

4

Aspectos morfoanatômicos das folhas e casca
de *Aspidosperma nitidum* Benth. e
Aspidosperma marcgravianum Woodson

Resumo

Várias são as espécies arbóreas conhecidas como carapanaúba na Amazônia, algumas pertencentes ao mesmo gênero e outras até de famílias distintas. Em comunidades tradicionais da Amazônia algumas dessas espécies têm seu uso indicado principalmente para o tratamento de afecções do intestino. Folhas e casca de *Aspidosperma nitidum* e *Aspidosperma marcgravianum* tiveram a anatomia investigada com o objetivo de identificar estruturas anatômicas e ainda averiguar qual seria dentre elas a indicada na medicina popular. Folhas com o limbo completamente expandido foram coletadas de três indivíduos de *A. nitidum* na comunidade Nossa Senhora de Aparecida (Silves-AM) e três na comunidade Urubuí (Presidente Figueiredo-AM). Outros três indivíduos, de *A. marcgravianum*, foram coletados na Reserva Adolpho Ducke para análise morfoanatômica uma vez que nas comunidades não foi indicado. Seções da folha foram submetidas a técnicas usuais de microscopia de luz. Somente *A. nitidum*, segundo informações de membros da comunidade, é utilizada na medicina popular. A folha de *A. nitidum* é hipoestomática, com estômatos anomocíticos. Epiderme unisseriada, células quadrangulares a retangulares na face adaxial e papilosa na face abaxial. Cutícula delgada e tricomas tectores unicelulares e multicelulares. O mesofilo é dorsiventral com parênquima paliçádico formado por 1-2 camadas de células e lacunoso com até 10 camadas. Inúmeros esclereídes colunares estão dispersos no mesofilo e em menor número na nervura central. Laticíferos e idioblastos cristalíferos encontram-se dispersos no limbo foliar. A nervura central possui parênquima de preenchimento homogêneo, fibras isoladas e agrupadas, feixe bicolateral em forma de arco. A folha de *A. marcgravianum* é hipoestomática, os estômatos são do tipo anomocítico, e encontram-se totalmente recobertos pela cutícula. Epiderme é unisseriada, células quadrangulares a retangulares na face adaxial e papilosas na face abaxial. Cutícula espessa e tricomas tectores unicelulares. Não contém

esclereídes colunares. Os laticíferos estão disperso pelo limbo exceto na epiderme e possuem paredes primárias espessadas. Mesofilo apresenta parênquima paliçádico variando de 1-2 camadas de células e lacunoso com até 10 camadas. São encontrados idioblastos cristalíferos em todo o limbo, porém mais freqüentemente na nervura central. Esta por sua vez apresenta cutícula mais espessa em ambas as faces da epiderme, parênquima de preenchimento homogêneo. O cilindro vascular é bicolateral e tem formato de arco pronunciado em U ou V e abundantes idioblastos com compostos fenólicos, que possivelmente justificam a indicação medicamentosa. A casca de ambas as espécies por sua vez apresenta peridermes seqüenciais com felema variando de 10 a 40 camadas de células de formas variadas. Ritidoma persistente porém com esfoliamento não aparente e de 3 a 7 camadas. Feloderme pouco desenvolvida. Não há lenticelas. Floema secundário não estratificado e com agrupamento de células esclerenquimáticas. Elementos de tubo crivado solitários ou agrupados com 1-2 células companheiras. As características morfoanatômicas das folhas são indicativos para diferenciação taxonômicas das espécies estudadas o que não ocorre com a casca pela similaridade de suas células e tecidos.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Amazônia, carapanaúba

Leaves and bark Morphoanatomy of *Aspidosperma nitidum* Benth. and *Aspidosperma marcgravianum* Woodson (Apocynaceae)

Abstract

Several tree species are known as “carapanaúba” in Amazonia, some of them are of the same genus and others are from completely different family. In Amazonian traditional communities some of these species are indicated, mainly, for liver treatment. Leaves and bark of *Aspidosperma nitidum* and *Aspidosperma marcgravianum* were studied in anatomy aiming to identify anatomical structures and also to see which of them would be indicated in folk medicine. Completely expanded leaves were collected from three individuals of *A. nitidum* at “Nossa Senhora de Aparecida (Silves-AM) community and three individuals at Urubuí (Presidente Figueiredo-AM). Other three individuals, from *A. marcgravianum*, were collected in Adolpho Ducke Reserve for anatomical analyses. Leave regions were submitted to a photonic microscope usual techniques. Only *A. nitidum*, as communities members informations, was used in folk medicine. The *A. nitidum* leaf is hipostomatic, with anomocytic stomata. Epidermis is uniseriate, square and rectangular cells at upper face and papils at lower face. Thin cuticule and unicelullar and multicellular tector hairs. Dorsiventral mesophyll with palisade parenchyma formed by 1-2 layers of cells and spongy parenchyma with 10 layers over. Many colunar sclereids are dispersed in mesophyll but in low number at midrib. Laticifers and crystal idioblasts are found dispersed for all extension of the leave. The midrib has a homogeneous fill parenchyma, isolated fibers or in groups, bicolateral bundles in arc shape. *A. marcgravianum* leaf is hipostomatic, stomata are anomocytic and are found completely recovered by cuticule. Epidermis is uniseriate, square and rectangular cells in upper face and papils in lower face. Thicked cuticule and unicellular tector hairs. There’s no columnar sclereids. Laticifers are

dispersed in all the leaf but epidermis and they have primary thick-walled cells. Mesophyll has palisade parenchyma varying in 1-2 layers of cells and spongy parenchyma with 10 layers over. There are crystalifer idioblasts in all the leaf, however they're frequently at midrib. The midrib present thick cuticle in both faces of epidermis, homogeneous fill parenchyma. Bicolateral bundles like-U or V arc shape and many phenolic compounds in idioblasts that can justify the medicamentous indication. Barks of both species present sequential periderms with cork varying from 10 to 40 layers of cells with different shapes. Persistent rhytidome but it can't be seen falling down the tree and it has from 3 to 7 layers. Pheloderm consisting of a few layer. There aren't lenticels. Secondary pheloderm not stratified and sclerenchymatic cells in group. Sieve tube element isolated or in group with 1-2 companion cells.

Key-words: Medicinal plants, Amazônia, "carapanaúba"

4.1. – Introdução

De acordo com Endress e Bruyns (2000) Apocynaceae contém 424 gêneros. Somando-se o número de representantes das famílias Asclepiadaceae e Apocynaceae encontradas em Joly (1979) que hoje estão unidas pelo sistema de classificação filogenético, encontraremos um total de 425 gênero com mais de 3500 espécies. Segundo Barroso (1991), no Brasil a família está representada por 41 gêneros e 376 espécies. A família é rica em látex presente em todas as estruturas vegetativas e reprodutivas. Para Metcalfe e Chalk (1950) a característica anatômica de maior destaque é a ocorrência de canais laticíferos com conteúdo de cores variadas e floema intraxilemático.

O látex pode conter metabólitos secundários (Simões *et al.*, 2004) indicando a planta com potencial econômico, medicinal ou tóxica e fornecendo proteção contra herbívoros (Metcalfe e Chalk, 1950; Fahn, 1979).

Após investigação etnobotânica com pessoas que trabalham no mercado municipal Adolpho Lisboa, na cidade de Manaus, foi encontrada uma espécie de Apocynaceae muito consumida, indicada e recomendada como medicinal, a carapanaúba. Esta planta foi citada pelos vendedores de raiz daquela localidade e ficou em primeiro lugar nas indicações, tanto para quem vende como para quem compra o produto. Dessa forma fica registrada mais uma espécie da megadiversidade amazônica com potencialidade para estudos em diversas áreas do conhecimento, inclusive em morfoanatomia.

As muitas espécies, com nome vulgar de carapanaúba, fazem parte do Gênero *Aspidosperma* e corroboram mais uma vez às indicações de que espécies da família Apocynaceae são ricas em metabólitos secundários capazes de possuírem atividades medicinais.

Seguindo critérios etnobotânicos e após investigação em duas comunidades da Amazônia foram escolhidas duas espécies, *Aspidosperma*

nitidum, citada pelos informantes das comunidades estudadas, e *Aspidosperma marcgravianum* uma das carapanaúbas encontradas na literatura.

Dessa forma objetivou-se analisar a morfoanatomia da casca e das folhas de ambas as espécies abrindo possibilidade de trabalhos na área da fitoquímica e auxiliando as análises taxonômicas em outros tipos de trabalho.

4.2. – Material e métodos

4.2.1. – Análise Morfológica

As coletas do material vegetal foram realizadas na comunidade Nossa Senhora de Aparecida (Silves-AM) e Comunidade Urubuí (Presidente Figueiredo-AM).

Os exemplares coletados foram identificados por comparação com os registros existentes no herbário do INPA que se encontram sob o número de registro 181832 para *A. nitidum* e 180516 para *A. marcgravianum*. Os indivíduos escolhidos para coleta na Reserva Ducke estão devidamente identificados e com plaquetas enumeradas na área de coleta (Fig. 10).

As coletas nas comunidades limitaram-se a espécie *A. nitidum* uma vez que era a única citada e reconhecida como medicinal. Dessa forma foram realizadas novas coletas na Reserva Ducke, inicialmente para coletar a espécie *A. marcgravianum* e para confirmação da identificação de *A. nitidum* coletadas nas comunidades.

Para análise morfológica e medições do limbo foliar e pecíolo foi usado paquímetro digital indicando comprimento do pecíolo, comprimento e maior largura do limbo.

Para as descrições morfológicas da folha e da casca (Fig. 11) foram realizados registros fotográficos com máquina digital Samsung 5.0 MPixels.

Casca e folhas de três indivíduos de cada uma das espécies foram coletados para as análises em laboratório.



Fig. 10 – Identificação em campo das carapanaúbas na Reserva Adolpho Ducke. Detalhe das árvores etiquetadas com número de referência das exsicatas depositadas no herbário do INPA.



Fig. 11 – Região do caule de onde se retirava a casca para análise morfológica e anatômica.

4.2.2. - Estudo anatômico

Dez folhas com o limbo completamente expandido foram coletadas aleatoriamente dos três indivíduos das espécies estudadas e que estivessem em boas condições fitossanitárias. Amostras da porção mediana do limbo foram fixadas em FAA 50% por 24 horas e preservados em álcool etílico 70%.

As folhas foram retiradas do álcool 70% e passaram por desidratação em duas etapas etílicas (álcool 85% e 95%) por duas horas em cada uma delas (Feder e O'Brien, 1968). Na etapa seguinte o material foi colocado em solução mista de álcool 95% e resina, na proporção de 1:1, até cobrir o mesmo, ficando de duas a quatro horas. Após esse período o material foi incluído em resina metacrilato pura e líquida e ficou a noite toda nessa reação (overnight). O tempo na resina de pré-inclusão podia ser superior ao acima citado chegando a ficar até quatro dias na solução. Quando o material estivesse incluído e encontrava-se no fundo do frasco a próxima etapa era inclusão em resina mais endurecedor (sólida) onde material era emblocado. Em todas as etapas envolvendo álcool e resina líquida foi usada a bomba à vácuo para acelerar o processo de infiltração nos tecidos vegetais.

O material emblocado foi cortado em micrótomo rotativo Leica RM2145, com navalha descartável e os cortes tinham espessuras variando de 4 a 7 μm . Os cortes foram distendidos em água destilada a 30 °C e colocados sobre lâmina de vidro e em seguida levados a chapa aquecedora (20 °C) para melhor fixação. Após o resfriamento, o material foi corado com azul de toluidina por aproximadamente 10 minutos, em seguida coberto com lamínula e montada com Permout.

As microfotografias foram realizadas em Microscópio Axioscop 50 (Zeiss) com máquina digital para captura de imagem, Power Shot A620, 7.1MPixel (Canon).

As escalas das figuras foram obtidas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

As cascas foram coletadas dos mesmos indivíduos de onde as folhas foram retiradas (três amostras para cada espécie). Foram realizados cortes da casca por 4 métodos histológicos: 1) corte a fresco do material (a mão livre e em micrótomo de mesa); 2) corte do material incluído em parafina líquida; 3) corte do material incluído em resina sintética e 4) corte do material incluído em PEG (Polietilenoglicol 1500 e/ou 2000).

Os melhores resultados foram obtidos com PEG, onde o mesmo era derretido em estufa e aplicado diretamente sobre os cortes já preparados em formas de plástico para tal finalidade. Os blocos eram formados e após o resfriamento mantidos em geladeira.

Os cortes foram realizados nas seguintes espessuras: 20µm, 30µm e 40µm. O material seccionado foi colocado em lâminas de vidro coberto com lamínula sobre glicerina e realizada análise.

A descrição anatômica da casca segue a padronização proposta por Richter *et al.* (1996) e critérios de descrição para comparação de casca de Machado *et al.* (2005).

4.2.3. – Macerado

Amostras da casca do caule foram maceradas em mistura de volume igual de ácido acético e peróxido de hidrogênio a 60° C (Johansen, 1940) por 12 to 24 horas. O material foi corado com safranina aquosa a 1%.

4.3. – Resultados e Discussão

Os indivíduos são árvores medindo até 25 metros, cujo caule não evidenciou ritidoma perceptível nem foram encontradas lenticelas. O diâmetro do caule a altura do peito variou muito, sendo encontrados indivíduos com 1m

de diâmetro. Não há complicação para a retirada da casca, que é a parte procurada pelas comunidades para uso medicinal.

As espécies possuem tronco acanalado, com casca marrom externamente e amarelo-avermelhada internamente (*A. nitidum*) e marrom escura pela visão externa e vermelho-amarronzada internamente (*A. marcgravianum*). Superfície rígida de espessura variando em média de 0,5cm a 1,0cm. Comumente encontram-se briófitas, líquenes e algas aderidos externamente à casca (Fig. 10).

A presença de canais laticíferos é comum nas partes estudadas (folhas e casca) para as duas espécies, contudo a retirada da casca das duas espécies exsuda pouco látex. Nos ramos superiores o exsudato possui maior volume tanto nos ramos caulinares mais novos como nas folhas.

Ambas as espécies possuem similaridade nas estruturas e disposição dos órgãos e tecidos.

4.3.1. – Morfoanatomia da folha e da casca de *Aspidosperma nitidum* Benth.

A FOLHA é oblonga e apresenta ápice arredondado, base acuminada e margem lisa, ondulada ou sinuosa curto-peciolada (medindo até 0,5 cm) e comprimento total em média 10 cm e 6,5 cm na maior largura do limbo. Sua superfície é verde, concolor e hipoestomática revelando diferenças entre as duas faces da epiderme,

Na **face adaxial** a epiderme apresenta cutícula espessada (Figs. 12A e 12E) não ornamentada tendo células com tamanhos semelhantes. O formato das células varia entre quadrangulares a retangulares e o núcleo é periférico, Pacheco (1979) encontrou resultados similares quando avaliou a mesma região em *Aspidosperma pyriformium*. Tricomas tectores curtos e esparsos distribuem-se por todo o limbo em maior número na região onde a epiderme recobre as diferentes nervuras. Estas informações foram encontradas na epiderme abaxial

por Pacheco (1979). A maior presença de tricomas na região da nervura contradizem os dados de Valente e Carvalho (1974) para a espécie *Aspidosperma pyriformium* var. *molle*, em estudos anteriores.

Na **face abaxial** a epiderme é papilosa com cutícula espessa (Fig. 12E) e presença de cera epicuticular (Fig. 13 C). Os estômatos são paracíticos e as células guardas estão levemente abaixo do plano das outras células epidérmicas e a cutícula recobre o complexo estomático dificultando a visualização dos mesmos. Para melhor visualização dos estômatos foi necessária a utilização de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e um estômato pode ser observado (Fig. 13D) com a cutícula margeando-o. Esta face apresenta células de tamanho variado, com núcleo marginal. O tamanho das células não difere muito da face adaxial e os tricomas tectores são unicelulares (Fig. 13A) .

O **mesofilo** é dorsiventral com parênquima paliçádico contendo células grandes e em até duas camadas sendo que a segunda camada contém células de tamanho menor (Fig. 12A). Entremeadas ao paliçádico ocorrem esclereídes colunares cujo comprimento pode atingir de um lado ao outro das faces da epiderme (Fig. 12E). A quantidade de cloroplastos no parênquima paliçádico é bastante variada por célula. O parênquima lacunoso pode ter até dez camadas de células de formato variado e com grandes espaços intercelulares (Fig. 12C e 12D). Presença de idioblastos cristalíferos em número reduzido. No parênquima lacunoso podem ocorrer esclereídes colunares de tamanhos variados e alguns ramificados bífidos ou trífidos (Fig. 12E). Ocorrem feixes vasculares colaterais de variados calibres em todo o mesofilo e nos menores a endoderme é percebida com maior nitidez (Fig. 12C). Presença de fibras gelatinosas em alguns pontos e dispersas por todo o mesofilo (Fig. 15 B e D).

Laticíferos não articulados são vistos dispersos em todo o mesofilo (Fig. 12D), abaixo do paliçádico ou imerso no lacunoso de comprimento e ramificações bastante variados, com conteúdo celular.

A **nervura central** em corte transversal apresenta epiderme com células de tamanhos similares às encontradas no restante do limbo. O formato varia um pouco deixando as células quadrangulares. O cilindro central é bicolateral semi-fechado apenas apresentando uma pequena abertura onde adentram células parenquimáticas. Na região da epiderme que recobre nervura central o número de tricomas tectores é maior que no restante do limbo e contém 1 ou 2 células.

Colênquima angular (Fig. 12B) presente em uma ou duas camadas, parênquima de preenchimento é homogêneo com células de formato isodiamétrico e pequenos espaços intercelulares. Há idioblastos com parede primária espessada indicando laticífero (Fig. 12B – seta). Fibras isoladas e agrupadas são encontradas no parênquima de preenchimento bem como outros idioblastos de cristais prismáticos, que segundo Metcalfe e Chalk (1950) são comuns para a família e pode servir de caráter taxonômico.

O **pecíolo** é cilíndrico ou levemente achatado dorsalmente, com células epidérmicas de formato isodiamétrico e cutícula espessa apresentando ainda tricomas tectores unicelulares. Ocorre uma hipoderme secretora contínua em todo o pecíolo (melhor evidenciada na Fig. 12G). A hipoderme é descrita para a família como uma característica marcante (Metcalfe e Chalk, 1950; Gomes, 2008) e pode conter compostos fenólicos corados pela safranina (Fig. 12G). Pacheco (1979) cita hipoderme não no pecíolo mas na nervura principal da folha. O córtex apresenta células isodiamétricas no parênquima com braquiesclereídes dispersos (Fig. 12F e G).

A **CASCA** apresenta coloração marrom (alguns indivíduos com a entrecasca avermelhada) e as amostras coletadas da casca puderam ser mensuradas antes mesmo do corte cujo procedimento era facilitado, pois a casca soltava-se sem maiores problemas.

A **periderme** é constituída por unidades seqüenciais (peridermes seqüenciais) onde o felema variou entre 10 a 40 camadas de células (Fig. 15A). A forma das células variou de regulares a hexagonais. São encontradas fileiras

radiais de células, com espessamento de suberina nas paredes periclinais. O ritidoma é persistente e está constituído de parênquima e esclerênquima. O esfoliamento não é aparente e o número de camadas encontradas na casca que formavam o ritidoma variou de 3 a 7.

Kulkarni *et al.* (1973) encontraram de 20-40 camadas de células no que denominaram de súber e o floema constituindo cerca de 50% da espessura da casca em *Aspidosperma olivaceum*.

A **feloderme** é pobremente desenvolvida e os testes histoquímicos revelaram presença de compostos fenólicos em, praticamente, todas as células. Não ocorrem lenticelas.

O **floema secundário** é do tipo não estratificado com agrupamento de células esclerenquimática de distribuição difusa em secção transversal (Fig. 15C). O parênquima axial possui de 5 a 13 células intercalados a elementos de tubos crivados. As células tem formato retangular com parede delgada sem espaço intercelular na região mais interna da casca. Na porção mais externa o parênquima tem algumas células que se esclerificam.

Os elementos de tubo crivado são encontrados solitários ou agrupados (Fig. 17A, B, C) e em cada unidade é possível encontrar 1-2 células companheiras e estão dispersos em células de parênquima. As medidas do elemento de tubo variaram no comprimento e o diâmetro. As células possuem placa crivada inclinada (Fig. 17B) composta com áreas crivadas proeminentes (Fig. 17C) com média de 15-30 áreas por célula de padrão escalariforme.