, R. C.** 1985. Eucalypt forests and woodlands. In: Think trees grow trees. Department of Arts, Heritage and Environment in association with the Institute of Foresters of Australia. Canberra: Australian Government Publishing Service, 210p.
- Guerrits, P. O.** 1991. The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles. Groningen: Department of Anatomy and Embriology State University.
- Heywood, V. H.** 1993. Flowering plants of the world. London. B.T.Barsford. Ltd.
- Hill, K. D. & L. A. S. Johnson.** 1995. Systematic studies in the eucalypts 7. A revision of the bloodwoods, genus *Corymbia* (Myrtaceae). Telopea 6:185-504.
- Jensen, W. A.** 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco: W.H. Freeman and Company.
- Johansen, D. A.** 1940. Plant microtechnique. New York: Mc Graw-Hill Book.
- Johnson, E. D.** 1926. A comparison of the juvenile and adult leaves of *Eucalyptus globulus*. New Phytol 25:202-212.
- Johnson, L. A. S. & B. G. Briggs.** 1984. Myrtales and Myrtaceae - a phylogenetic analysis. Annals of the Missouri Botanical Garden 71:700-756.
- Mabberley, D. J.** 2008. Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classifications, and uses. 3ed. Cambridge: Cambridge University Press 1040p.

- Metcalfe, C. R. & L. Chalk.** 1979. Anatomy of dicotyledons. Oxford: 2. ed: Claredon Press.
- Metcalfe, C. R. & L. Chalk.** 1950. "Anatomy of the dicotyledons". Claredon Press, Oxford, Vol. 2.
- Metcalfe, C. R. & L. Chalk.** 1957. Myrtaceae. In: Anatomy of the Dicotyledons. v1. Oxford: Clarendon Press, 620-631.
- O'Brien, T. P., N. Feder & M. E. Mccully.** 1984. Polychromatic staining of plant cell wall by toluidine blue O. Protoplasma 59:368-373.
- Oliveira, F., G. Akisue & M. K. Akisue.** 1991. Farmacognosia. Atheneu, São Paulo.
- Oliveira, F., G. Akisue & M. K. Akisue.** 1998. Farmacognosia. Atheneu, São Paulo.
- Sampaio, A. N.** 1961. O eucalipto. 2ª ed. Cia Paulista de Estradas de Ferro, SP. 667p.
- Tantawy, M. E.** 2004. Morpho-anatomical study on certain taxa of Myrtaceae. Asian Journal of Plant Sciences 3:274-283.
- Tuffi Santos, L. D., B. F. Sant'anna-Santos, R. M. S. A. Meira, R. A. S. Tiburcio, F. A. Ferreira, C. A. D. Melo & E. F. S. Silva.** 2008. Danos visuais e anatômicos causados pelo glyphosate em folhas de *Eucalyptus grandis*. Planta Daninha 26:9-16.
- Wilson, G. W., M. M. O'Brien, P. A. Gadek & C. J. Quinn.** 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of intrafamiliar groups. American Journal of Botany, Bronx 88:2013-2025.

Recebido em: 06.V.2014

Aceito em: 18.IX.2014