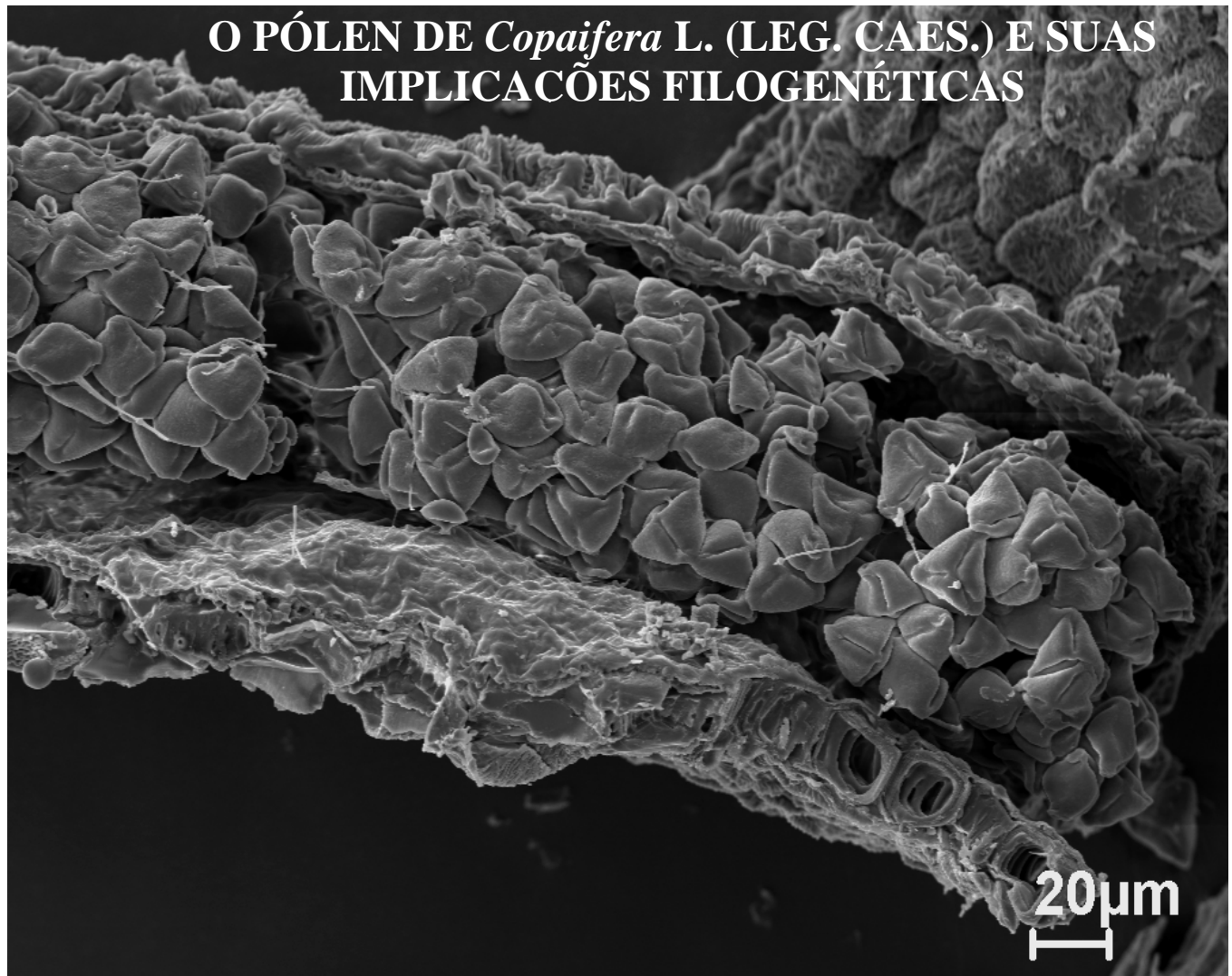


**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZÔNAS - UFAM**



**FLÁVIA CRISTINA ARAÚJO BARATA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica.

Manaus – AM

2006

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**

**O PÓLEN DE *COPAIFERA* L. (LEG. CAES.) E  
SUAS IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS**

**FLÁVIA CRISTINA ARAÚJO BARATA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica.

Manaus - Amazonas

2006

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**

**O PÓLEN DE *COPAIFERA* L. (LEG. CAES.) E  
SUAS IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS**

**FLÁVIA CRISTINA ARAÚJO BARATA**

**Orientadora: MARLENE FREITAS DA SILVA (*in memoriam*)**

**Orientadora Substituta: MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE**

**Co-Orientadora: LÉA MARIA MEDEIROS CARREIRA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica.

Manaus - Amazonas

2006

## **OFEREÇO**

Ao meu grande amor, Beto.

Obrigada por você existir.

### **DEDICO**

A minha querida mãe Lenita, que abdicou parte de sua vida em prol dos filhos. Obrigada, pelo exemplo de força, amor e coragem.

BARATA, Flávia Cristina Araújo

O Pólen de *Copaifera* L. (Leg. Caes.) e suas implicações filogenéticas.

140 p.: il.

Tese de Doutorado – INPA/UFAM

1. Botânica: Palinologia, Taxonomia. 3. Título.

**Sinopse:**

Descreve a morfologia do pólen das espécies do gênero *Copaifera* L. que ocorrem na Amazônia brasileira. Relaciona os dados da Taxonomia com a Palinologia, e elabora chave polínica. Classifica o gênero em um único Tipo Polínico, e as espécies, em Subtipos. Infere a respeito da evolução dos caracteres polínicos entre os Subtipos e suas respectivas espécies.

**Palavras-chaves:** Leguminosae, *Copaifera*, Morfologia Polínica,  
Amazônia brasileira.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado forças para concluir essa importante etapa em minha vida profissional.

Ao Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) em convênio com a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pela oportunidade oferecida no curso de Pós-Graduação em Botânica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao projeto Dendrogene (Conservação Genética e Florestas Manejadas da Amazônia), pelo apoio dado na fase inicial da pesquisa.

À minha primeira orientadora, Dra. Marlene Freitas da Silva, (*in memoriam*) apesar de não estar mais entre nós, nunca será esquecida em nossos corações. Agradeço pela amizade, apoio, orientação, e, principalmente, pelo exemplo de caráter e amor ao ensino e pesquisa em Botânica.

A minha orientadora substituta Dra. Maria Teresa Piedade, pelo carinho e atenção dispensados em todos os momentos que precisei, principalmente quando solicitei sua orientação.

À minha co-orientadora Dra. Léa Maria Medeiros Carreira, que iniciou-me na carreira científica, abrindo as portas do saber, quando eu buscava conhecimento e aprimoramento. Como grande amiga e mestra, ensinou-me a vencer barreiras indispensáveis para o meu crescimento profissional e também, para que eu pudesse ser uma pessoa melhor. Não tenho como agradecer todo carinho e atenção recebidos nesses treze anos de convívio.

À Dra. Regina Martins-da-Silva, pela amizade, paciência, apoio, e estímulo em todos os momentos dessa pesquisa. Com toda certeza, sem a sua valiosa contribuição científica esse trabalho não teria o mesmo valor.

Ao Dr. Joaquim Gomes, Chefe do Departamento de Botânica, Embrapa-Amazônia Oriental, por autorizar-me a trabalhar livremente no Departamento, e auxiliar-me quanto à utilização dos microscópios de luz.

A Assistente de Pesquisa, Helena Josiane Raiol Souza, por todo apoio técnico-laboratorial dado na fase inicial dessa pesquisa.

Ao Dr. Hilton Túlio Costis, pelas orientações e informações quanto ao uso da microscopia eletrônica de varredura.

À Dra. Monika Barth, pelas sábias contribuições. Obrigada por toda a atenção dispensada.

As Dra.(s) Regina Lobato, Helen Sótão e Raimunda Potiguara, pela inestimável colaboração em todos os momentos que precisei.

À Dra. Ires Paula Miranda, pela amizade, e gentileza em permitir o uso do laboratório de Palinologia no INPA.

À Dra. Maria Lúcia Absy, por todo apoio dado durante os períodos de minha permanência em Manaus

À Dra. Cristina Senna, que gentilmente autorizou o uso do Laboratório de Microscopia da Coordenação de Ciências da Terra e Ecologia (CCTE), do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA.

À Neide, secretária da pós-graduação do INPA, pela amizade e atenção com que resolvia os assuntos burocráticos em Manaus.



Ao ilustrador Carlos Alvarez, pela confecção dos diagramas polínicos.

A Isabella, que foi mais que uma amiga, uma irmã leal, sincera, confidente, sem a qual não sei como teriam sido os períodos de minha permanência em Manaus.

Aos inesquecíveis Cleo e Rodrigo que me acolheram em seu lar como um membro da família, obrigada pela amizade e carinho.

Ao Seidel Santos, pela alegria, amizade, desabafos e estímulo para que eu desenvolvesse o trabalho.

As atenciosas amigas Márlia Ferreira e Silvana Monteiro, obrigada pelos momentos felizes.

Aos colegas e amigos da Coordenação de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi, Adalgisa, Berna, Cleberson, Ely Simone, Eunice, Rolf, Tatiana, pela atenção e apoio.

Aos colegas e amigos de Manaus, Cilane, Cristiane Ferreira, Fernanda, Geisiane, Jomber, Júlio, Lena, Lourdes, Mireide, Otilene, Robson, Rogério e Sônia.

A todos aqueles, que de uma forma ou de outra, me ajudaram a vencer mais esta escalada, o meu sincero agradecimento.

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>II</b>
<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XII</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>XIII</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XIV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XV</b>
<b>APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>XVI</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. TAXONÔMICAS.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. PALINOLÓGICAS.....</b>	<b>6</b>
<b>3. CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO.....</b>	<b>8</b>
<b>3.1. ASPECTOS TAXONÔMICOS.....</b>	<b>8</b>
<b>3.2. DESCRIÇÃO BOTÂNICA.....</b>	<b>11</b>
<b>3.3. ASPECTOS PALINOLÓGICOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3.4. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA.....</b>	<b>14</b>
<b>4. QUESTIONAMENTOS RELACIONADOS À DETERMINAÇÃO DAS ESPÉCIES...</b>	<b>20</b>
<b>5. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....</b>	<b>24</b>
<b>6. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>6.1. MATERIAL BOTÂNICO.....</b>	<b>28</b>
<b>6.2. METODOLOGIAS.....</b>	<b>30</b>
<b>6.2.1. PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS DE PÓLEN.....</b>	<b>30</b>
<b>6.2.2. MONTAGEM DOS GRÃOS DE PÓLEN.....</b>	<b>31</b>
<b>6.2.3. OBTENÇÕES DAS MEDIDAS.....</b>	<b>32</b>
<b>6.2.4. DESCRIÇÃO POLÍNICA.....</b>	<b>35</b>
<b>6.2.5. OBTENÇÃO DAS FOTOMICROGRAFIAS E ELETROMICROGRAFIAS.....</b>	<b>38</b>
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
<b>7.1. CARACTERES GERAIS DOS GRÃOS DE PÓLEN.....</b>	<b>40</b>
<b>8. CARACTERES ESPECÍFICOS DOS SUBTIPOS ESTABELECIDOS.....</b>	<b>42</b>
<b>9. CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DOS SUBTIPOS POLÍNICOS.....</b>	<b>43</b>

<b>10. DESCRIÇÃO DOS SUBTIPOS POLÍNICOS.....</b>	<b>44</b>
<b>10.1. SUBTIPO POLÍNICO <i>officinalis</i>.....</b>	<b>44</b>
<b>10.2. SUBTIPO POLÍNICO <i>bijuga</i>.....</b>	<b>49</b>
<b>10.3. SUBTIPO POLÍNICO <i>guyanensis</i>.....</b>	<b>54</b>
<b>10.4. SUBTIPO POLÍNICO <i>paupera</i>.....</b>	<b>59</b>
<b>10.5. SUBTIPO POLÍNICO <i>multijuga</i>.....</b>	<b>83</b>
<b>11. DISCUSSÃO.....</b>	<b>98</b>
<b>12. CONSIDERAÇÕES EVOLUTIVAS SOBRE O PÓLEN DE <i>Copaifera</i>.....</b>	<b>113</b>
<b>13. CONCLUSÕES.....</b>	<b>121</b>
<b>14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>124</b>
<b>GLOSSÁRIO.....</b>	<b>138</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Mapa da Amazônia brasileira demonstrando a possível distribuição geográfica das espécies investigadas.....27
- Figura 2 Esquema do grão de pólen de *Copaifera*. a) VP; b) VE; c) Idem, mostrando os eixos polar (P) e equatorial (E).....33
- Figura 3 Representação das medidas dos grãos de pólen em MEV. a) Medidas dos colpos; b) Medida do apocolpo.....34
- Figura 4 Esquema dos diferentes tipos de abertura encontrados nos grãos de pólen de *Copaifera*.....39
- Figura 5 Contorno da base dos colpos no pólen de *Copaifera* em MEV. a) Destaque do contorno dilatado; b) Detalhe da dilatação; c) Aspecto do contorno regular.....41
- Figura 6 Pólen de *C. officinalis*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina; e) VE, corte ótico; f) Idem, ornamentação da exina e aspecto da endoabertura.....47
- Figura 7 Pólen de *C. officinalis*. MEV: a) Vista geral dos grãos de pólen em VP e VE; b) VP, pólen longicolpado; c) Idem, pólen parassincolpado; d) Destaque da ornamentação da exina, dos longicolpos e apocolpos.....48
- Figura 8 Pólen de *C. bijuga*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina; e) VE, corte ótico; f) Idem, ornamentação da exina. ....52
- Figura 9 Pólen de *C. bijuga*. MEV: a) VP, pólen longicolpado em âmbito subtriangular; b) Idem, âmbito triangular; c) VP, pólen parassincolpado em âmbito triangular; d) VE, destaque da ornamentação da exina punctada e a ponte de sexina.....53
- Figura 10 Pólen de *C. guyanensis*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico; d) Idem,

- ornamentação da exina, destaque da endoabertura.....57
- Figura 11 Pólen de *C. guyanensis*. MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, aspectos dos longicolpos; c) VE, destaque da ponte de exina na região da abertura; d) VP, ornamentação da exina punctada.....58
- Figura 12 Pólen de *C. cearensis* var. *arenicola*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen sincolpado, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina; e) VP, corte ótico; f) Idem, ornamentação da exina.....61
- Figura 12 Continuação: Pólen de *C. cearensis* var. *arenicola*. ML: g) VE, corte ótico; h) Idem, ornamentação da exina e endoabertura.....62
- Figura 13 Pólen de *C. cearensis* var. *arenicola*. MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, aspecto dos longicolpos e ornamentação da exina; c) VE, detalhe das aletas; d) Detalhes do colpo, da ponte de exina e da superfície punctada.....63
- Figura 14 Pólen de *C. langsdorfii*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina; e) VE, corte ótico; f) Idem, ornamentação da exina e endoabertura.....65
- Figura 15 Pólen de *C. langsdorfii*. MEV: a) Vista geral dos grãos de pólen em VP e VE; b) VP, pólen longicolpado; c) Idem, pólen parassincolpado; d) VE, destaque da ornamentação da exina punctada.....66
- Figura 16 Pólen de *C. paupera*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina; e) VE, corte ótico, detalhe das aletas (setas); f) Idem, ornamentação da exina e endoabertura (Endo).....68
- Figura 17 Pólen de *C. paupera*. MEV: a) VP, aspecto dos longicolpos; b) VE, mostrando a disposição do colpo; c) VE, destaque da ornamentação da exina.....69
- Figura 18 Pólen de *C. piresii*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico; d) Idem, ornamentação da

	exina.....	71
Figura 19	Pólen de <i>C. piresii</i> . MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, pólen sincolpado; c) VE, aspecto do colpo; d) Idem, destaque do colpo e da ornamentação da exina.....	72
Figura 20	Pólen de <i>C. pubiflora</i> . ML: a) VP, pólen longicolpado corte ótico, b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado; corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina; e) VE, corte ótico; f) Idem, ornamentação da exina e endoabertura.....	74
Figura 21	Pólen de <i>C. pubiflora</i> . MEV: a) VP, âmbito triangular; b) Idem, em âmbito subtriangular; c) VE, destaque da ornamentação da exina punctada; d) VP, detalhe dos longicolpos, apocolpo (Ap) e também, ornamentação da exina.....	75
Figura 22	Pólen de <i>C. reticulata</i> . ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina.....	77
Figura 23	Pólen de <i>C. reticulata</i> . MEV: a) Vista geral dos grãos de pólen em VP e VE; b) VP, mostrando a disposição dos longicolpos; c) VE, detalhe do colpo; d) Idem, destaque da ornamentação da exina, dos colpos e apocolpo.....	78
Figura 24	Pólen de <i>C. reticulata var. grandifolia</i> . ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina e endoabertura; e) VP, detalhe da ornamentação da exina punctada.....	80
Figura 25	Pólen de <i>C. reticulata var. grandifolia</i> . MEV: a) Vista geral dos grãos de pólen em VP e VE; b) VP, mostrando a disposição dos longicolpos; c) VE, detalhe do colpo; d) VP, destaque da ornamentação da exina, dos colpos e apocolpo.....	81
Figura 26	Pólen de <i>C. martii</i> . ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina e endoabertura.....	85
Figura 27	Pólen de <i>C. martii</i> . MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, pólen	

- sincolpado; c) VE, aspecto do colpo; d) Destaque da ornamentação da exina microrreticulada.....86
- Figura 28 Pólen de *C. multijuga*. ML: a) VP, corte ótico, pólen longicolpado; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico, d) Idem, ornamentação da exina e colpos.....88
- Figura 29 Pólen de *C. multijuga*. MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, pólen sincolpado; c) VE, mostrando as aletas na região do mesocolpo; d) VE, destaque da ornamentação da exina, e do colpo.....89
- Figura 30 Pólen de *C. oblongifolia*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VE, corte ótico; d) Idem, ornamentação da exina.....91
- Figura 31 Pólen de *C. oblongifolia*. MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, pólen sincolpado; c) VE, detalhe do colpo; d) VE, destaque da ornamentação da exina, dos colpos e apocolpo.....92
- Figura 32 Pólen de *C. rigida*. ML: a) VP, pólen longicolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; c) VP, pólen parassincolpado, corte ótico; b) Idem, ornamentação da exina; e) VE, corte ótico; f) Idem, ornamentação da exina e endoabertura.....94
- Figura 33 Pólen de *C. rigida*. MEV: a) VP, pólen longicolpado; b) Idem, pólen sincolpado; c) VE, aspecto do colpo; d) VE, destaque da exina microrreticulada, e do colpo.....95
- Figura 34 - Estrutura da abertura do pólen de *Sindora* e *Copaifera*. a) *Sindora marítima*, V. P., em ML, mostrando as pontes de exina columelar cruzando o centro da abertura; b) Idem, em *Sindora coriacea*, MEV; c) *Sindora coriacea*, detalhe da ponte de exina; d) *Sindora marítima*, V.E., ponte de exina cruzando o centro da abertura; e) *Copaifera multijuga*, V. E., destacando a projeção da ponte de exina; f) Idem, em *Sindora klaineana*. Escalas = 10µm, A-C, E e F; 20µm , D. (Banks, 2003).....101
- Figura 35 - "Zwischenkörper (Z) em MET. a) *Hymenaea velutina*, seção transversal em torno da região da endoabertura, destacando a cavidade que separa a ectoexina (Ec) da endoexina (En); b) *Baikiaea plurijuga*, seção

- transversal da parede do pólen, mostrando a separação entre Ec e En;  
 c) *Copaifera baumiana*, seção em torno da endoabertura de grãos de pólen não acetolisados, indicando (Z) logo abaixo da endoabertura, e, acima de uma espessa camada de (En); d) *Baikiaea plurijuga*, idem figura a. Escalas = 2µm (Banks, 2003).....102
- Figura 36 – Estratificação da exina geralmente observada no pólen das Angiospermas (Walker & Doyle, 1975).....114
- Figura 37 – Tipos de estratificação da exina. a) Ectoexina, representada apenas pela sexina, e a nexina, é constituída somente nexina; b) Ectoexina é formada por sexina e nexina 1, que corresponde a ectonexina (Walker & Doyle, 1975; Modificado).....114
- Figura 38 - Tendências evolucionárias da estrutura da exina nas Angiospermas. As setas espessadas, indicando as fases 1 e 2, categorizam os estágios mais basais; O estágio 3, é considerado menos freqüente, porém com elevado grau de complexidade morfológica. As setas 4 e 5 identificam prováveis reversões evolutivas nas fases basais (Walker & Doyle, 1975).....116
- Figura 39 - Esquema ilustrativo das derivações morfológicas das aberturas dos grãos de pólen nas Angiospermas, a partir dos tipos tricolpado e tricolpado derivado, em destaque. Thanikaimoni (1986).....118



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Algumas das principais denominações populares associados ao gênero <i>Copaifera</i> na América do Sul. (Fontes: Record & Hess (1924); Dwyer (1951); Ducke (1949); Silva <i>et al.</i> (2004), Martins-da-Silva (2006)).....	19
Tabela 2- Distribuição geográfica das espécies de <i>Copaifera</i> que ocorrem na Amazônia brasileira, segundo exsicatas de herbário e literatura específica.....	26
Tabela 3 - Relação dos espécimes de <i>C. officinalis</i> com as respectivas informações de herbário, palinoteca e medidas em $\mu\text{m}$ dos grãos de pólen.....	45
Tabela 4 - Idem de <i>C. bijuga</i> .....	50
Tabela 5 - Idem de <i>C. guyanensis</i> .....	55
Tabela 6 - Idem de <i>C. cearensis</i> var. <i>arenicola</i> .....	60
Tabela 7 - Idem de <i>C. langsdorfii</i> .....	64
Tabela 8 - Idem de <i>C. paupera</i> .....	67
Tabela 9 - Idem de <i>C. piresii</i> .....	70
Tabela 10 -Idem de <i>C. pubiflora</i> .....	73
Tabela 11 -Idem de <i>C. reticulata</i> .....	76
Tabela 12 -Idem de <i>C. reticulata</i> var. <i>grandifolia</i> .....	79
Tabela 13 -Idem de <i>C. martii</i> .....	84
Tabela 14- Idem de <i>C. multijuga</i> .....	87
Tabela 15- Idem de <i>C. oblongifolia</i> .....	90
Tabela 16- Idem de <i>C. rigida</i> .....	93

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Diagrama comparativo dos grãos de pólen dos espécimes examinados de <i>C. officinalis</i> .....	45
Gráfico 2 - Idem, de <i>C. bijuga</i> .....	50
Gráfico 3 - Idem, de <i>C. guyanensis</i> .....	55
Gráfico 4 - Idem, de <i>C. cearensis</i> var. <i>arenicola</i> .....	60
Gráfico 5 - Idem, de <i>C. langsdorfii</i> .....	64
Gráfico 6 - Idem, de <i>C. paupera</i> .....	67
Gráfico 7 - Idem, de <i>C. piresi</i> .....	70
Gráfico 8 - Idem, de <i>C. pubiflora</i> .....	73
Gráfico 9 - Idem, de <i>C. reticulata</i> .....	76
Gráfico 10 - Idem, <i>C. martii</i> .....	84
Gráfico 11 - Idem, de <i>C. multijuga</i> .....	87
Gráfico 12 - Idem, de <i>C. oblongifolia</i> .....	90
Gráfico 13 - Idem, de <i>C. rigida</i> .....	93
Gráfico 14 - Variação do comprimento dos longicolpos entre as espécies de <i>Copaifera</i> estudadas.....	97

## RESUMO

Grãos de pólen de sete espécies do gênero *Copaifera* L. que ocorrem na Amazônia brasileira, *C. guyanensis*, *C. martii*, *C. multijuga*, *C. paupera*, *C. piresii*, *C. pubiflora* e *C. reticulata*, foram estudados quanto aos mais diversos aspectos morfológicos, como tamanho, forma, número, posição e caráter das aberturas, e, ornamentação da exina. Pelo fato de estarem taxonomicamente correlacionadas, outras sete espécies com distribuição extra Amazônia brasileira também tiveram seus grãos de pólen analisados, como *C. officinalis*, *C. bijuga*, *C. cearensis* var. *arenicola*, *C. langsdorfii*, *C. oblongifolia*, *C. reticulata* var. *grandifolia* e *C. rigida*. As observações feitas tanto em microscopia de luz, quanto em eletrônica de varredura, revelaram que os grãos de pólen de *Copaifera* são muito semelhantes entre si, tratando-se, portanto, de um gênero estenopolínico. Como características gerais, as espécies do gênero apresentam grãos de pólen médios, isopolares, de simetria radial, 3-colporados, variam tanto na superfície, de punctada a microrreticulada, quanto na forma, de suboblata a prolata esferoidal. Os colpos em vista polar podem projetar-se de três formas: longicolpados, parassincolpados e sincolpados. Os mesocolpos podem ser côncavos ou retilíneos, e na maioria das vezes, em vista equatorial, expandem-se formando estruturas semelhantes a alas, denominadas aqui “aletas”. A endoabertura é circular, contudo na maioria das espécies apresenta-se encoberta pela sexina. Quanto à ornamentação da exina, as pontuações na superfície podem ser esparsas ou aglomeradas, e o microrretículo apresenta muros estreitos. A exina é fina e transparente, sendo que sexina e nexina apresentam praticamente a mesma espessura. O teto varia de liso a simples-baculado.

Devido ao alto grau de homogeneidade morfológica, as espécies foram divididas em 5 Subtipos Polínicos, nos quais tomou-se como base a ornamentação da exina, descrita em microscopia eletrônica de varredura. Os Subtipos Polínicos são representados pelas espécies *C. officinalis*, *C. bijuga*, *C. guyanensis*, *C. paupera* e *C. multijuga*, e, a fim de separá-los, uma chave polínica foi elaborada. Com base nos caracteres morfológicos dos grãos de pólen, foi feita uma correlação evolutiva entre os Subtipos analisados, sendo o Subtipo *officinalis* considerado o menos derivado, e o Subtipo *multijuga*, o mais derivado evolutivamente.

## ABSTRACT

Pollen grains of seven species of *Copaifera* L. with occurrence in the Brazilian Amazon, *C. guyanensis*, *C. martii*, *C. multijuga*, *C. paupera*, *C. piresii*, *C. pubiflora* e *C. reticulata*, were studied in regard to size, shape, number, position and character of apertures, and exine ornamentation. Because the taxonomic relationship, more seven species, presents outside of the Brazilian Amazon, were investigated too, *C. officinalis*, *C. bijuga*, *C. cearensis* var. *arenicola*, *C. langsdorfii*, *C. oblongifolia*, *C. reticulata* var. *grandifolia* e *C. rigida*. Using light and scanning electron microscopy, was noted that the *Copaifera* it's a stenopalynous genera. The pollen grains are medium, isopolars, radial simetry and 3 colporated. Their shape, varies from sub-oblata to prolate spheroidal, and the exine from punctate to microreticulate. The colpori, in the polar view, have demonstred three kinds of forms, longycolpate, parasyncolpate and syncolpate. In the equatorial view, the mesocolpial showing protuding like a wings, called "aletas". The endoaperture is circular, however in several times it's covered by sexine. The exine surface puncted can be perforated, more or less closely, and the microreticulum presented narrow muri. The exine appears transparent, provide sexine and nexine with same thickness, and have a continuous tectum, or simplibaculate tectum. Using the characteristics of exine ornamentation in scanning electron microscopy, was possible to compose five Pollinics Subtype according to morphological similar betewen pollen grains, which are represented by the species, *C. officinalis*, *C. bijuga*, *C. guyanensis*, *C. paupera* e *C. multijuga*. Pollen keys were elaborated to separate the Subtypes. Finnely, the aim point in this work is an evolutionary correlation for the different Subtypes, concluding that the Subtype *officinalis* may be less derivaded and the Subtype *multijugate* more derivaded.

## APRESENTAÇÃO

O presente trabalho é requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Botânica, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA, em convênio com a Universidade Federal do Amazonas – UFAM.

Esta pesquisa apresenta os resultados obtidos a partir de observações em herbários, e análises laboratoriais, do projeto de tese “**O pólen de *Copaifera L. (Leg. Caes.) e suas implicações filogenéticas*”.**

O texto deste trabalho foi preparado seguindo o padrão clássico para apresentação de monografias, dissertações e teses. As referências bibliográficas estão de acordo com as normas da revista científica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, a Acta Amazônica.

Para digitação, Arial 12pts foi a fonte utilizada no texto. Não apenas nas legendas, figuras e tabelas, como também, no corpo das tabelas, as fontes variaram de 9 até 12pts, conforme a disponibilidade de espaço.

Os nomes científicos e os termos de origem latina foram escritos em “*itálico*” e as palavras relevantes foram colocadas em “**negrito**”. As palavras que aparecem sublinhadas estão incluídas no glossário.

## 1. INTRODUÇÃO

*Copaifera* L. pertencente à família Leguminosae Juss., subfamília Caesalpinioideae Kunth., foi descrito por Linneu em 1762 e segundo Dwyer (1951) é representado por aproximadamente 28 espécies, sendo 16 endêmicas do Brasil.

Ocorre freqüentemente nas matas de terra firme, principalmente da região amazônica, em terrenos argilosos, às vezes arenosos. Algumas espécies também podem ser encontradas nas margens de lagos e igarapés, e no cerrado do Brasil central (Ducke, 1925; Corrêa, 1931).

Conhecida popularmente como “copaíba”, “copaíba angelim”, “copaíba branca”, “copaíba branca”, “copaíba”, “pau-de-óleo”, dentre outras denominações. Geralmente é árvore de grande porte, encontrada em todos os trópicos e com maior incidência no Brasil. A maioria das espécies deste gênero é considerada de expressiva importância na indústria econômica. Por meio de incisões nos troncos das árvores de copaíba extrai-se um tipo de óleo-resina, que por apresentar propriedades cicatrizantes e anti-inflamatórias, é muito utilizado na medicina popular (Ducke, 1925; Corrêa, 1931; Shanley *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 1977, 2004).

Taxonomicamente, a maior parte das espécies desse gênero necessita ser alvo de estudos aprofundados, já que apenas por meio de sua morfologia externa nem todas são separáveis distintamente. Ducke (1949) citou que para América e África Tropical, estão descritas cerca de 40 espécies, e quanto à classificação das brasileiras, estas encontram-se ainda bastante incompletas. Ducke (1958) ressaltou que a revisão feita por Dwyer (1951), considerada a mais recente publicação que trata do gênero como um todo, não incluiu as coleções dos herbários existentes na América do Sul, algumas das quais, ricas em representantes deste gênero. Lewis (1987) comentou a ocorrência de certas espécies no Estado da Bahia, ressaltando também a necessidade de um estudo mais preciso. Dos trabalhos mais atuais, Martins-da-Silva (2006) faz um tratamento taxonômico completo sobre as espécies de *Copaifera* para a Amazônia brasileira. A referida autora comenta que desde a descrição da primeira espécie por Jacquin (1760) até a mais recente publicada por Poveda *et al.* (1989), passaram-se 229 anos, e nesse período, foram descritas cerca de 100 espécies. Dentre essas espécies, várias foram sinonimizadas, e outras transferidas para gêneros diferentes, resultando em aproximadamente 40 *taxa*, sendo 35 americanos e cinco africanos. Desse total, oito estão distribuídos na Amazônia brasileira, *C. glycyarpa* Ducke, *C. guyanensis* Desf.,

*C. martii* Hayne, *C. multijuga* Hayne, *C. paupera* (Herzog) Dwyer, *C. piresii* Ducke, *C. pubiflora* Benth. e *C. reticulata* Ducke (Martins-da-Silva, 2006).

É indiscutível a importância econômica de *Copaifera* tanto a nível comercial quanto industrial. Entretanto, percebe-se que a taxonomia do gênero representa um grande desafio, uma vez que a posição taxonômica da maior parte das espécies acha-se duvidosa, ora reduzida a sinônimos, ora formando grupos afins.

Por sua ampla utilização, vários trabalhos foram realizados sobre o gênero *Copaifera*, abordando suas diversas aplicações. Apesar dos mais de 200 artigos publicados em diversas línguas, muitos dados sobre a composição química, atividade farmacológica do óleo e identificação botânica são contraditórios (Veiga Jr. & Pinto, 2002).

Diante da complexidade em determinar as espécies de tão importante gênero, não apenas no contexto econômico, mas também cultural, e, como até o momento, não há estudos completos sobre o pólen de *Copaifera*, esse trabalho foi idealizado, e tem como objetivo analisar a morfologia dos grãos de pólen das espécies deste gênero na Amazônia brasileira, a fim de contribuir de forma efetiva para a sua sistemática. Dessa forma, com base nas descrições minuciosas dos grãos de pólen, faz-se a caracterização da ornamentação da exina em microscopia eletrônica de varredura, exames de corte ótico e de superfície na microscopia de luz; demonstram-se as medidas dos grãos de pólen por meio de diagramas comparativos, e elaboram-se uma chave de Subtipos Polínicos para o reconhecimento das espécies. Também, a partir dos dados morfológicos infere-se a respeito da evolução dos caracteres polínicos entre os Subtipos estabelecidos e suas respectivas espécies.

## **2. CONSIDERAÇÕES GERAIS DA FAMÍLIA**

### **2.1. TAXONÔMICAS**

A família Leguminosae está representada por cerca de 650 gêneros e aproximadamente 18.000 espécies (Polhill *et al.*, 1981). É uma das maiores famílias entre as dicotiledôneas, e encontra-se amplamente distribuída em todo o mundo, ocupando todos os habitats, além de ser dotada de expressiva importância econômica. As sementes, os legumes verdes, as folhas, as raízes e as flores de muitas leguminosas fornecem alimento rico em proteínas para o homem e animais. Algumas das mais finas madeiras são oriundas de espécies de leguminosas, conhecidas pelos trabalhos de marcenaria e carpintaria. Os arcos para os violinos de melhor qualidade ainda são feitos de *Caesalpinia echinata*, o “pau brasil”. Alguns dos melhores copais ou resinas viscosas, largamente usadas na produção de vernizes, tintas e lacas são produzidos de árvores de leguminosas, especialmente dos gêneros *Hymenaea* e *Copaifera*. As leguminosas são também usadas como medicinais, inseticidas, condimentos, aromatizantes e vários outros empregos culinários. (Lewis & Owen, 1989).

No Brasil, Ducke (1949) foi pioneiro nos estudos sobre as Leguminosas da Amazônia brasileira. Esse autor publicou o mais completo tratado referente às subfamílias Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae, as quais, acham-se representadas por 141 gêneros e 867 espécies. A partir do trabalho de Ducke, muitas informações foram acrescentadas à família. Silva *et al.* (1989) com a “Lista Prévia das leguminosas da Amazônia brasileira”, fizeram um levantamento das espécies com base nas exsicatas dos herbários INPA, IAN e MG. Como resultados desta lista preliminar os autores encontraram 146 gêneros e 1241 espécies.

Para Polhill *et al.* (1981) e Judd *et al.* (1999) a subfamília Caesalpinioideae compreende 150 gêneros e 2700 espécies, com distribuição cosmopolita, e dentre as subfamílias, é a menos estudada (Herendeen, 2000). Burkart (1987) considerou as Caesalpinioideae como a mais primitiva das subfamílias, da qual derivam as Papilionoideae e Mimosoideae, e, de acordo com Lewis & Polhill (1998), está dividida em cinco tribos: Caesalpinieae, Cassieae, Cercideae, Detarieae e Macrolobieae.

Banks & Klitgaard (2000) declararam que Detarieae e Amherstieae provavelmente não constituem um clado monofilético, mas inúmeros trabalhos estão



sendo desenvolvidos na tentativa de achar informações satisfatórias que possam contribuir para a sistemática dessas duas tribos.

Bruneau *et al.* (2001) ressaltaram que Detarieae e Macrolobieae compreendem mais de 84 gêneros, ou seja, representam mais da metade dos gêneros na subfamília Caesalpinioideae, e, das cinco tribos acima citadas, são as menos investigadas, e as que possuem a maior diversidade floral, com grande parte dos gêneros ocorrendo na África, e, também, com representantes na América tropical e Ásia.

Do ponto de vista taxonômico, as Caesalpinioideae permanecem problemática devido à dificuldade de estabelecer caracteres que sejam de fácil reconhecimento para diferenciar os *taxa* (Bruneau *et al.*, 2001). Por isso, ao longo dos anos essa subfamília tem sido alvo de vários estudos relacionados à morfologia, anatomia e palinologia, bem como, de análises filogenéticas. Estudos moleculares recentes, baseados nos genes de cloroplasto *rbcL* e *trnL* reconhecem o parafiletismo de Caesalpinioideae, e o monofiletismo de Papilionoideae e Mimosoideae (Doyle *et al.*, 1997, 2000, baseado em dados de *rbcL*; Bruneau *et al.*, 2000, 2001, baseado em dados de *trnL*).

Sobre Detarieae e Macrolobieae, então consideradas Cynometreae e Amherstieae, respectivamente, Bentham (1840) dividiu Caesalpinioideae em tribos e incluiu os gêneros *Apuleia*, ***Copaifera***, *Detarium*, *Dialium* (*Codarium*), *Crudia*, *Cynometra* e *Hardwichia* na tribo Cynometreae Benth.. Baker (1930) *apud* Martins-da-Silva (2006) uniu as tribos Cynometreae e Amherstieae. Bruneau *et al.* (2001) comentaram que essas tribos foram unidas devido às dificuldades em encontrar caracteres específicos para diferenciá-las.

Léonard (1957) ao tratar taxonomicamente as tribos Cynometreae e Amherstieae, utilizou uma combinação de dados anatômicos, morfológicos, palinológicos e germinativos, e propôs novas delimitações genéricas, sugerindo o restabelecimento de Cynometreae e Amherstieae com base principalmente na pré-floração das bractéolas. Assim, os gêneros com bractéolas valvares estão inseridos em Amherstieae, e os sem bractéolas valvares em Cynometreae. Como resultado dessa revisão foram classificados em Cynometreae os seguintes gêneros: *Afzelia*, *Augouardia*, *Baikiaea*, *Colophospermum*, ***Copaifera***, *Crudia*, *Cynometra*, *Daniellia*, *Detarium*, *Eurypetalum*, *Gilletiodendron*, *Gossweilerodendron*, *Guibourtia* (*Gorskia*), *Hylodendron*, *Hymenostegia* (*Dipetalanthus*), *Lebruniendendron*, *Loesenera*, *Neochevalieirodendron*, *Oxystigma* (*Pterygopodium*), *Plagiosiphon* (*Tripetalanthus*),

*Schotia*, *Scorodophloeus*, *Sindora* (*Echinocalyx*), *Sindoropsis*, *Stemonocoleus*, *Tessmannia*, *Trachylobium* (atualmente *Hymenaea*), *Talbotiella* e *Zenkerella*.

Cowan & Polhill (1981a, 1981b) seguiram o sistema de Léonard (1957) e subdividiram a tribo Amherstieae em quatro grupos genéricos (*Amherstia*, *Berlinia*, *Brachystegia* e *Macrobium*), e a tribo Detarieae em seis (*Brownea*, *Crudia*, *Cynometra*, *Detarium*, *Hymenaea* e *Hymenostegia*). *Copaifera* está inserido no grupo *Detarium*, o qual está também representado pelos gêneros *Goniorrhachis*, *Gilletiodendron*, *Tessmannia*, *Baikiaea*, *Hylodendron*, *Sindora*, *Sindoropsis*, *Pseudosindora* e *Detarium*. Esse sistema foi modificado recentemente por Polhill (1994) que reconheceu Amherstieae e Detarieae como o grupo Detarieae s. l.

Bruneau *et al.* (2000) a partir de análises de *trnL*, inferiram que Macrolobieae e Detarieae formam um clado basal bem suportado das Caesalpinioideae, contudo, ressaltaram que nenhuma das duas tribos sustenta-se individualmente como monofiléticas. Cowan & Polhill (1981a) argumentam que há estreitas relações entre os membros dessas tribos.

Para Bruneau *et al.* (2000) todos os gêneros incluídos em Detarieae, Cynometreae, Amherstieae ou Macrolobieae, por Léonard (1957), Cowan & Polhill (1981a, 1981b), Polhill (1994) ou Breteler (1995), ocorrem dentro de Detarieae s. l., exceto para o gênero monotípico *Umtiza*, da África do Sul. Sobre o grupo *Detarium*, este é indicado filogeneticamente como o mais bem sustentado dentre os grupos genéricos de Polhill (1994), sendo o gênero monotípico brasileiro *Goniorrhachis*, grupo irmão de Detarieae s. l.. Essas análises filogenéticas propõem ainda afinidades entre *Sindora* e *Sindoropsis*, e entre *Detarium* e *Copaifera*, sendo *Detarium* considerado grupo irmão de *Copaifera*, por apresentar três sinapomorfias, ápice dos folíolos obtusos, ápice dos folíolos emarginados e pedicelos florais ausentes. Contudo, é necessário analisar outras amostras de *Copaifera*, uma vez que as verificadas, são limitadas ao continente africano, as quais diferem das espécies americanas, principalmente quanto ao ápice dos folíolos obtusos e emarginados.

## 2. PALINOLÓGICAS

Com relação aos estudos sobre a morfologia polínica da família, Fasbender (1959) referiu-se aos gêneros americanos de Caesalpinioideae, analisando os seus grãos de pólen e a significância taxonômica dos gêneros pertencentes às tribos Amherstieae, Cynometreae e Sclerobieae. Neste trabalho, a autora descreveu o pólen de 22 gêneros e 52 espécies da tribo Cynometreae, incluindo os gêneros *Detarium*, *Copaifera*, *Sindora* e *Tessmannia*. Erdtman (1952) descreveu sucintamente os grãos de pólen de algumas espécies. Em 1969, o mesmo autor considerou a família como estenopolínica, e ressaltou a contribuição dos estudos palinotaxonômicos.

Um dos mais completos estudos polínicos é o de Polhill & Raven (1981), no qual Guinet, Graham & Barker e Ferguson & Skvarla teceram comentários gerais a respeito das afinidades polínicas e taxonômicas de diversos gêneros da subfamília Caesalpinioideae. Graham & Barker (1981) concentraram seus estudos na ornamentação da exina com base nas observações da microscopia eletrônica de varredura. Ferguson (1987) usando como ferramenta principal a microscopia eletrônica de transmissão, descreveu em detalhes a estratificação da exina.

Banks & Klitgaard (2000) e Banks (2003) divulgaram que o pólen do grupo *Detarium* tem sido investigado por muitos autores, os quais têm dado relativa importância à estrutura da parede. Também, Banks (*l.c.*) comentou que das três subfamílias das leguminosas, Caesalpinioideae é a que apresenta o pólen mais diversificado, quando comparado a Papilionoideae e Mimosoideae, e o grupo Detarieae *s.l.* tem a maior diversidade morfológica floral e dos grãos de pólen dentro da família (Graham & Barker, 1981; Muller, 1981; Ferguson, 1987).

A respeito das pesquisas palinológicas realizadas no Brasil, destacam-se as de Melhem & Salgado-Labouriau (1963), Barros (1963) e Salgado-Labouriau (1973). Barth & Bouzada (1964) discutiram que o pólen típico de Caesalpinioideae é o tricolporado, de exina tectada ou reticulada, sendo a forma dos grãos geralmente mais ou menos prolata, e que esse tipo de morfologia é semelhante, de modo geral, aos de Papilionoideae.

Para a Amazônia, Carreira e colaboradores desde 1973 vêm se dedicando ao estudo da Palinologia, em especial de grupos taxonômicos da Amazônia brasileira. Dos principais trabalhos realizados por Carreira, pode-se considerar como referência para a palinotaxonomia de Leguminosae: *Cedrelinga* Ducke, Silva *et. al.* (1992);

*Jacqueshuberia* Ducke e *Heterostemon* Desf., Silva & Carreira (1994a,b); *Monopteryx* Spruce ex Benth., Carreira & Gurgel (1995); *Diptychandra* Tul., Barata & Carreira (1996); *Hymenaea* L., Carreira & Barata (1996); *Chaetocalyx* DC, *Dussia* Krug. & Urb. ex Taub. e *Vataireopsis* Ducke, Carreira *et. al.* (1996b); *Andira* Lam., Carreira *et. al.* (2002); *Martiodendron* Ducke, Silva *et. al.* (2006).

### **3. CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO**

#### **3.1. ASPECTOS TAXONÔMICOS**

No início da colonização, muitos botânicos e cronistas que estiveram nas Índias Ocidentais e na América descreveram espécies do gênero *Copaifera* (Veiga Jr. & Pinto, 2002). Informações fornecidas por Dwyer (1951) demonstraram que o óleo medicamentoso produzido pelas espécies desse gênero tenha sido inicialmente registrado com o nome de “Copei”, por Petrus Martys em um documento enviado ao Papa Leão X, publicado em 1534.

Em 1625, o nome popular “cupayba” foi referido por um monge português que estava no Brasil e escrevia sobre o país e suas riquezas naturais (Dwyer, 1951). Também, o referido autor citou que em 1648 Marcgrav & Piso descreveram aspectos morfológicos da planta e empregaram o nome “copaíba” sem designar a espécie. Mais tarde, Dwyer (1951) verificou que a espécie estudada por esses dois autores tratava-se de *Copaifera martii*.

Jacquin (1760) dois anos antes da publicação do “Species Plantarum” de Linneu, descreveu a primeira espécie do gênero *Copaifera* designando-a *Copaiva officinalis* Jacq.. Linneu (1762) descreveu esse gênero, porém modificou sua grafia para *Copaifera* e designou como espécie tipo *Copaifera officinalis*.

Hayne (1825) produziu a monografia das espécies de *Copaifera* da América e Oeste da Índia, descrevendo e ilustrando 11 espécies novas e duas variedades. Embora apresente muitos aspectos duvidosos em suas considerações, o trabalho de Hayne (*l.c.*) é considerado um dos mais completos já apresentados para o gênero e serviu de base para os estudos de Bentham (1870) na Flora Brasiliensis. Hayne foi o primeiro pesquisador a elaborar um estudo detalhado das espécies existentes nas Antilhas e América do Sul. Martins-da-Silva (2006) informa que mais recentemente, Harms e Ducke descreveram várias espécies novas, sendo que este último autor valorizou especialmente as espécies da região amazônica e do estado do Ceará (Harms 1899, 1903, 1910 e 1928; Ducke 1915, 1922, 1925, 1930, 1932, 1949, 1959, 1979.).

O gênero *Guibourtia* foi estabelecido por Bennett (1857), baseado na espécie africana *Guibourtia copallifera* Benn. Em 1862, o gênero *Gorskia*, presente na África, foi descrito por Boelle (*apud* Léonard, 1949). Bentham (1865) ampliou o conceito de *Copaifera* e recomendou como sinônimos desse gênero, *Guibourtia* e *Gorskia*. Léonard

(1949), estudando a tribo Amherstieae da América e da África, reconheceu *Guibourtia* como gênero independente, com quatro espécies e uma variedade americana e 11 espécies e uma variedade africana.

Dwyer (1951) realizou um levantamento das espécies centro e sul americanas e, de acordo com essa revisão, o gênero encontra-se representado por 28 espécies, das quais cerca de 16 são endêmicas do Brasil. Devido à dificuldade em preparar uma chave para separar as espécies, Dwyer (*l.c.*) discutiu a necessidade de utilizar outros tipos de caracteres morfológicos nas descrições, com a finalidade de complementar os dados já obtidos. Ele postulou que a presença ou ausência de pubescência nas sépalas, comprimento das anteras, pistilos glabros ou com indumento, textura e tamanho das valvas dos legumes e cor do arilo das sementes, são alguns dos mais importantes caracteres diagnósticos.

O trabalho de Dwyer (1951) é a mais recente publicação que trata do gênero *Copaifera* de forma mais ampla, porém, a ausência de ilustrações evidenciando as características-chave dificulta bastante sua utilização. Outro fator a considerar, é a qualidade do material botânico examinado pelo autor, cuja maioria das amostras tratava-se de coletas muito antigas, que levaram a obtenção de dados incompletos. Ducke (1958), que foi um estudioso das espécies brasileiras, expôs claramente suas críticas a essa revisão ao afirmar que esse estudo é apenas uma descrição dos espécimes conservados em seis herbários dos Estados Unidos (F, G, A, NY, US, Y), incluindo fragmentos, fototipos e tipos que se encontram na Europa. Portanto, para esse autor, Dwyer não fez referências às condições ecológicas, muito importantes para a sistemática do gênero, cujas espécies são desprovidas de caracteres diferenciais.

Outro agravante aos problemas taxonômicos do gênero refere-se ao uso da nomenclatura popular na Amazônia brasileira para a comercialização do óleo e da madeira, uma vez que não há uma padronização que associe o nome popular ao científico. Essas denominações populares podem variar de uma região para outra e também dentro da mesma região.

Como se já não bastassem todos os questionamentos discutidos anteriormente, hoje em dia depara-se também com significativa quantidade de material botânico incorretamente identificado nos acervos dos principais herbários do Brasil. Os caracteres morfológicos externos são extremamente semelhantes, e na maioria das vezes, indistintamente separáveis. Também, a carência de profissionais especializados

tem favorecido o surgimento de graves equívocos taxonômicos, o que inviabiliza projetos de pesquisa.

É válido reforçar que devido à complexidade dos estudos taxonômicos, principalmente em grupos de elevado índice de homogeneidade de caracteres morfológicos, é indispensável à investigação palinológica. Walker & Doyle (1975) comentaram que os caracteres dos grãos de pólen são úteis nas análises filogenéticas, e que, a partir do pólen, pode-se obter um grande número de informações, abrangendo várias espécies, em curto espaço de tempo.

Por tudo que foi exposto, é indiscutível a necessidade de estudos multidisciplinares que possam contribuir para elucidar as dúvidas quanto à identificação correta dos *taxa* infragenéricos de *Copaifera*, sobretudo na Amazônia brasileira.

### 3.2. DESCRIÇÃO BOTÂNICA

Dwyer, J. D. *Brittonia* 7 (3): 143-172. 1951

Árvore. Ramos terminais lisos escassamente pubescentes, nas extremidades subangulosos; pecíolos glabros rígidos, retos, 12-13cm de comprimento; peciólulos espessos, decíduos, glabros, ca. de 3mm de comprimento, as folhas até 15cm de comprimento; folíolos 3 pares, coriáceos, rígidos, ligeiramente inequiláteros, ovado-oblongos, 3-6cm de comprimento, 2,5cm de largura, obtusos e retusos (freqüentemente sulcados ao longo da nervura principal) no ápice, obtusos ou ligeiramente cordados na base, a nervura principal delgada e promínula na face superior, pubescente em ambas as faces, raramente subglabras, proeminentes, vênulas secundárias paralelas, ca. de 15-20, promínulas ou algumas vezes evanescentes na face superior, proeminente na inferior, formando com a nervura principal um ângulo de 55°, bifurcando-se a  $\frac{1}{4}$  ou  $\frac{3}{4}$  de distância da margem em ramos delgados, os últimos distintos da margem (na face inferior), pluriramificados, as áreas reticuladas compactas; inflorescência axilar, paniculada, a raque espessa, pubescente, ca. de 8-20cm de comprimento por 0,12cm de espessura na base, os ramos fortemente oblíquo-ascendentes, e densamente floridos, os ramos da base de 2-3 (5)cm de comprimento; flores ca. de 10p/ramo, sésseis, as bractéolas côncavas, em secção transversal triangulares, densamente pubescentes na face externa, glabras e preto-brilhantes internamente quando secas, 3,5-4cm de comprimento, ápice subagudo; botões florais ovais de 2,5cm de comprimento; sépalas 4 valvares, desiguais, carnosas, vilosas externamente, hirsutas na face interna, ca. de 4-5 (6)mm de comprimento, 2,3-5cm de largura falcado-retangulares, oblongas ou ovado-oblongas um pouco subagudas no ápice, obtusas na base; pétalas bem desenvolvidas; estames 10(11), até 8mm de comprimento; os filetes livres, glabros, subulados, carnosos até 8mm de comprimento, anteras de 2mm, ovário oblongo, viloso somente na margem, 2mm de comprimento por 1mm de largura, o estilete glabro exceto próximo a base, estigma capitado; 2 óvulos.



### 3.3. ASPECTOS PALINOLÓGICOS

A morfologia polínica do gênero foi analisada por alguns autores, e dentre estes, vale destacar Fasbender (1959) que até o momento, é considerado o mais antigo e o mais completo. Em seu estudo, a referida autora fez a descrição geral para os grãos de pólen de *Copaifera*, e investigou oito espécies: *C. chodatiana*, *C. mildbraedii*, *C. multijuga*, *C. officinalis*, *C. panamensis*, *C. pubiflora*, *C. salibounda* e *C. venezuelana*. Barth & Bouzada (1964) estudaram e ilustraram os grãos de pólen de seis gêneros de Caesalpinioideae, incluindo neste a espécie *Copaifera trapezifolia* Hayne. Apesar das referidas autoras examinarem apenas uma espécie, o caracterizaram com âmbito acentuadamente triangular, de superfície completamente lisa.

Melhem & Salgado-Labouriau (1963) ao investigarem o pólen de 20 espécies de Caesalpinioideae da vegetação do Cerrado, descreveram apenas um espécime de *Copaifera langsdorfii*. Erdtman (1969) ressalta que em certos gêneros, como *Copaifera*, *Schotia* e *Sindora*, os quais apresentam grãos de pólen muito semelhantes, os estudos palinotaxonômicos têm fornecido resultados surpreendentes, quando estes revelam que os caracteres analisados podem não ser tão homogêneos quanto parecem. Salgado-Labouriau (1973) fez um estudo abrangente sobre o pólen das plantas do Cerrado, incluindo neste *Copaifera langsdorfii*, a qual após ser descrita em detalhes, foi incluída no Tipo Polínico *Copaifera langsdorfii*. Enrech *et. al.* (1983) examinou em microscopia de varredura o pólen de 15 espécies, e considerou-os típicos de um grupo de gêneros da tribo Detarieae, como *Hymenaea*, *Daniellia* e *Tessmannia*. Carreira *et. al.* (1996a) ao elaborar um catálogo sobre a morfologia polínica das leguminosas da Amazônia brasileira, descreveu sucintamente o pólen de *Copaifera langsdorfii*. Banks & Klitgaard (2000) classificaram alguns gêneros da tribo Detarieae utilizando a ornamentação da superfície, constando nesta o gênero *Copaifera*. Banks (2003) utilizando as microscopias de luz e eletrônica, descreveu e ilustrou a abertura dos grãos de pólen de 16 gêneros de Detarieae s.s., incluindo *Copaifera*, e discutiu a correlação entre a função das abertura e a filogenia.

Embora o pólen do gênero tenha sido pouco estudado, é unânime os autores o considerarem como estenopolínico, ou seja, apresenta alto grau de homogeneidade. Essas conclusões devem-se principalmente ao fato de que muitos dos referidos autores não utilizaram recursos altamente especializados, levando-os a descrições resumidas que não revelaram as características ultramicroscópicas dos grãos de pólen.

Estudos palinológicos, utilizando microscopias eletrônicas para analisar caracteres como, forma, número e posicionamento das aberturas e ornamentação da exina, são de valor incontestável na classificação e identificação das espécies. Melhem (1978) comentou que a importância taxonômica e evolutiva da morfologia polínica pode ser analisada em níveis específicos, genéricos e superiores a essas categorias e, portanto, de alto valor taxonômico e evolutivo.

### 3.4. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O nome do gênero *Copaifera* deriva de uma combinação de palavras da língua tupi, comumente usada para descrever a resina da árvore de copaíba, “copai” e o termo em latim “fero” que significa carregar ou produzir (Allen & Allen, 1981).

Por ser uma planta economicamente importante não só industrialmente como também do ponto de vista cultural e etnobotânico, existe uma variedade de nomes comuns associados com as espécies de copaíba na América do Sul. Ducke (1949) citou que todas as espécies podem fornecer em maior ou menor abundância o óleo ou bálsamo de copaíba, e são por esse motivo conhecidas pelo nome de “copaíba”, “copaibeira” ou, sobretudo no Nordeste, “pau d’óleo”. Record & Hess (1949) citaram uma lista de 54 nomes populares associados às copaíbas. Silva *et al.* (2004) apontaram 22 nomes vulgares para o gênero, incluindo suas variações ortográficas de acordo com a região e o local onde a espécie é conhecida. Algumas das principais denominações populares encontram-se na Tabela 1.

O óleo de copaíba, presente na casca, sementes e frutos, é produzido por canais secretores que se encontram na região cortical do caule, e, prolongam-se até o lenho, onde existem em grande abundância, formando estruturas semelhantes à “bolsas”. Este óleo apresenta propriedades cicatrizantes e antiinflamatórias, e é muito utilizado na medicina popular. É extraído por meio de incisões nos troncos da maioria das espécies de árvores e arbustos do gênero *Copaifera*. Tais perfurações são feitas com o auxílio de um trado, que penetra cerca de 20 a 50 cm de profundidade do centro do tronco (Siqueira *et al.*, 1998).

A madeira é empregada na construção civil leve, em movelarias e indústria de compensados decorativos, embalagens, palitos, artigos de esporte e brinquedos. A demanda por essa matéria prima também tem aumentado devido às suas propriedades inseticidas naturais. O lenho apresenta alto teor de celulose e lignina, sendo indicado para a produção de álcool, coque celulósico e carvão. A casca é utilizada para fazer chá, o qual é usado como antiinflamatório. Em Belém, preparam-se “garrafadas” feitas com essa casca, como produto substituto do óleo de copaíba. Este tipo de atividade tem sido freqüente devido à dificuldade de se obter o óleo, e, também, por este, mostrar-se de qualidade duvidosa (Ducke, 1925; Le Cointe, 1947; Ducke, 1949; Corrêa, 1931; Shanley *et al.* 1998; Siqueira *et al.*, 1998).

O óleo de copaíba contém resina, óleo essencial, e um ácido particular que é o ácido copaívico (Langgaard, 1872). Trata-se de uma solução natural de ácidos dipertênicos, em um óleo essencial, composto principalmente de sesquiterpenos, nos quais destacam-se o cubebebo, copaeno, elemeno, cariofileno (considerado o maior componente, com 50%), humuleno, cadineno e muroleno (Mourão *et. al.*, 1980). Apresenta ação bactericida (Maruzzela & Sicurella, 1960; Opdyke, 1976), anti-helmíntica (Pellegrino, 1967; Gilbert *et al.* 1972), analgésica (Fernandes & Pereira, 1989), anti-inflamatória (Basile *et al.*, 1988; Fernandes *et al.*, 1992), gastro-protetora (Paiva *et al.* 1998), antitumoral (Ohsaki *et al.*, 1994) e tripanocidal (Cascon *et al.*, 1998). Corrêa (1931) comentaram que os índios descobriram as propriedades terapêuticas do óleo e utilizavam não só como cicatrizante de feridas e úlceras, mas também como antitetânico sobre o umbigo de recém-nascidos. Também foi usado no tratamento de gonorréia, na América Tropical, antes da descobertas de drogas mais eficazes.

De acordo com Langgaard (1872) o óleo das espécies brasileiras costuma ser o mais apreciado, sendo o dos outros países considerado de qualidade inferior. Este óleo caracteriza-se por ser relativamente líquido e transparente, tornando-se espesso e amarelado pelo contato com o ar. Para o referido autor *C. multijuga*, *C. officinalis*, *C. langsdorfii*, *C. coriacea*, *C. jacquini*, *C. martii*, são algumas das principais espécies produtoras de óleo. Langenheim (1968) revelou que o gênero *Copaifera* é o que provavelmente mais produz resinas na África, e destaca *C. demeusii* (“copal do congo”), *C. copallifera* (“copal da Sierra Leone”) e *C. mopane* (“copal da Angola”). Siqueira *et.al.* (1998) informaram que *C. reticulata* é a espécie que fornece o melhor e a maior quantidade de óleo-resina, o qual é bastante grosso, de cor castanho-amarelado, com cheiro forte e agradável. É semelhante ao verniz, possui sabor acre e amargo, sendo pegajoso e insolúvel na água. Os autores comentam ainda que de uma árvore adulta pode-se obter de duas a três latas de 20 litros por intervalo de extração.

Quanto à produção de óleo por árvore Shanley *et al.* (1998) citaram que esta varia de ¼ de litro a 20 litros, contudo, nem todas as árvores o produzem. Os autores também comentaram que esta produção é influenciada pelo tipo de solo, onde se verificou que 45% das árvores produzem óleo em solo argiloso, e, 75% em solo arenoso. A escolha da época ideal para a coleta do óleo depende da região. No Acre, dizem que o melhor período é o chuvoso, enquanto no Pará, alguns produtores extraem na estação seca, preferencialmente, de agosto a outubro (Shanley *et. al.*, *l.c.*).

Mourão *et al.* (1980) também realizaram ensaios de combustão em motores Diesel da empresa Modiesel Máquina e Motores e concluíram que o óleo-resina de *Copaifera* é miscível com o óleo diesel e com o querosene em todas as proporções, possuindo densidade, viscosidade e ponto de fulgor superiores ao diesel, o que de modo algum pode comprometer seu desempenho como combustível.

O óleo-resina pode ser comercializado na forma de cápsulas, líquidos ou óvulos, xaropes, bálsamos, pomadas, sabonetes e supositórios. É usado também na preparação de cosméticos, espumas de banho, detergentes, vernizes, fixador de perfumes, aromatizantes, laca, tintas, revelação de fotografias, etc. Por ser uma substância comburentes, é usado pelas populações do interior da Amazônia na iluminação doméstica, em pequenos lampiões e lamparinas (Corrêa, 1931; Alencar, 1982; Berg, 1993).

Apesar da sua ampla utilização, tanto na indústria, como na medicina popular, o público interessado no produto, desconhece a existência de mais de 20 espécies de *Copaifera* no Brasil, e não leva em consideração as diferenças significativas na composição química do óleo entre as espécies. Várias substâncias têm sido identificadas, mas ainda pouco se conhece sobre a relação entre a estrutura e a atividade específica de cada um dos componentes químicos (Cascon & Gilbert, 2000).

A falta de uma identificação taxonômica correta tem gerado dúvidas quanto à origem do óleo, o qual é extraído de várias espécies, inclusive de outras leguminosas, e misturado como um produto único. Este procedimento altera as propriedades físico-químicas do óleo e não oferece a eficácia desejada, acarretando sérios prejuízos à indústria e ao comércio. Há, portanto, a necessidade de se conhecer a diferença entre o óleo-resina produzido pelas diversas espécies que estão sendo exploradas. Esse tipo de avaliação, ainda não foi possível, dada a dificuldade em separar as espécies, cujas características morfológicas são muito semelhantes. Ruiz (1994) informa que a maior parte da copaíba encontrada nas farmácias do país e do mundo resulta da exploração ilegal e adulterada.

Corrêa (1931) discutiu que o estado de pureza em que o óleo resina chega ao comércio é um tanto duvidoso, sendo que a diversidade de cores, nuanças, consistência e cheiro, ajudam a encobrir certas práticas fraudulentas. Martins-da-Silva (2006) relata que o fato da coloração do óleo variar entre o transparente, amarelo, avermelhado ou castanho-dourado, como resultado final, o gradiente visual é bastante diverso, o que facilita ações inescrupulosas.

Desde o início da colonização portuguesa, no século 16, já era mencionado o uso medicinal do óleo de copaíba pelas populações indígenas, e posteriormente sua introdução como medicamento na Europa para o tratamento de blenorrias (Osol & Farrar, 1955). No período da borracha, o óleo de copaíba foi exportado em grande escala para França, Alemanha e Estados Unidos. Nessa época a exportação na Amazônia alcançou 200 toneladas por ano (Fonseca, 1927; IBGE, 1962-1996). Ainda hoje, as populações nativas e rurais, que não têm acesso a produtos farmacêuticos industrializados e serviços básicos de saúde utilizam o óleo no tratamento de doenças venéreas e principalmente como cicatrizante de feridas e cortes na pele Ruiz (1994). Cascon & Gilbert (2000) afirmaram que o bálsamo de copaíba é o medicamento mais usado pelas populações tradicionais da Amazônia brasileira.

Contudo, o acelerado desmatamento e a ausência de um programa de manejo racional têm gerado prejuízos tanto na indústria e comércio, quanto nos consumidores em geral. É fato que toda a produção do óleo resina é obtida manualmente nas florestas por trabalhadores de campo, e, o processo de tirar o óleo de copaíba varia entre as diferentes regiões extrativistas. Essas atividades, na maioria das vezes, são executadas de forma irregular, desrespeitando qualquer programa sustentável. Shanley *et. al.* (1998) comentaram que em muitos lugares costuma-se cortar a copaibeira com terçado para tirar o óleo. Por este método, pode-se coletar até 20 litros de óleo de uma única vez, e assim, compromete-se a vida do vegetal. Um corte profundo gera graves ferimentos na casca, permitindo a entrada de insetos e fungos, que levam ao decréscimo do estado fitossanitário da árvore. É importante ressaltar, que este óleo é um agente de desintoxicação que funciona como defesa, e, portanto, se o método de extração não for cuidadoso, a planta pode vir a morrer em menos de três anos. Ao contrário, se as coletas procedem-se de forma correta, utilizando trados e com intervalos de extração de pelo menos dois anos, a mesma árvore produz óleo por muito mais tempo (Shanley *et. al.*, 1998).

É urgente a necessidade de investimentos científicos e tecnológicos, uma vez que ações irresponsáveis têm contribuído para a redução do número de espécies, diminuindo o fornecimento deste produto, principalmente para o estado do Pará, fazendo com que o óleo venha de lugares cada vez mais distantes, como por exemplo, municípios do estado do Amazonas, e, elevando assim, seu preço final. Informações obtidas nas feiras e mercados de Belém indicam que o óleo de copaíba custa cerca de R\$ 25,00 a R\$ 35,00 o litro (Shanley *et. al.*, 1998).

Martins-da-Silva (2006) afirma que no Estado do Acre estão sendo desenvolvidos projetos de manejo de produtos não-madereiros envolvendo *Copaifera*, como os liderados pela UFAC e pela Embrapa-Acre. A autora também cita que na FLONA do Tapajós – Pará, no âmbito do projeto Promanejo, o óleo de copaíba também tem sido investigado para fins de manejo.

Até o momento, a região Amazônica é a principal fornecedora do óleo-resina de copaíba usado e comercializado no Brasil e no mundo (Cascon & Gilbert 2000). Em levantamentos inferidos a partir do consumo estimado no mercado nacional, Siqueira *et. al.* (1998) apontaram para uma produção regional máxima de 300t/ano, e desse total, 90% são produzidos no estado do Amazonas. Os mesmos autores informaram que não há informações suficientes a respeito do óleo e produtos derivados de copaíbas nos mercados nacional e internacional.

Historicamente, o Brasil tem sido o maior produtor e exportador de copaíba e seus produtos derivados. Estima-se que as exportações brasileiras de óleo estejam por volta de 100t/ano. Os maiores importadores do produto são os Estados Unidos (50%), França (30%) e Alemanha (15%), e, mais de 80% desse volume sai pelo porto de Manaus. Os estados de Rondônia e Amapá vêm ganhando certo destaque como produtores e exportadores. Venezuela, Colômbia e Guianas são também países produtores, mas essa produção é ainda inexpressiva.

O óleo de copaíba tem importância significativa na pauta de exportações de produtos florestais não-madereiros. Diversas organizações governamentais e não-governamentais vêm estimulando a fabricação de produtos naturais, especialmente os amazônicos. Empresas internacionais, como a cadeia de lojas inglesa “Body Shop”, com sede em vários países da Europa, já lançou sua linha de cosméticos a base de produtos da Amazônia, entre eles o óleo de copaíba (Siqueira *et. al.*, 1998).

Com relação a patentes, empresas como a francesa Techino-Flor (S.A.), publicada em 24/12/1993, número FR 2692480, com o título “Nouvelles Compositions Cosmetiques ou Alimentaires Renfermant du Copaíba”, e, a americana Aveda Corp, 30/03/1999, US 5888251, título “Method of Coloring Hair or eyelashes with compositions which contain metal containing pigments and a copaíba resin”, são detentoras de produtos a base de copaíbas ([www.amazonlink.org/biopirataria/copaiba.htm](http://www.amazonlink.org/biopirataria/copaiba.htm) - acesso março 2006).

Tabela 1 - Algumas das principais denominações populares associados ao gênero *Copaifera* na América do Sul. (Fontes: Record & Hess (1949); Dwyer (1951); Ducke (1949); Silva *et al.* (2004), Martins-da-Silva (2006)).

ESPÉCIE	NOME VULGAR/LOCALIDADE
<i>C. glycyarpa</i>	“copaíba cuiarana” (Maués-AM), “copaíba preta” (rio Tapajós-PA).
<i>C. guyanensis</i>	“copaíba branca” ou “copaíba do Pará” (foz do rio Jutaí-AM); “copaíba verdadeira”, “copaíba vermelha” (BA).
<i>C. langsdorfii</i>	“copaibeira de minas”, “copaíba da várzea” (Amazonas), “copaíba vermelha”, “copaúba”, “pau d’óleo”.
<i>C. martii</i>	“copaibarana” (Santarém-PA), “copaíba jutaí” (AM e PA); “jutaí pororoca” (Monte Alegre); (“copaibarana” - <i>Cynometra bauhiniifolia</i> Benth., <i>Eperua campestris</i> (Ducke) Ducke, <i>E. purpurea</i> Benth e <i>Macrobium microcalyx</i> Ducke).
<i>C. multijuga</i>	“marimari” (Óbidos-PA), “copaíba angelim” (AM), “copaíba roxa”, “copaíba verdadeira”, “copaíba parda”, “copaíba preta” (PA), “copaíba vermelha”, (“copaíba angelim” - <i>Senna multijuga</i> (RJ)); “copaibeira”; “copaíba marimari” ou “copaíba angelim” (rio Madeira, Maués e Santa Júlia).
<i>C. obongifolia</i>	“copaibeira”
<i>C. officinalis</i>	“copaúva”; “copaíba preta” (PA), “copaíba verdadeira”, “copaúva”.
<i>C. piresii</i>	“copaíba” (PA), “copaíba Angelim” (MT), “copaíba mari-mari” (PA), “falso pau-ferro” (RO).
<i>C. pubiflora</i>	“aceite” (Venezuela), “copaíba” (RR), “copaibeira” (RR), mi’ekë (RR), “koruburelli” (Guiana)
<i>C. reticulata</i>	copaíba-marimarina”, “marimari”, “copaíba jutaí” (AM e PA), <i>Eperua purpurea</i> (rio Negro-Santarém) e <i>E. campestris</i> (rio Madeira).
<i>C. rigida</i>	“copaibeira”



#### 4. QUESTIONAMENTOS RELACIONADOS À DETERMINAÇÃO DAS ESPÉCIES

De acordo com a literatura, um número significativo de espécies encontra-se determinado erroneamente, logo são marcantes os questionamentos duvidosos à respeito da denominação de alguns *taxa* infragenéricos. A seguir, essas espécies estão relacionadas com suas respectivas indagações:

***Copaifera. bijuga*** Hayne - Ducke (1958) citou *C. bijuga* como sinônimo de *C. officinalis* L. baseando-se na descrição de Bentham (1870). Dwyer (1951) que observou apenas um espécime o atribuiu a pouco conhecida *C. pubiflora* Benth.. Este autor considerou *C. bijuga* como sinônimo de *C. guyanensis* Desf., em companhia de *C. beyrichii* Hayne, a qual, no entanto é uma Connaraceae,

*Connarus beyrichii* (Hayne) Schell..

***Copaifera cearensis*** Huber ex Ducke - Ducke (1959) citou que Huber, determinando as plantas coletadas por Ducke nos anos de 1908 e 1909, reconheceu esta espécie como nova e designou-a como *C. cearensis*, porém sem publicá-la. Depois, Huber substituiu *C. cearensis* por *C. duckei* Huber. Ducke (*l.c.*) afirmou que Dwyer (1951) apenas juntou os espécimes incompletos estudados por Huber, dos quais ele só viu fragmentos, e sinonimizou à sua *C. duckei* de Belém, Estado do Pará; fez essa afirmativa baseado no fato de que o indivíduo observado por Dwyer é de grande porte, de mata pluvial, tem outras características de folhas, frutos e madeira, cuja presença no Ceará exclui a possibilidade aos que possuem noções de climatologia e fitogeografia da América do Sul. A forma típica desta espécie é bem distribuída no Estado do Ceará; habita matas semidecíduas e lugares não muito úmidos. Ducke (*l.c.*) também considerou que a espécie *cearensis* citada por Lutzemburgii como *C. officinalis* seja provavelmente esta *C. cearensis*, uma vez que a verdadeira *C. officinalis* é nativa da Venezuela e Antilhas.

***Copaifera. cearensis*** Huber ex Ducke var. ***arenicola*** Ducke - Ducke (1959) descreveu essa variedade, destacando que a forma dos frutos é freqüentemente mais alongada do que na forma típica *C. cearensis*. Contudo, para o referido autor nenhum outro caráter a distingue da espécie típica.

***Copaifera duckei*** Dwyer – Dwyer (1951) considerou essa espécie relacionada a *C. reticulata* Ducke, porém o autor verificou que a forma e disposição dos folíolos de *C. duckei* diferem dos padrões de *C. reticulata*. Ducke (1958) questionou se convém conservar *C. duckei*, que pode ser apenas uma forma de *C. reticulata*. Também afirmou, que o espécime estudado por Dwyer só é conhecido nos municípios de Belém e Castanhal, no estado do Pará, e, que o espécime citado por Dwyer para o Estado do Maranhão, rio Maracassumé, pode, no entanto, ser co-específico. Ducke (*l.c.*) ressaltou que o mesmo não acontece com os espécimes do Estado do Ceará atribuídos por Dwyer a *C. duckei*.

***Copaifera glycyarpa*** Ducke - Dwyer (1951) enfatizou que *C. glycyarpa* está estreitamente relacionada com *C. multijuga* Hayne, principalmente quanto ao número, forma e ápice dos folíolos, diferindo desta última pela ausência de pontuações nos folíolos. Considerou também como outro fator sugestivo dessa afinidade, o fato de que ambas as espécies foram coletadas por Ducke na mesma área no Brasil.

***Copaifera guyanensis*** Desf. – Dwyer (1951) citou *C. beyrichii* Hayne e *C. bijuga* Hayne como sinônimo de *C. guyanensis*. Martins-da-Silva (2006) comenta que Desfontaines (1821) sugeriu que *C. officinalis* (Jacq.) L. pudesse ser uma variedade de *C. guyanensis*.

***Copaifera langsdorfii*** Desf. – Dwyer (1951) considerou *C. nítida* Hayne, *C. sellowii* Hayne e *C. langsdorfii* (Hayne) Kuntze como sinônimo de *C. langsdorfii* Desf.. Quanto às variedades, o autor sinonimizou à variedade *laxa* (Hayne) Benth., os taxa *C. laxa* Hayne e *C. langsdorfii* var. *rupestris* Hassler. *C. grandifolia* (Benth.) Malme passou a sinônimo de *C. langsdorfii* var. *grandifolia* e, *C. glabra* Vogel a sinônimo de *C. langsdorfii* var. *glabra* Vogel. O autor descreveu a variedade *krukovii* Dwyer como nova devido a diferenças significativas na composição dos folíolos, que segundo Dwyer (*l.c.*) não correspondiam aos caracteres típicos de *C. langsdorfii*. Corrêa (1931) citou que as variedades *laxa* e *glabra*, hoje, são espécies distintas. Ducke (1979) discutiu que o material identificado por Dwyer (*l.c.*) está de acordo com a estampa 19 de Hayne, a qual sem dúvida reproduz o espécime típico. Para Ducke, as “variedades” propostas por diversos autores não passam de simples espécimes de herbário, incompletos.

***Copaifera martii*** Hayne – Bentham (1870) *apud* Martins-da-Silva (2006) estabeleceu *C. pubiflora* como variedade de *C. martii*. Dwyer (1951) devolveu o “status” de espécie à *C. pubiflora* e deduziu que a variedade proposta por Bentham seria, de fato, *C. pubiflora*. Também, Dwyer (*l.c.*) indicou como sinônimo de *C. martii* os seguintes “taxa”: *C. rigida* Benth., *C. martii* (Hayne) Kuntze, *C. rigida* (Benth) Kuntze e *C. martii* Hayne var. *rigida* (Benth) Ducke. O referido autor conclui que *C. martii* e *C. rigida* são co-específicas e que, a variedade proposta por Ducke é resultado de um diagnóstico superficial. Em seu estudo, Ducke (1959) levou em consideração o clima como o fator ecológico responsável pelo endurecimento e espessamento dos folíolos de *C. rigida*, que ele reduziu a uma variedade.

***Copaifera multijuga*** Hayne – Martins-da-Silva (2006) discute que apesar de *C. multijuga* apresentar caracteres bem distintos das demais espécies, é possível confundí-la com *C. guyanensis*, *C. glycyarpa* ou *C. reticulata* pelo fato de todas possuírem o ápice acuminado.

***Copaifera officinalis*** L.- Ducke (1949) citou que o material por ele examinado corresponde exatamente à *C. bijuga* Hayne (segundo a estampa), a qual é, para Bentham, apenas um sinônimo de *C. officinalis*.

***Copaifera paupera*** (Herzog) Dwyer – Dwyer (1951) considerou *C. langsdorfii* Desf. var. *peruviana* Macbride como sinônimo de *C. paupera* Herzog. O autor também citou que *C. paupera* está relacionada morfológicamente com *C. reticulata*.

***Copaifera piresii*** Ducke – Segundo Martins-da-Silva (2006) está espécie havia sido denominada por Ducke (1954) como *C. minima*, porém apenas na etiqueta de herbário. Depois, ao publicar essa espécie, o referido autor substituiu o epíteto específico *mínima* por *piresii* em homenagem ao botânico Dr. João Murça Pires. Ducke (1959) comentou as afinidades morfológicas entre *C. piresii* e *C. oblongifolia* Mart. ex Hayne, contudo, correlatou que a primeira difere principalmente pela ausência de pontos translúcidos nos folíolos, enquanto que na segunda espécie estes são freqüentes. Martins-da-Silva (*l.c.*) ao analisar o *typus*, verificou que tais pontuações podem estar presentes em alguns folíolos, mesmo que em menor tamanho e quantidade, e, em outros, não.

***Copaifera reticulata*** Ducke - Ducke (1958) indagou que, se *C. duckei* Dwyer for conservada como espécie (diferente da constatação de Dwyer), a área geográfica de *C. reticulata* fica desfalcada da faixa oriental atlântica. Ducke (*l.c.*) discordou de Dwyer quanto aos espécimes de Cuiabá e São Paulo, que não podem ser atribuídos a *C. reticulata*, uma vez que o clima desses lugares não permite a existência de árvores típicas da mata pluvial equatorial. Dwyer (1951) alegou que embora Ducke (*l.c.*) tenha analisado e investigado um grande número de coleções, este autor não comentou a dificuldade encontrada em distinguir as amostras, principalmente no que se refere a *C. langsdorfii* Desf.. Outro ponto considerado por Dwyer diz respeito aos caracteres foliares que são freqüentemente instáveis nessas duas espécies. Na opinião, o caráter arilo amarelo do fruto (*in vivo*) de *C. reticulata* é mais confiável que outros caracteres acima mencionados para se avaliar uma amostra duvidosa de ser *C. langsdorfii*.

## 5. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Na literatura pode-se encontrar uma variedade de citações e estudos sobre a distribuição geográfica das copaíbas. Sabe-se, contudo, que ocupam os mais variados habitats, desde as matas de terra firme, as margens inundáveis dos rios e igarapés, margens arenosas de lagos, até as matas de cerrado. E, como ocorre com grande parte das árvores das florestas tropicais úmidas, apresentam distribuição esparsa, mesmo nas áreas onde as espécies são mais comuns.

Record & Hess (1949) e Langenheim (1973) afirmaram que a maioria das espécies é nativa dos neotrópicos, principalmente da região amazônica, sendo que quatro ou cinco espécies são também encontradas na África Tropical. Para Ducke (1949) o gênero *Copaifera* na Amazônia, apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o médio Tapajós até a Amazônia Ocidental (Amazonas e Rondônia). Veiga Jr. & Pinto (2002) noticiaram que as copaíbas são árvores nativas da região tropical da América latina e também da África Ocidental, e que na América Latina são encontradas espécies desde o México ao norte da Argentina.

Quanto ao número de espécies, no Index Kewensis (1893) verifica-se a ocorrência de cerca de 30 espécies. Ducke (1949) afirma que estão descritas mais de 40 espécies da América e África tropicais. Record & Hess (1949) e Allen & Allen (1981) constataram que diversos autores atribuem de 30 a 35 espécies para o gênero, o qual inclui arbustos e árvores.

Com relação ao posicionamento geográfico de certas espécies, *C. officinalis*, mesmo não sendo noticiada com ocorrência no território amazônico, apresenta áreas de contato com *C. pubiflora* (Enrech *et al.*, 1983). Segundo esta autora *C. pubiflora* expande-se da região Amazônica em direção ao território Colombiano. *C. officinalis* e *C. pubiflora* encontram-se na faixa geográfica Centro-Oriental da Venezuela, onde não parece haver nem barreiras geográficas, nem ecológicas. Para Haffer (1969), Simpson (1971), Éden (1974) e Simpson & Haffer (1978) *apud* Enrech *et al.*, (1983), uma possível explicação para essa distribuição, é que o processo de expansão foi provocado por uma situação climática favorável, na qual mudanças climáticas ocorridas nos últimos milhões de anos, Pleistoceno, provocaram o aparecimento de áreas de contato secundárias, entre espécies anteriormente alopátricas.

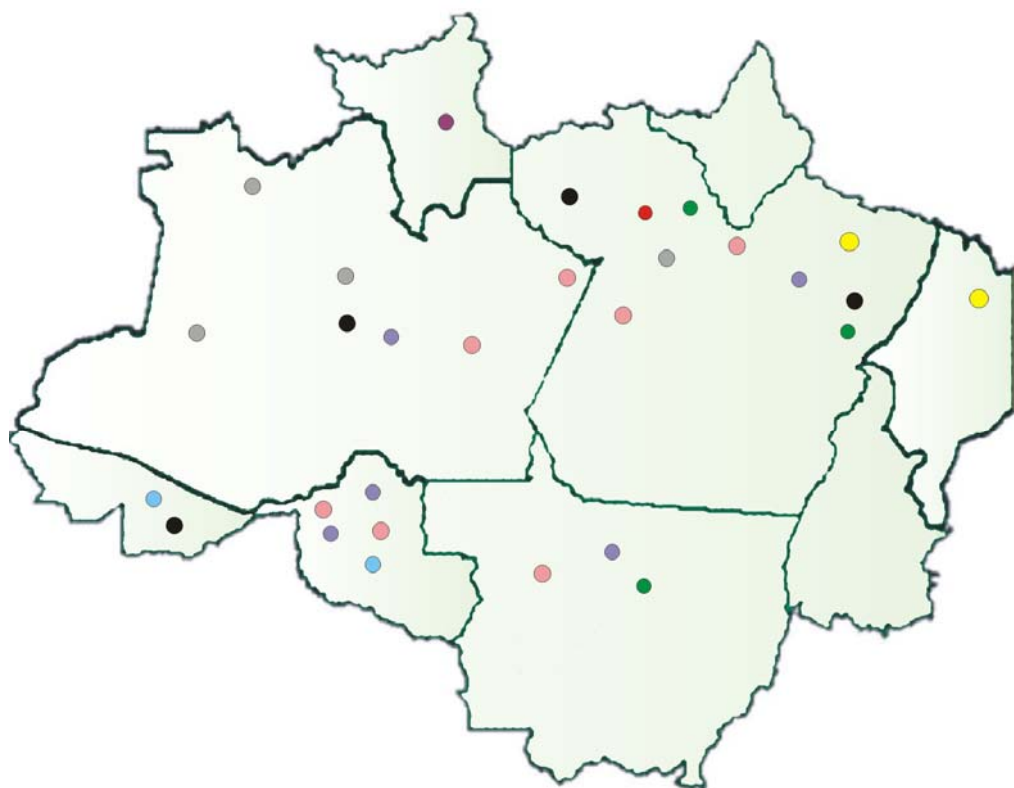
Martins-da-Silva (2006), a partir de um levantamento completo sobre a zona de ocorrência das espécies para Amazônia brasileira, informa com detalhes a distribuição

geográfica das seguintes espécies: ***Copaifera glycyarpa*** – Brasil, ocorrendo na região Central da Amazônia brasileira, ou seja, no sudoeste do Pará e leste do Estado do Amazonas. Vai até o Sul e Sudoeste da Amazônia e Noroeste do Mato Grosso; ***Copaifera guyanensis*** – Brasil, Colômbia, Guiana Francesa e Suriname. No Brasil, é encontrada nas porções central e ocidental, ou seja, no oeste do Estado do Amazonas; ***Copaifera multijuga*** – Brasil e Bolívia, com distribuição desde a Amazônia central, no oeste do Estado do Pará, até a Amazônia ocidental, no Estado do Amazonas. Ocorre também no sudoeste e noroeste do Estado de Rondônia e o oeste do Mato Grosso, até a Bolívia; ***Copaifera piresii*** – Brasil, foi observada no sul da Amazônia brasileira, Estado do Pará, próximo aos rios São Manoel ou Teles Pires, Curuá e nas matas do município de Novo Progresso. No Estado do Mato Grosso, ao norte, no município de Nova Bandeirantes. Em Rondônia, nas regiões central, nordeste e noroeste, respectivamente nos municípios de Alvorada d'Oeste e Presidente Médice; ***Copaifera pubiflora*** – Brasil, Colômbia, Guiana e Venezuela. No Brasil, está presente na Amazônia, ocorrendo ao norte, no Estado de Roraima.

A seguir, encontra-se representada na Tabela 2 a distribuição geográfica das espécies para a Amazônia brasileira. A elaboração desta Tabela seguiu rigorosamente informações obtidas nos herbários, anteriormente mencionados, e, também, na literatura consultada. Os dados foram extraídos de forma integral, e por isso, nem todas as espécies apresentam suas localidades detalhadas. O mapa da Figura 1 ilustra a localização de tais espécies.

Tabela 2 - Distribuição geográfica das espécies de *Copaifera* que ocorrem na Amazônia brasileira, segundo exsicatas de herbário e literatura específica.

ESPÉCIES	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS E DE HERBÁRIO
<i>C. duckei</i>	<b>Pará, Bahia, Maranhão, Ceará, Rondônia e Mato Grosso</b>
<i>C. glycyarpa</i>	<b>Amazonas:</b> Curuçá próximo a Maués, Parintins, rio Madeira, Território do Guaporé: Porto Velho e Santo Antônio. <b>Pará:</b> rio Tapajós (Dwyer, 1951), rio Xingu (Ducke 1949); Mato Grosso e Rondônia;
<i>C. guyanensis</i>	<b>Guianas</b> (Wood <i>et al.</i> 1940); <b>Amazonas:</b> médio rio Negro; baixo rio Jutaí, <b>Guiana</b> (Ducke, 1949); <b>Guianas, Amazonas:</b> o médio e alto Rio Negro, onde a espécie é bastante freqüente, e o Solimões até o Trapézio do Amazonas Colombiano (Ducke, 1959); Suriname <b>Pará, Distrito Federal.</b>
<i>C. martii</i>	<b>Pará, Maranhão, Piauí, Goiás e Mato Grosso</b> (Dwyer, 1951); <b>Pará, rio Tocantins</b> (Arumateua), Monte Alegre, <b>Mato Grosso Central e Guiana Francesa</b> (Ducke, 1949, 1954); <b>Amazônia, Minas Gerais</b> (Corrêa, 1931);
<i>C. multijuga</i>	<b>Amazônia</b> (Wood <i>et al.</i> , 1940); <b>Amazonas, Rondônia, Pará, Porto Velho e Santo Antônio</b> (Ducke, 1949); <b>Mato Grosso, Maranhão, Bolívia;</b>
<i>C. paupera</i>	<b>Acre, Município de Xapuri; Rondônia</b>
<i>C. piresii</i>	<b>Pará, Rio São Manoel - Teles Pires</b> (Ducke 1958);
<i>C. pubiflora</i>	<b>Amazonas, Colômbia, Venezuela;</b>
<i>C. reticulata</i>	<b>Amazônia</b> (Wood <i>et al.</i> 1940); <b>Pará, Amazonas e Acre</b> (Ducke 1949); <b>Bolívia</b> (Langenheim, 1973); <b>Pará, Rio Tocantins e Rio Cumina-mirim (Trombetas), Bolívia</b> (Dwyer, 1951).



- *Copaidera duckei*
- *Copaifera glycyarpa*
- *Copaifera guyanensis*
- *Copaifera martii*
- *Copaifera multijuga*
- *Copaifera paupera*
- *Copaifera piresii*
- *Copaifera pubiflora*
- *Copaifera reticulata*

Figura 1 - Mapa da Amazônia brasileira demonstrando a possível distribuição geográfica das espécies investigadas.



## 6. MATERIAL E MÉTODOS

### 6.1. MATERIAL BOTÂNICO

O gênero *Copaifera* para a Amazônia brasileira está representado por cerca de oito espécies (Martins-da-Silva, 2006): *C. glycyarpa* Ducke, *C. guyanensis* Desf., *C. martii* Hayne, *C. multijuga* Hayne, *C. paupera* (Herzog) Dwyer, *C. piresii* Ducke, *C. pubiflora* Benth. Hook e *C. reticulata* Ducke. Destas, o presente trabalho analisou o pólen de sete, não constando apenas *C. duckei* e *C. glycyarpa*. Outras sete espécies também tiveram seus grãos de pólen aqui investigados por serem consideradas afins, visto que coabitam áreas geográficas da Amazônia extra-brasileira, e principalmente, segundo a literatura, apresentam estreitas similaridades taxonômicas. São elas: *Copaifera bijuga* Hayne, *C. cearensis* Huber ex Ducke, *C. cearensis* var. *arenicola* Huber ex Ducke, *C. langsdorfii* Desf., *C. oblongifolia* Mart. e *C. officinalis* L., *C. reticulata* Ducke var. *grandifolia* e *C. rigida* Benth..

*Copaifera duckei* Dwyer e *C. glycyarpa* Ducke não constam nessa pesquisa devido à escassez de botões florais adultos, dos quais a maior parte encontrava-se imaturo. Dessas espécies foram testadas, sem sucesso, as seguintes amostras: *C. glycyarpa* – Ducke, A., 17/12/1927 (*syntypus* RB 2018/); *C. duckei* - Oliveira, E. de, 334; 12/01/1960 (IAN 105082); Marinho, L. R. & Ribeiro, B. G. S., 697, 8/03/1982 (IAN 162745); Ducke, A., 10/11/1922 (*typus* RB 16.875); Pires, J. M., & Silva, N. T. da, 4453, 23/01/1953 (IAN 77 656).

Nos herbários de um modo geral, é expressivo o número de exsicatas identificadas incorretamente para as espécies de *Copaifera*. Por este motivo tentou-se evitar a coleta de botões florais das exsicatas, sem que previamente fosse feita pesquisa bibliográfica e consulta as demais exsicatas, principalmente as os *typus*. Para esse estudo contou-se com a orientação da Dra. Regina Martins-da-Silva, que após analisar espécie por espécie, forneceu todos os dados necessários para que a coleta fosse feita com o máximo de cautela.

Por se tratar de um trabalho palinotaxonômico padronizou-se coletar no mínimo três espécimes para cada espécie, com exceção válida apenas para material

*typus*. Em virtude da extrema quantidade de botões florais imaturos nas exsicatas consultadas, em algumas espécies não foi possível coletar o número mínimo de amostras pré-estabelecido. Todo material utilizado encontra-se nas tabelas referentes a cada espécie (vide Resultados).

Os herbários consultados, relacionados a seguir, acham-se precedidos pelas respectivas siglas designativas, de acordo com o “Index Herbariorum” (Holmgren, *et al.* 1990):

- **CAY** - Herbarium du Centre Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Cayenne, Guiane Française.
- **ESA** – Herbário da Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Piracicaba, SP. Brasil.
- **F** – Herbarium Field Museum of Natural History, Chicago, IL. U.S.A.
- **IAN** – Herbário da Embrapa - Amazônia Oriental, Belém, PA. Brasil.
- **INPA** – Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM. Brasil.
- **IPA** – Herbário da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Recife, PE. Brasil.
- **K** - Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond. United Kingdom.
- **MG** – Herbário João Murça Pires, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA. Brasil.
- **NY** – Herbarium of New York Botanical Garden, Bronx Park, NY. U.S.A.
- **RB** – Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. Brasil.
- **R** – Herbário do Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. Brasil.

- **SP** – Herbário Maria Eneida P. Kauffmann Fidalgo, do Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, SP. Brasil.
- **UB** - Universidade de Brasília, Brasília, D. F. Brasil.
- **UEC** – Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. Brasil.
- **US** – United States National Museum
- **VEN** – Herbário Nacional de Venezuela, Venezuela.

## **6.2. METODOLOGIAS**

### **6.2.1. Preparação das Lâminas de Pólen**

Para a preparação das lâminas de pólen, o material botânico coletado foi processado de acordo com os princípios básicos do método de acetólise de Erdtman (1952). Os botões florais adultos coletados foram colocados em tubos de ensaio com 4ml de Ácido Acético Glacial, durante 24 horas, para que fossem hidratados e posteriormente macerados. Após este período, o material foi coado em telas de latão, centrifugado e decantado. A fim de destruir o conteúdo celular foi usada uma mistura de Anidrido Acético + Ácido Sulfúrico numa proporção de 9:1, proporcionando uma reação entre a esporopolenina e o Anidrido Acético em meio ácido, formando um produto acetilado. Em seguida, os tubos contendo essa mistura, foram colocados em banho-maria a uma temperatura que não excedeu os 70°C. Com este procedimento, o conteúdo celular e a intina são destruídos e a exina fica transparente, permitindo o estudo detalhado da membrana externa. Com o método de acetólise a membrana externa torna-se resistente às oxidações e quimicamente mais estável para o estudo morfológico. Após centrifugação e decantação, as lâminas foram montadas.

É importante ressaltar toda dificuldade encontrada não somente na execução do método de acetólise, como também, na preparação das lâminas de pólen. Em virtude

das características inerentes a cada espécie, sobretudo a fragilidade das camadas externas dos grãos de pólen de *Copaifera*, algumas etapas desses procedimentos foram modificadas, ou até mesmo eliminadas. São elas: 1) A temperatura, a qual mostrou ser um fator altamente relevante quanto à integridade celular, e por esse motivo, o banho-maria não ultrapassou 70°C; 2) Na ocasião da montagem das lâminas foi utilizada uma placa aquecedora a fim de evitar contato direto com o fogo, o qual colapsava praticamente todos os grãos de pólen, impossibilitando qualquer análise microscópica; 3) Uma vez que sexina e nexina mostraram-se extremamente transparentes, o uso de glicerina a 50%, ao término da acetólise, foi dispensável. Assim, a coloração acastanhada resultante do processo de acetilação foi preservada, possibilitando evidenciar os caracteres morfológicos.

### **6.2.2. Montagem dos Grãos de Pólen**

A montagem foi feita com gelatina glicerinada (Kisser, 1935). Com o auxílio de estiletos flambados, pequenos pedaços de gelatina glicerinada foram introduzidos no tubo de ensaio contendo sedimento e submetidos ao calor de uma placa aquecedora. Salgado-Labouriau (1966) informou que os grãos de pólen devem ser montados num meio de índice de refração conveniente para contraste.

Para todas as espécies investigadas, foi montada uma lâmina em glicerina pura, a fim de verificar a rotação do pólen em torno do seu próprio eixo, permitindo assim, o exame de toda a sua superfície.

Para tornar as lâminas definitivas e isentas de contaminação, estas foram lutadas com parafina fundida, que penetra por capilaridade entre lâmina e lamínula, ocupando todo o espaço que circunda o meio de montagem (Müller, 1947).

Depois de prontas, as lâminas foram identificadas com o nome da espécie, número de herbário, e finalmente registradas na Coleção de lâminas de pólen do Museu Goeldi, para que recebessem o número da Palinoteca.

### 6.2.3. Obtenção das Medidas

Como os grãos de pólen tendem a aumentar de tamanho após a acetólise (Faegri & Deuse, 1960), as mensurações foram obtidas no prazo máximo de sete dias após a preparação das lâminas. Em vista equatorial, as medidas dos eixos polar (P) e equatorial (E) foram obtidas em 25 grãos de pólen escolhidos ao acaso. Tais medidas foram tomadas de 5 lâminas contendo o material polinífero, medindo-se o máximo de sete grãos de pólen por lâmina, alcançando o padrão de 25 medidas por espécime. Utilizando-se a objetiva de 40x, foi adaptada uma ocular micrometrada num fotomicroscópio. O esquema dos eixos está representado na Figura 2. Apesar da fragilidade da exina às técnicas laboratoriais utilizadas, um número expressivo de grãos de pólen colapsou, impossibilitando a obtenção de 25 medidas para algumas espécies. Das medidas, foram calculados a média ( $\bar{X}$ ), variância ( $S^2$ ), desvio padrão (S) e coeficiente de variação (CV).

A sexina e nexina foram medidas em 10 grãos de pólen, tanto em vista polar quanto em vista equatorial, usando-se a objetiva de 100x, e com os valores, calculada somente a média aritmética. Nos grãos de pólen caracterizados como longicolpados, foram feitas 10 medidas dos colpos e 10 da área do apocolpo em vista polar. Tais medidas foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura (Figura 3) e com as quais, calculada apenas a média aritmética. A variação do comprimento dos longicolpos entre as espécies está representada no Gráfico 14. Pelo fato de muitos grãos de pólen colapsarem sob as condições do microscópio eletrônico, não houve possibilidade de medir os colpos nos grãos de pólen sincolpados e parassincolpados.

Para a apresentação das dimensões de todos os espécimes de cada espécie, foi utilizada a representação gráfica baseada em Melhem (1971), a qual se refere a maior dimensão dos grãos de pólen de cada amostra. Nesses gráficos, a linha horizontal representa a faixa de variação do tamanho dos grãos de pólen; o retângulo preto indica o intervalo de confiança a 95% e a linha vertical representa a média aritmética.

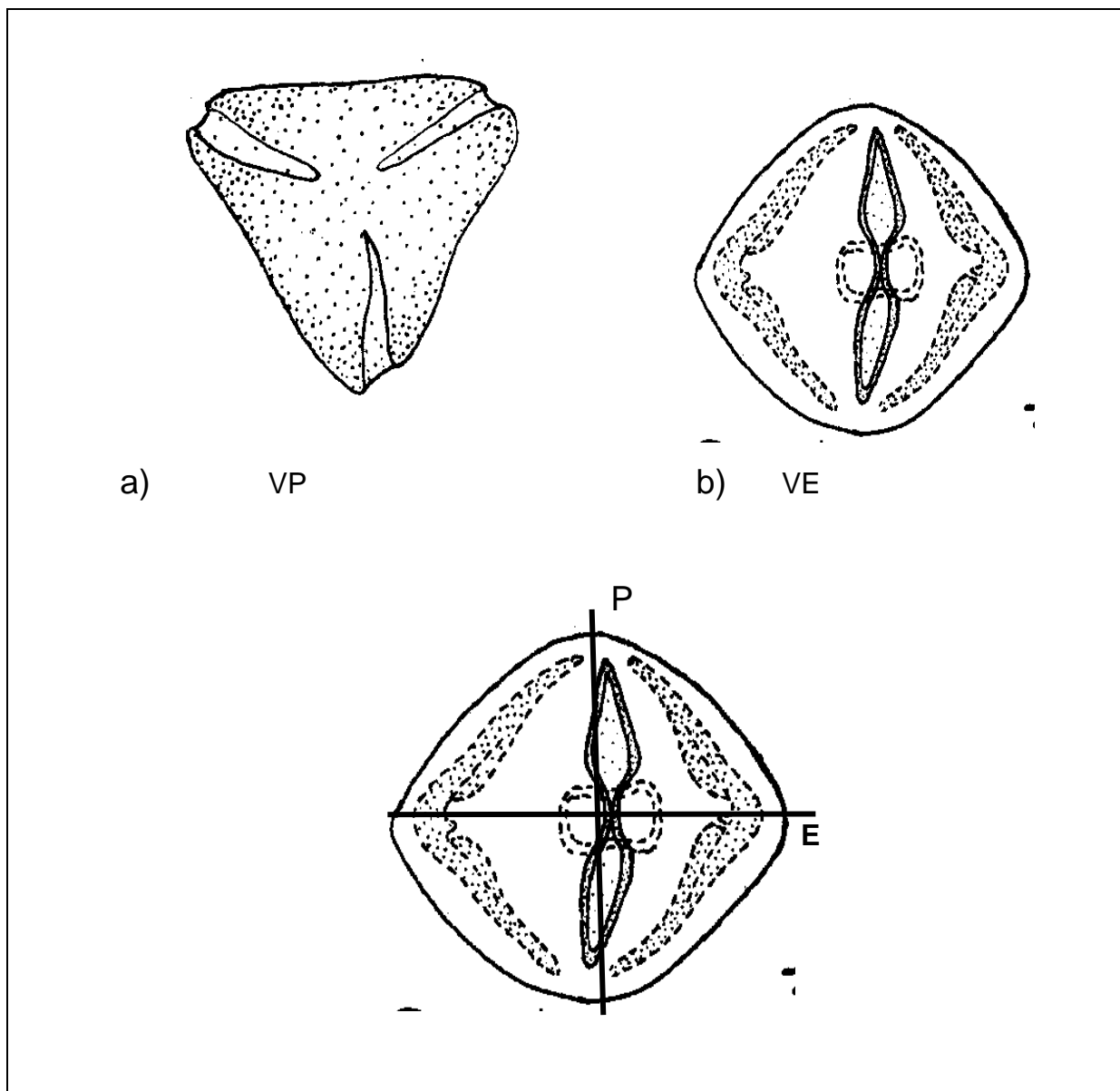


Figura 2 - Esquema do grão de pólen de *Copaifera*. a) VP; b) VE; c) Idem, mostrando os eixos polar (P) e equatorial (E), onde foram realizadas as medidas.

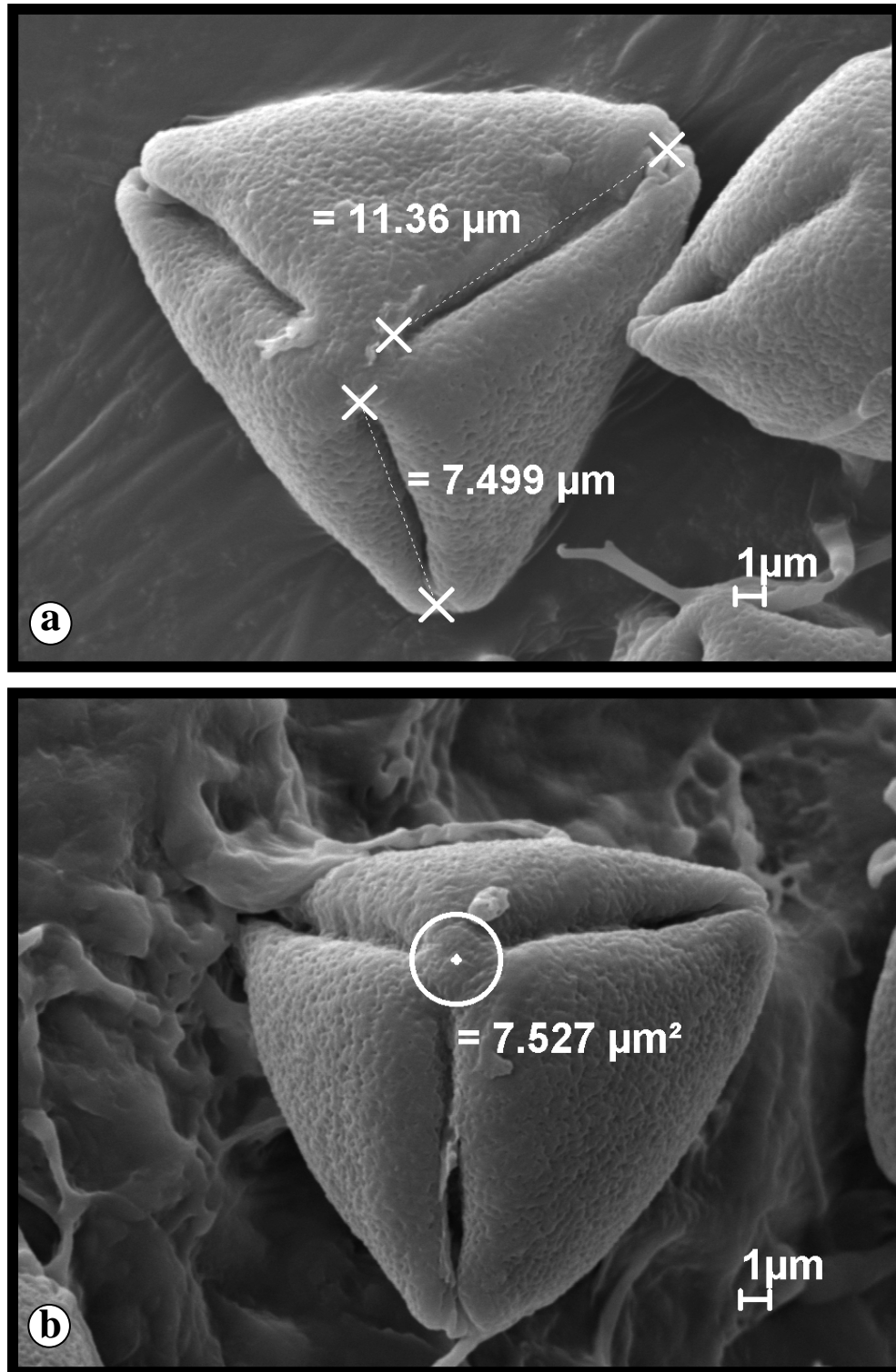


Figura 3 - Representação das medidas dos grãos de pólen em MEV:  
a) Medidas dos colpos; b) Medida do apocolpo.

#### 6.2.4. Descrições Polínicas

As espécies foram primeiramente descritas com base nos caracteres gerais, e posteriormente, analisadas em seus pormenores. As descrições polínicas e preparação da chave basearam-se nos trabalhos de Erdtman (1969), Walker & Doyle (1975), Barth & Melhem (1988) e Punt *et al.* (1998).

Para o estudo detalhado da superfície do grão de pólen em microscopia de luz utilizaram-se 2 tipos de exame: o exame de superfície e o exame em corte ótico.

Para o exame de superfície foi realizada a “análise de LO/OL” (Luz e Obscuridade/Obscuridade e Luz), que detecta as mais delicadas saliências e reentrâncias da ornamentação da exina. Segundo Salgado-Labouriau (1973) neste tipo de análise leva-se em consideração diferenças de índices de refração nos vários extratos da exina. Portanto, quando a luz do microscópio atravessa a exina, refrata de forma diferente de acordo com a camada que está atravessando. Assim, ao focalizar num determinado nível, o padrão da superfície apresenta “ilhas” contornadas por “canais”, sendo que ambos contrastam-se entre o claro e o escuro. Quando o pólen é examinado em focalização alta, as saliências aparecem como ilhas claras (luz), sobre um fundo escuro. Ao contrário, se a focalização é baixa a imagem inverte-se, e as ilhas tornam-se escuras (obscuridade) sobre um fundo claro. A presença de saliências na superfície é detectada pela mudança nas “ilhas”, as quais passam da luz para obscuridade, prevalecendo neste caso, o padrão LO. No caso de pequenas reentrâncias, o padrão mudará de obscuridade para luz, ou seja, OL. Tais análises possibilitam também, a determinação da constituição dos tetos e suas estruturas de sustentação.

O exame do corte ótico foi empregado para avaliar a estratificação da exina. Este exame, só é possível em grãos de pólen acetolisados, os quais tornam-se transparentes, e desprovidos de conteúdo celular, facilitando a interpretação da escultura da exina em diferentes partes do pólen, como margem dos colpos, pólos, mesocolpos e contorno da base dos colpos.



Também, foi utilizada a classificação de Praglowski & Punt (1973) para a exina microrreticulada, contudo os lumens não foram medidos pelo fato do microrretículo ter sido observado apenas em MEV.

A forma do grão de pólen aqui estabelecida foi baseada na relação entre os eixos polar e equatorial (P/E), classificada por Erdtman (1952), e universalmente adotada. A partir dessa relação numérica Erdtman (*l.c.*) postulou um índice para a forma do pólen com oito classes, que seguem um intervalo padrão de comprimento.

Para o estudo das aberturas, adotou-se a classificação proposta por Erdtman (1952), que denomina poro, todas aberturas mais ou menos circulares, em que a relação entre os dois diâmetros da abertura é menor que 2:1, e, colpo, para todas as aberturas alongadas, cuja relação é maior que 2:1. Quanto à caracterização dos colpos, observados em *Copaifera*, a projeção destes em direção à área do apocolpo pode resultar nos tipos: longicolpado, parassincolpado e sincolpado. Esta classificação foi baseada no trabalho de Barth & Barbosa (1972), e o esquema dos diferentes tipos de aberturas observado nos grãos de pólen de *Copaifera* encontra-se na Figura 4.

Devido ao elevado grau de homogeneidade morfológica exibida pelos grãos de pólen das espécies estudadas, achou-se conveniente estabelecer um único Tipo Polínico que representasse os caracteres do gênero. Assim, classificou-se o Tipo Polínico *Copaifera*. Com a finalidade de categorizar as espécies que fazem parte do Tipo Polínico, este foi subdividido em Subtipos Polínicos, tomando-se como base as diferenças morfológicas verificadas na ornamentação da exina. A indicação dos Subtipos obedeceu alguns requisitos: 1) O aspecto morfológico escolhido para separar os Subtipos deve ser o mais constante possível, a fim de se evitar condições de multiestado para o mesmo caráter; 2) Em cada Subtipo deve constar o número de espécies representativas; 3) Os Subtipos são caracterizados por uma morfologia polínica particular, compartilhada com os demais membros desse Subtipo. É importante mencionar que o exame detalhado da exina só foi na MEV. A ML mostrou-se inviável pelo fato dos grãos de pólen apresentarem-se muito semelhantes entre si, ou ostentarem modificações tênuas.

Abreviaturas usadas nas descrições:

- *amb* - âmbito
- A - apocolpo
- Ale - aletas
- B - báculo
- C - colpo
- E - eixo equatorial
- End - endoabertura
- L.O. - lux-obscuritas: quanto à superfície dos grãos de pólen significa ilhas claras em meio escuro
- Long - longicolpos
- M - mesocolpo
- MEV - microscópio eletrônica de varredura
- Mret - microrretículo
- ML - microscopia de luz
- Nex - nexina
- O.L. - obscuritas-lux: quanto à superfície do grão de pólen significa ilhas escuras em meio claro
- P - eixo polar
- Pont - pontuações
- P/E - relação entre os eixos polar e equatorial
- Pex - ponte de exina
- Psi - psilada

- Sex - sexina
- T - teto do muro
- VE – vista equatorial
- VP - vista polar

### **6.2.5. Obtenção das Fotomicrografias e Eletromicrografias**

As fotomicrografias de luz foram obtidas em um fotomicroscópio, modelo ZEISS, na objetiva de 100x. Para cada espécie procurou-se evidenciar os principais caracteres morfológicos, como número, posição e tipo de aberturas, assim como a ornamentação da camada mais externa do grão de pólen.

Em investigações prévias a cerca da estrutura da parede do pólen de *Copaifera*, detectou-se significativa fragilidade celular aos diversos tratamentos químicos empregados. Com a finalidade de imobilizar as moléculas que compõe a amostra, e preservar a fina estrutura da exina, inicialmente procedeu-se na MEV com técnicas de pré-fixação (glutaraldeído a 6,5% em tampão fosfato) e pós-fixação (ácido ósmico a 2% em tampão fosfato). Essas metodologias mostraram-se incapazes de imunizar o espécime biológico e evitar distorções. Em inúmeras tentativas posteriores, chegou-se, despretensiosamente, a técnica da “deposição direta”, na qual os grãos de pólen, não acetolisados, são pulverizados sobre suportes cilíndricos metálicos, denominados “stubs”, e recobertos por fitas de carbono. Após essa etapa, os “stubs” foram cobertos por uma camada de 3,5 nanômetros de ouro, por cerca de três minutos, a fim de tornarem-se materiais eletricamente condutivos. Assim, foram eletromicrografados no microscópio LEO 1450 VP, no Laboratório de Microscopia Eletrônica, da Coordenação de Ciências da Terra e Ecologia, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-Pará.

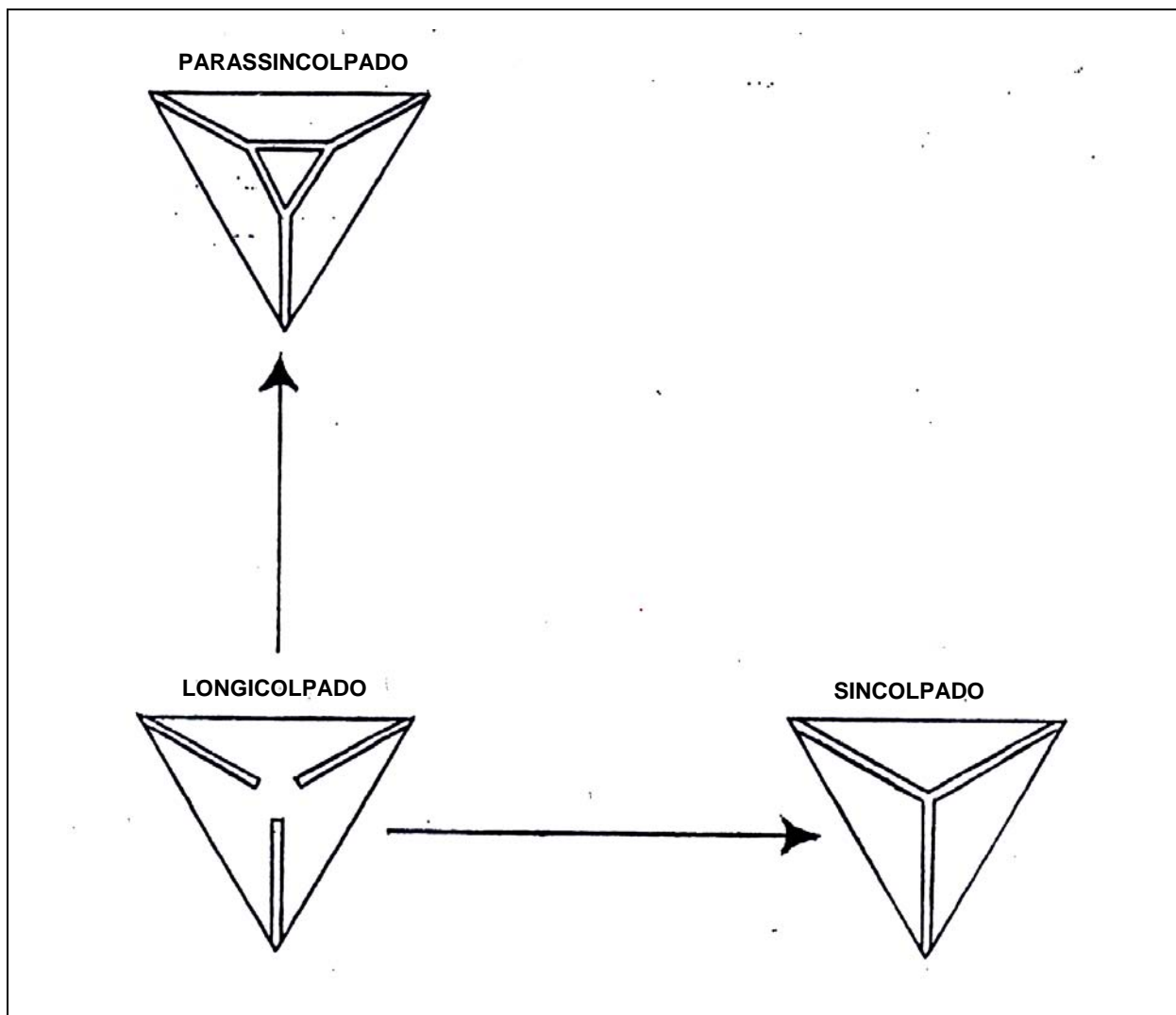


Figura 4 - Esquema dos diferentes tipos de abertura encontrados nos grãos de pólen de *Copaifera*.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. CARACTERES GERAIS DOS GRÃOS DE PÓLEN

Médios, isopolares, de simetria radial, 3-colporados, nos quais, as aberturas são caracterizadas como colpos que apresentam internamente um poro circular, também chamado endoabertura, e assim, é denominado colporado. Variam, a superfície, lisa, punctada e microrreticulada, e a forma, de suboblata a prolata esferoidal. Os colpos em vista polar projetam-se de três formas: a) longicolpados: com colpos longos; c) parassincolpados: preservando pequena área do apocolpo; e b) sincolpados: apresentando completa anastomose na região do apocolpo (Figura 4). Segundo a classificação de Barth & Barbosa (1972) os parassincolpados podem ser regularmente ou irregularmente parassincolpados, de acordo com a fragmentação da ornamentação exina na região do apocolpo. Em *Copaifera*, os grãos de pólen são regularmente parassincolpados. Algumas espécies apresentam as duas, ou até mesmo, as três formas de colpos na mesma amostra. O contorno da base dos colpos vai de regular a dilatado (Figura 5). Os mesocolpos podem ser côncavos ou retilíneos, e na maioria das vezes, em vista equatorial, expandem-se formando estruturas semelhantes a alas, denominadas aletas. A endoabertura é circular, contudo na maioria das espécies apresenta-se encoberta pela sexina. Quanto à ornamentação da exina, as pontuações na superfície podem ser esparsas ou aglomeradas, e o microrretículo apresenta muros estreitos. Não há padrão de organização da superfície, tanto as pontuações quanto o microrretículo distribuem-se irregularmente. Em L.O. baixo, a superfície apresenta-se psilada, em L. O. alto, varia de tênueamente ornamentada a punctada.

A exina é fina e transparente. Sexina e nexina apresentam praticamente a mesma espessura. As variações geralmente acontecem próximas à região das aberturas, onde tendem a diminuir, até a falta total. O teto varia de liso a simples-baculado.

Ao MEV, os grãos de pólen em vista equatorial apresentam um tipo de estrutura que emerge da região central da abertura, assemelhando-se a protuberâncias, denominadas pontes de exina.

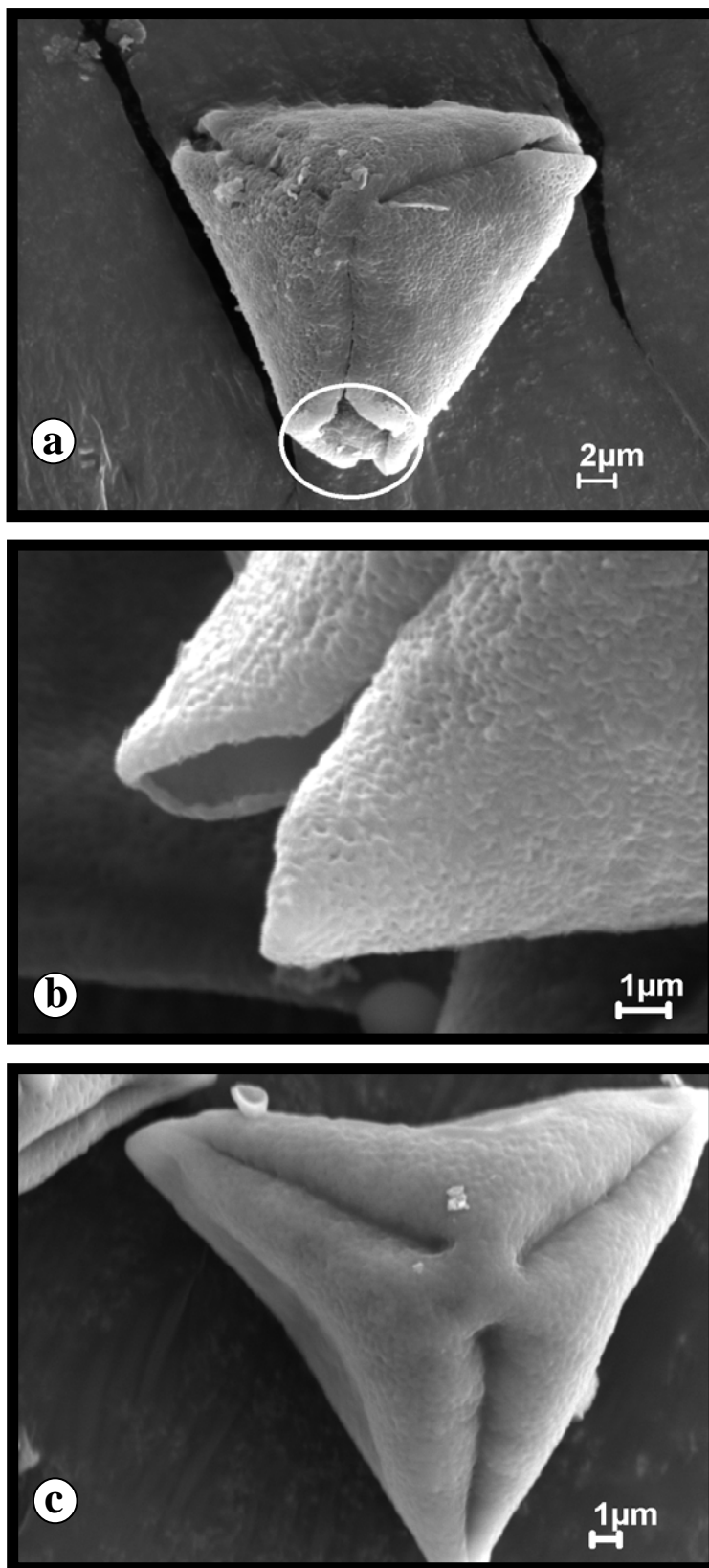


Figura 5 – Contorno da base dos colpos no pólen de *Copaifera* em MEV. a) Destaque do contorno dilatado; b) Detalhe da dilatação; c) Aspecto do contorno regular.

## 8. CARACTERES ESPECÍFICOS DOS SUBTIPOS POLÍNICOS ESTABELECIDOS

Em virtude dos grãos de pólen do gênero *Copaifera* apresentarem-se muito semelhantes entre si nos mais variados aspectos morfológicos, como o tamanho, forma, número, posição e caráter das aberturas pertencem a um único Tipo Polínico, o Tipo Polínico *Copaifera*. Assim, os 14 taxa analisados neste trabalho foram divididos em cinco Subtipos polínicos, para os quais foi indicada uma espécie representante para cada Subtipo. Na escolha da espécie representante, foi selecionada aquela que apresentava os grãos de pólen com uma forma mais definida, de maneira que fosse permitido usá-la como padrão para a descrição dos grãos de pólen das demais espécies constituintes de cada Subtipo.

Para a classificação dos Subtipos, tomou-se como base a **ornamentação da exina**, a qual acha-se constituída pelos seguintes tipos de superfície: ornamentada com pontuações; punctada com rugosidades; punctada com papilas; punctada com pontuações regulares e microrreticulada.

Os cinco Subtipos Polínicos estão representados pelas seguintes espécies: *Copaifera officinalis*, *C. bijuga*, *C. guyanensis*, *C. paupera* e *C. multijuga*.

## 9. CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO DOS SUBTIPOS POLÍNICOS

### 1. Superfície ornamentada

Subtipo Polínico *officinalis*

### 2. Superfície punctada

#### 2.1. com rugosidades

Subtipo Polínico *bijuga*

#### 2.2. com papilas

Subtipo Polínico *guyanensis*

#### 2.3. com pontuações regulares

Subtipo Polínico *paupera*

*C. cearensis* var. *arenicola*  
*C. langsdorfii*  
*C. paupera*  
*C. piresii*  
*C. pubiflora*  
*C. reticulata*  
*C. reticulata* var. *grandifolia*

### 3. Superfície microrreticulada

Subtipo Polínico *multijuga*

*C. martii*  
*C. multijuga*  
*C. oblongifolia*  
*C. rigida*