

ASPECTOS ANATÔMICOS DOS ÓRGÃOS
VEGETATIVOS DE *PIPER HISPIDINERVIUM* C.DC.
(PIPERACEAE) E SUAS ESTRUTURAS
SECRETORAS¹

Manoel Euclides do Nascimento²
Raimunda Conceição de Vilhena-Potiguara³

RESUMO – Este trabalho trata do estudo anatômico e morfológico da raiz, caule e folha de *Piper hispidinervium* C.DC. (Piperaceae), conhecida popularmente como “pimenta longa”. A espécie é nativa da Amazônia e habita preferencialmente os campos de pastagem do Estado do Acre. É rica em safrol, substância utilizada como inseticida e como fixadora de fragrâncias de cosméticos e perfumes na indústria farmacêutica. As raízes primária, adventícia aérea e, adventícia subterrânea são poliarcas e apresentam crescimento primário e secundário. Nas raízes adventícias observa-se um parênquima central formado por células de paredes delgadas. No caule, o crescimento primário ocorre até o quarto entrenó contado do ápice e, o secundário, a partir do quinto entrenó. A folha é anfiestomática e apresenta tricomas tectores, secretores, glândulas reluzentes e células oleíferas. As glândulas reluzentes são abundantes nas folhas jovens. A relação entre o número de estômatos, células epidérmicas e tricomas secretores, revelou um índice estomático de 12,120 e índice de tricomas secretores de 2,030 em uma área de 0,021mm². O mesofilo é dorsiventral com hipoderme e parênquima

¹ Dissertação de Mestrado pelo primeiro autor - Curso de Pós-Graduação - UFPA/MPEG.

² Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. Departamento de Biologia Vegetal e Fitossanidade. Professor. C.P. 917, Telefax: 0xx91274-0088, Cep 66077530, Belém-PA.

³ PR-MCT/CNPq. Museu Paranse Emilio Goeldi. Departamento de Botânica. Pesquisadora. Cx. Postal 399. Cep 660417-970, Belém-PA.

paliádico, bisseriados. As células oleíferas foram encontrados em todos os órgãos vegetativos, porém são mais abundantes na folha, nos tecidos em crescimento primário e próximos aos nós caulinares. Na superfície da folha o número de células oleíferas é diretamente proporcional ao número de tricomas secretores.

PALAVRAS-CHAVES: Anatomia de órgãos vegetativos, Estruturas secretoras, *Piper hispidinervium* C.DC.

ABSTRACT - This work show a study the anatomy and morphology of the roots, stem and leaves of *Piper hispidinervium* C. CD. (Piperaceae) known as "pimenta longa" a native species of Amazon casily found in pastures of Acre State. This species is rich in safrol, a substance used as insecticide in the pharmaceuthycal industry. The primary, aerial adventitious and underground roots are poliac and present primary and secondary growth. The adventitious roots have a central parenchyma formed by cells with thin wall. In the stem, the primary growth occurred until the fourth internode, and the secondary growth until the fifth internode. The leaves are amphiestomatic and present tectores trichomes, pearl gland, oil idioblast and mucilage-cell. The pearl gland or glistemy glan are abundant in young leaves. The ratio between number of stomata, epidermic cells and secretores trichomes, revealed stomatic index of 12,120 and trichome index of 2,030 in an leaf area de 0,021 mm². The mesophyll is bilateral with subepiderms tissue and palisade parenchyma present 1-2 layers. The oil idioblast were found in all vegetative organs, however were more abundant in the leaves, in the tissue of primary growth and next to the nodes. In the leaves, the oil idioblast are related to secretory trichomes.

KEY WORDS: Anatomy of vegetative organs, Secretory structure, *Piper hispidinervium* C.DC.

INTRODUÇÃO

A Amazônia abriga espécies vegetais de grande valor econômico, evidenciadas pelos estudos da biodiversidade e que vêm sendo

amplamente pesquisadas. Pesquisadores do Museu Paraense Emílio Goeldi, integrantes do projeto Potencial Econômico de Plantas Aromáticas do Pará, catalogaram aproximadamente 280 espécies de aromáticas em várias famílias (Maia *et al.* 1987) e concentraram inicialmente seus estudos fitoquímicos em *Piper hispidinervium* C. DC.

P. hispidinervium apresenta na constituição química do safrol o grupo piperonila, do qual a partir de pequenas transformações químicas forma compostos orgânicos como o piperonal e o ácido piperonílico, ambos utilizados como inseticida e na indústria de perfumes e de cosméticos (Maia *et al.* 1987). Segundo Silva (1993) esta espécie é vista como de grande perspectiva econômica para o Estado do Pará e para o Brasil, devido a sua participação no mercado internacional de óleos essenciais, além de ser mais uma opção para os agricultores regionais. O autor afirma, que esta planta apresenta-se, atualmente, como uma alternativa promissora, devido a produção do safrol ser de 90 - 94% do óleo essencial, com rendimento que chega a 4% do peso seco.

Segundo Yuncker (1972) a família Piperaceae foi descrita no século XVIII por Linnaeus, que atribuiu-lhe quatro gêneros, sendo o gênero *Piper* descrito em 1737. Este autor informa que no século XIX De Candolle foi um dos cientistas que mais se dedicou ao estudo das Piperaceae, tornando-se grande autoridade nesta família. O mesmo autor também cita que o gênero *Piper* L. está distribuído no Brasil, nos Estados do Amazonas, Acre, Pará, Ceará, Pernambuco, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina.

Segundo Barroso (1978) a família Piperaceae possui cerca de doze gêneros, com 1.400 espécies, sendo que cinco desses gêneros são indígenas e subespontâneos, com 460 espécies no Brasil, cuja distribuição geográfica ocorre em sua maioria nos trópicos, com poucas espécies extratropicais.

A família Piperaceae é representada por plantas de hábito herbáceo, trepador, arbustivo, raramente arbóreo. As folhas são simples, inteiras e alternas. As flores são aclamídeas, andróginas ou unissexuadas, protegidas por bractéolas, pediceladas ou sésseis, geralmente peltadas; androceu formado de 2-6 estames livres, com anteras bitecas ou unitecas, rimosas; ovário súpero, unilocular, uniovulado, formado de 1-5 carpelos, com 1-5 estigmas; óvulo basal, ortótropo. O fruto é uma drupa indeiscente, carnosa, raramente com perisperma e endosperma escasso; o embrião é reduzido (Lawrence 1920; Schultz 1963; Cronquist 1968; Joly 1975 e Barroso 1978). O gênero *Piper* apresenta flores sésseis com mais de um estigma em inflorescência opositifólia (Barroso 1978).

Dentre as espécies aromáticas da família Piperaceae destaca-se *P. hispidinervium* conhecida como “pimenta longa”, nativa da Amazônia, característica de vegetação secundária e natural nos campos de pastagem, no Estado do Acre. Adapta-se muito bem aos solos pobres em nutrientes (Alencar *et al.* 1971) e possui ciclo vital curto, de aproximadamente oito meses, época da primeira floração, quando mede em torno 2 m de altura, momento este propício para o corte da planta (Silva 1993).

P. hispidinervium é um arbusto ou uma árvoreta de 2-7 m de altura, com caule geniculado. As folhas são membranáceas ou cartáceas, elípticas, elíptico-ovadas ou elíptico-lanceoladas. As inflorescências são espigas alongadas, com flores minúsculas e frutos obpiramidais (Yuncker 1972).

Com relação aos aspectos químicos, trabalhos mais recentes registram para a família Piperaceae uma grande quantidade de espécies produtoras de óleo essencial. Na Amazônia, isto foi constatado em mais de dez espécies do gênero *Piper* como fornecedoras de óleo

essencial, algumas aqui relatadas, com seus respectivos produtos e porcentagens produzidas (Maia *et al.* 1987).

Em *P. aduncum* L. o óleo essencial das folhas contém 90% de dilapiol (Gupta *et al.* 1983). Machado *et al.* (1994) informaram que as espécies do gênero *Piper*, produzem óleo essencial em porcentagens e de natureza diversa como *P. arboreum* Aublet var. *latifolium* (C.DC.) Yuncker, cujas folhas produzem 0,03%, e *P. hispidum* Sw. que produz 0.11% dessa substância.

Dentre as espécies de *Piper* produtoras de safrol temos: *P. cavalcantei* Yuncker com 1,9% de rendimento e composição de 69,0% (Alencar *et al.* 1971), *P. auritum* HBK com 70% de composição, *P. callosum* Ruiz & Pav. com 3% de rendimento e composição de 70% e, *P. hispidinervium* com 3-4% de óleo volátil de rendimento e 81 a 88% de composição (Maia *et al.* 1993), quando em estado nativo.

Os espécimes de *P. hispidinervium* selecionados, após propagação vegetativa e com tratamentos culturais adequados, apresentaram rendimento de 98,12% de safrol (Maia *et al.* 1987).

Os óleos essenciais são produtos vegetais separáveis por arraste a vapor d'água. Existem nas plantas em estruturas especiais de secreção, tais como: células oleíferas, cavidades e canais esquizógenos ou lisígenos, originados por separação ou lise de células, respectivamente, e tricomas glandulares. A volatilidade com vapor d'água e a existência em estruturas anatômicas definidas, são mais importantes para a classificação do óleo essencial do que o odor (Gottlieb & Salatino 1987).

P. hispidinervium apresenta, em seus órgãos vegetativos, células oleíferas que eliminam óleos essenciais, como o safrol, que é um fenil-éter volátil e que em sua forma pura, à temperatura ambiente, é um líquido viscoso de aroma canforáceo (Alencar *et al.* 1971).

Até 1958 o safrol era usado intensivamente nos Estados Unidos para aromatizar cervejas e refrigerantes (Anya *apud* Silva 1993), como

agente de fragrâncias em alguns produtos, incluindo ceras, sabões e desinfetantes (Anon *apud* Silva 1993) e, ainda, como inseticida leve, pouco tóxico e biodegradável (Baker *apud* Silva 1993). Esta substância era até algum tempo atrás extraída de uma espécie arbórea conhecida popularmente como “sassafrás”, *Ocotea pretiosa* (Nees) Mez. (Lauraceae), no Estado de Santa Catarina (Alencar *et al.* 1971). Porém, com a exploração abusiva, o risco de extinção da espécie era quase certo, visto que a mesma era cortada no tronco para a extração do óleo da casca (Brown *apud* Silva 1993). Diante disso, o Governo Federal em 1991, através de Decreto nº 1557, publicado no Diário Oficial da União, de 25 de setembro de 1991, proibiu a derrubada de árvores desta espécie.

Na família Piperaceae, *Piper nigrum* L. “pimenta-do-reino”, é uma espécie de grande importância econômica entre as demais espécies da família, usada como condimento, feito com os frutos triturados. Outras, como *Piper betle* L., *Piper methysticum* Forst. e *Piper cubeba* L., também são utilizadas como condimento ou mastigatórias (Cronquist *apud* Silva 1992), enquanto outras espécies são usadas como medicinais.

Quanto aos aspectos anatômicos da família Piperaceae, destacam-se os estudos de Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1950), os quais referem-se à algumas espécies do gênero *Piper* tais como: *P. betle* L., *P. excelsum* Forst., *P. nigrum* L., *P. jaborandi* Vell., *P. methysticum* Forst e *P. fluminense* C.DC., nas quais citaram a ocorrência de células oleíferas nas folhas e em outros órgãos de vários representantes da família Piperaceae, com exceção do gênero *Symbrio*.

No gênero *Piper*, podem ser tomados como referência os trabalhos de Bond (1931) sobre estudos comparativos na endoderme do caule; Mariz (1965) que descreveu a anatomia geral dos órgãos vegetativos; Salatino & Silva (1975) que fizeram a descrição das características anatômicas da folha e Silva (1992) que estudou a anatomia dos órgãos

vegetativos de *P. regnellii* (Miq.) C. DC. Ainda, para o gênero *Piper*, verificou-se a existência de alguns trabalhos como os de Biermann (1898), Lehmann (1925), Metcalfe & Chalk (1950) e Baas & Gregory (1985), os quais fizeram citações sobre as estruturas secretoras de várias espécies do gênero, entretanto, as informações são mais de interesse fitoquímico.

A maioria dos trabalhos sobre o gênero *Piper* concentra-se, principalmente, em *P. nigrum*, e são predominantemente, sobre seu cultivo e produção. Quanto à anatomia dos órgãos vegetativos, raros são os trabalhos para o gênero e para *P. hispidinervium* nenhuma referência foi encontrada na literatura consultada.

Diante do exposto, foram desenvolvidos estudos anatômicos, ao nível de microscopia de luz, de contraste de fase e de varredura com o objetivo de: elucidar a morfologia externa dos órgãos vegetativos da espécie; estudar a estrutura organizacional dos tecidos dos órgãos vegetativos em crescimento primário e secundário, determinando a localização das células oleíferas nos diferentes órgãos; realizar testes histoquímicos com a finalidade de identificar os principais tipos de substâncias; analisar quantitativamente os apêndices epidérmicos, para fornecer o índice estomático e o índice de tricomas secretores da espécie contribuindo para o conhecimento da mesma e subsidiando estudos em áreas afins, como: Fisiologia Vegetal, Ecofisiologia e Fitopatologia.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com plantas adultas de *P. hispidinervium*, provenientes do Município de Campo dos Búfalos, Centro de Pesquisas Agro-Florestais do Acre - CEPAF (AC), onde a espécie é nativa e apresenta maior produção de safrol. Destas foram feitas a propagação vegetativa por estacas, nos campos experimentais da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará - FCAP, nos municípios

paraenses de Benfica e Igarapé-Açu. As amostras utilizadas foram coletadas no Município de Igarapé-Açu (PA), em virtude de apresentarem maior teor de safrol (Maia 1995, comunicação pessoal).

Adotou-se como metodologia a coleta de vinte espécimes adultos, saudáveis e vigorosos de *P. hispidinervium*, que receberam os mesmos tratamentos culturais. Dentre eles foram selecionados cinco espécimes que foram utilizados para a determinação dos índices estomático e de tricomas secretores. Os demais espécimes foram usados nos estudos morfoanatômicos, testes histoquímicos e na preparação de exsiccatas, que encontram-se depositadas no Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi, sob os números: MG 148368 e MG 148667.

Para o estudo anátomo-morfológico foram feitos cortes histológicos de cada indivíduo adulto nas seguintes regiões.

Raiz, porção sub-apical a 10 cm do ápice da raiz primária e da raiz adventícia subterrânea, e a 1 cm do ápice da raiz adventícia aérea (estrutura primária); porções mediana e basal da raiz primária e da raiz adventícia das plantas adultas (estrutura secundária).

Caule, do primeiro e terceiro entrenós (estrutura primária) e do quinto entrenó (estrutura secundária), contados a partir do ápice da planta adulta.

Folhas do primeiro, terceiro e quinto nós, contadas a partir do nó apical, expostas ao sol, de onde foram seccionadas as regiões do ápice, base, limbo, margem, nervura central e pecíolo (Figura 1).

Os valores morfométricos como altura da planta, comprimento e largura da folha, comprimento das espigas, comprimento dos entrenós e das raízes, para a descrição morfológica e área foliar, foram obtidas no campo de plantas adultas, sem auxílio de lupa, em floração e frutificação complementados e comparados com as exsiccatas do herbário e com as descrições de Yuncker (1972).

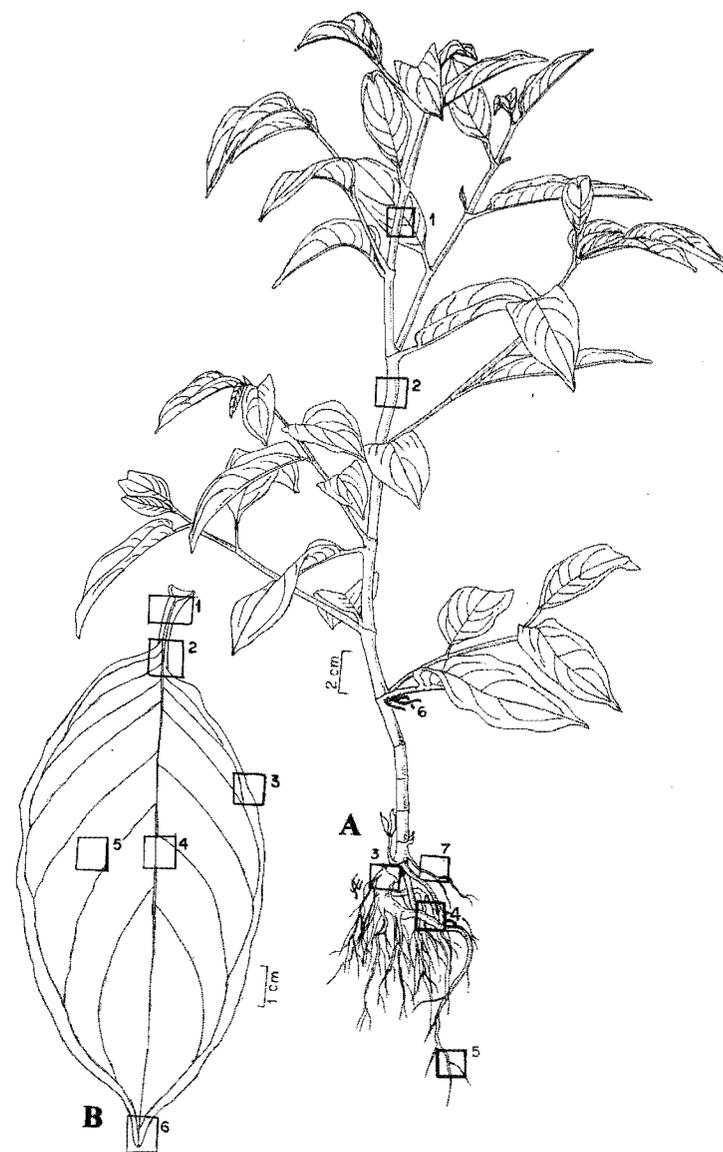


Figura 1 – *P. hispidinervium*: A – Aspecto geral de um indivíduo jovem: 1 – terceiro entrenó; 2 – quinto entrenó; 3 – transição caule/raiz e região basal da raiz primária; 4 – região mediana; 5 – região subapical; 6 – raiz adventícia aérea; 7 – raiz adventícia subterrânea. B – Desenho esquemático da folha: 1 – pecíolo; 2 – base foliar; 3 – margem; 4 – nervura central; 5 – limbo e, 6 – ápice.

O estudo anatômico dos órgãos vegetativos de *P. hispidinervium*, foi realizado com material fresco, fixado em formol, ácido acético e álcool - FAA (Johansen, 1940) e glutaraldeído/fosfato 10% concentrado em solução tampão com pH 7.02 (Gerlach 1977), e a análise foi feita usando-se microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura (MEV), respectivamente. Para a microscopia de luz, procedeu-se a desidratação do material na série alcoólica/xilólica e, para a microscopia eletrônica de varredura foi feita a pós-fixação com tetróxido de ósmio a 3%, em solução tampão/fosfato pH 7,02 seguida de desidratação na série alcoólica.

A partir do material fixado, foram confeccionadas lâminas semi-permanentes dos órgãos vegetativos, raiz, caule e folha. Com auxílio de lâminas de barbear, foram feitos cortes transversais, os quais foram clarificados com hipoclorito de sódio (1:1) aquoso, lavados com água e armazenados em frascos contendo álcool a 50% e corados com azul-de-astra e fucsina básica, com modificação (Gerlach 1977). Outros cortes foram submetidos aos reagentes específicos relacionados a seguir para os testes histoquímicos.

Para a dissociação de epidermes, a folha foi previamente fixada em FAA e retirando-se pequenos seguimentos das seguintes regiões: apical, basal, nervura central, limbo e margem. Estas regiões foram fervidas em ácido nítrico 25% aquoso durante cinco minutos. Após a separação das epidermes adaxial e abaxial, as mesmas foram lavadas em água e coradas com azul de toluidina ou azul-de-astra e fucsina básica, com modificações, (Gerlach 1977) e montandos entre lâmina e lamínula em resina sintética.

A partir de material fixado, foram confeccionadas lâminas permanentes. O material fixado foi emblocado em parafina, seguindo-se a técnica de Johansen (1940), usual em anatomia vegetal, com modificações. Durante a fixação, bem como em cada etapa da série

alcoólica/xilólica e na parafinização, o material permaneceu em ambiente a vácuo, em recipiente hermeticamente fechado, para completa retirada de bolhas de ar dos espaços intercelulares. Os cortes foram feitos com auxílio de micrótomo rotativo Reichert-Jung. A espessura dos cortes variou entre 16 e 20 μ m, submetidos a coloração com azul-de-astra e fucsina básica, com modificações (Gerlach 1977) e montagem das lâminas em resina sintética.

Nas lâminas com epidermes dissociadas, contou-se os apêndices epidérmicos de cinco espécimes em dez campos de cada uma das cinco regiões da folha, citadas anteriormente, para a determinação do índice estomático e do índice de tricomas secretores. Estas contagens e a determinação do campo foliar foram realizadas com auxílio de microscópio Leitz Laborlux S acoplado a um visor. Cada campo foliar de 0,021 mm^2 foi determinada com a projeção de uma escala micrométrica do microscópio para 10 cm^2 do visor. O índice estomático foi obtido de acordo com Salisbury (1927) e o índice de tricomas secretores foi conforme Marion *et al.* (1994), segundo as fórmulas matemáticas abaixo:

Para a frequência de estômatos utilizou-se a seguinte fórmula:

$$SI = \frac{100 \times S}{E + S}$$

S = número de estômatos

E = número de células epidérmicas

Para a frequência de tricomas secretores utilizou-se a seguinte fórmula:

$$HI = \frac{100 \times H}{(E + (2 \times S) + H)}$$

H = número de tricomas

E = número de células epidérmicas

S = número de estômatos

De cada um dos cinco indivíduos foi retirada uma folha do quinto nó do ramo apical, escolhidas cinco regiões conforme a Figura 1-B onde, em cada região foram realizadas dez contagens do número de estômatos de células epidérmicas e de tricomas, num total de cinquenta por indivíduo. Com essas médias encontradas foram feitas as Figuras 14, 17-18. A análise dos dados foi segundo Gomes (1990), aplicando-se o teste "t" com 95% de probabilidade das contagens significativas. Nas diferentes camadas do mesofilo notou-se um número variado de células oleíferas, sendo que de 1-3/mm foram consideradas como pouco freqüente, de 4-5 freqüente e, de 6-8 células oleíferas/mm, muito freqüente.

No caule, em corte transversal, foram feitas contagens de células oleíferas nos sete primeiros entrenós a partir do ápice, estabelecendo-se os seguintes limites médios por corte transversal: 40-50 muito freqüente, 20-30 considerado freqüente e abaixo de vinte células oleíferas, pouco freqüente.

Os testes histoquímicos foram realizados em material fresco para detectar os seguintes tipos de substâncias: para **lipídeos**, sudan IV, coloração rósea a vermelha (Johansen 1940); para **amido**, solução de lugol, coloração roxa a negra (Johansen 1940); para **mucilagem** e **pectina**, azul de metileno aquoso e alcoólico 0,5%, cora-se em azul mais intenso (Salatino & Silva 1975); para as **paredes cutinizadas** e **suberificadas**, fluoroglucina em meio ácido, coloração vermelha (Foster 1949; Johansen 1940); para **celulose**, iodeto diluído, coloração amarela (Johansen 1940); para **silica**, fenol, coloração rósea (Johansen 1940); para **alcalóides**, iodo e iodeto de potássio, precipitado de cor parda (Johansen 1940) e para identificar **células oleíferas**, sudan IV e sudan black B, coloração vermelha e negra, respectivamente (Johansen 1940; Jensen 1962).

Foi utilizado também o reagente universal ou de Steimetz, obtendo-se as seguintes reações: **cutina** e **suberina** em vermelho, **amido** em

negro, **celulose** pelas paredes transparentes, **lignina** em amarelo-ouro, **mucilagem** pela precipitação e coloração branca ou amarela, **células oleíferas** coradas em vermelho, **alcalóides** pela coloração e microcristalização em pardo.

A natureza dos **cristais** foi testada com o uso de ácido clorídrico e ácido acético (Chamberlain 1938). Quando diluíam-se no ácido clorídrico e mantinham-se em ácido acético, isto indicava que os cristais eram de oxalato de cálcio.

Para o estudo da venação foliar foram coletadas três folhas desenvolvidas, do quinto nó, previamente fixadas em FAA. Estas foram mergulhadas em solução de hidróxido de sódio 5% aquoso, trocadas a cada 24 h até a clarificação, seguida de lavagem em água corrente e coloração em safranina 1% em álcool 50% (Johansen, 1940). A montagem entre lâmina e lâmina e entre lâmina e lamínula, foi feita em resina sintética. A descrição e classificação foram baseadas em Handro (1964), Felipe & Alencastro (1966) e Hickey (1973).

As lâminas foram fotomicrografadas com auxílio de câmara fotográfica acoplada ao microscópio de luz, e ao microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM - 5400 LV.

Os desenhos esquemáticos foram feitos com o auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio estereoscópico Zeiss, e as escalas foram obtidas com projeção de régua milimétrica. As abreviaturas encontram-se em ordem alfabética nas legendas de cada figura.

RESULTADOS

Descrição da planta

Arbusto ou arvoreta de 2-7 m de altura, caule geniculado. Folhas alterna, dística, pecioladas, com estípulas adnatas ao pecíolo, as quais sofrem abscisão por volta do quarto nó, a partir do ápice; pecíolo curto,

contorcido nas plantas adultas, limbo membranáceo ou cartáceo, elíptico-ovado ou elíptico-lanceolado, 5-10 (raro até 23 cm) de comprimento e 4-7 cm de largura, sendo a área foliar média de 378 mm², ápice curtamente acuminado, base assimétrica, arredondada, ou cordiforme e margem inteira (Figuras 1-2), opacas em ambas as faces, finamente pubescente na inferior, os tricomas quase adpressos sobre as nervuras primária e secundárias e os tricomas secretores caducos.

O caule apresenta ramificação do tipo simpodial monocásica. Em plantas com aproximadamente oito meses, a distância entre os nós varia. Na base do caule, entre o primeiro e o segundo nó, a distância é de 4 cm. entre o oitavo e o nono nó, a distância atinge 15,4 cm e, a partir daí, a distância entre os nós diminui gradativamente, medindo 0,4 mm no vigésimo segundo entrenó ou entrenó apical. Nos ramos laterais, tomando como exemplo um ramo mediano, a distância entre os nós é maior próximo ao ramo principal, onde mede 10 cm, declinando até 1,1 cm no entrenó apical ou décimo entrenó. Em plantas adultas observam-se lenticelas na base do caule e, no ápice ocorre prófalo envolvendo a gema apical.

A raiz primária apresenta-se pouco desenvolvida e curva, assumindo posição paralela à superfície do solo. Dela, partem as raízes secundárias bem desenvolvidas e amplamente ramificadas. Observa-se, ainda, que as raízes adventícias originam-se ao nível do nó, na base do caule e, raízes adventícias aéreas na inserção dos ramos laterais basais. As raízes adventícias secundárias são bem desenvolvidas e amplamente ramificadas. O sistema radicular como um todo assemelha-se a um sistema radicular fasciculado (Figura 1A).

As inflorescências ocorrem em nós, opostos às folhas e, as flores são sésseis dispostas numa raque, caracterizando uma inflorescência do tipo espiga (Figura 2). Estas são alongadas e curvas com 7-14 cm de comprimento e 2,5-3,5mm de diâmetro, com flores minúsculas,

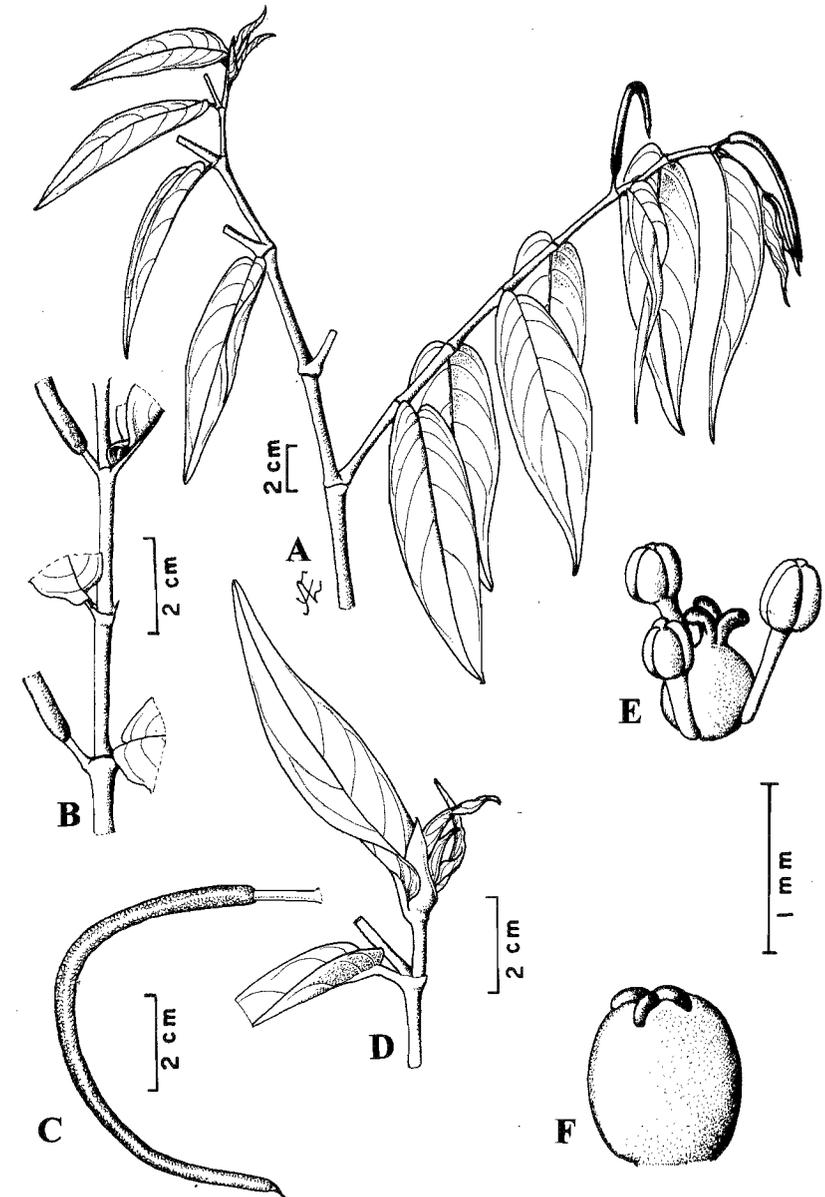


Figura 2 - *P. hispidinervium* - Aspectos morfológicos de um indivíduo adulto: A - ramo apical; B - inserção da espiga oposta à folha; C - detalhe da espiga; D - ápice caulinar envolvido por prófalo; E - flor andrógina e, F - fruto.

aclamídeas, andróginas, medindo aproximadamente 1,2 mm de comprimento e igual tamanho na largura com 1-2 brácteas triangular-subpeltadas.

O androceu é formado por três estames livres com os filetes inseridos na base do ovário e as anteras ligeiramente acima do estigma, globosas, basifixas, tetraesporangiadas com duas aberturas apicais. Os grãos do pólen são elípticos, unicolpados e unisulcados, medindo em torno de 8,6 mm no eixo equatorial maior e 6,12mm no eixo equatorial menor.

O gineceu apresenta ovário súpero, tri-carpelar, sincárpico, unilocular e uniovulado; óvulo basal ortótopo. Os três estigmas são papilosos e sésseis, persistindo no fruto.

Os frutos são do tipo drupa, obpiramidal e, a maturação das sementes se dá em sentido acrópeto (Figura 2).

Anatomia dos órgãos vegetativos

Três tipos de raízes foram observadas em *P. hispidinervium*: primária, adventícia subterrânea e adventícia aérea (Figura 1A). O corte transversal destes três tipos de raízes, em crescimento primário, na região subapical, verificou-se que apresentam tecido de revestimento formado por 1-3 camadas de células epidérmicas suberificadas, com escamação da camada mais externa; nesta fase ainda não evidencia-se o felogênio. Subjacente ao tecido epidérmico, ocorre uma região cortical formada por várias camadas de células heterodimensionais. Neste tecido há cerca de seis camadas de células parenquimáticas na raiz principal, quatorze na raiz adventícia subterrânea e vinte e cinco camadas na adventícia aérea. O estrato de células mais interno desta região é rico em amiloplastos e limitado internamente por uma endoderme com estrias de Caspary pouco evidente (Figuras 3A,B,C).

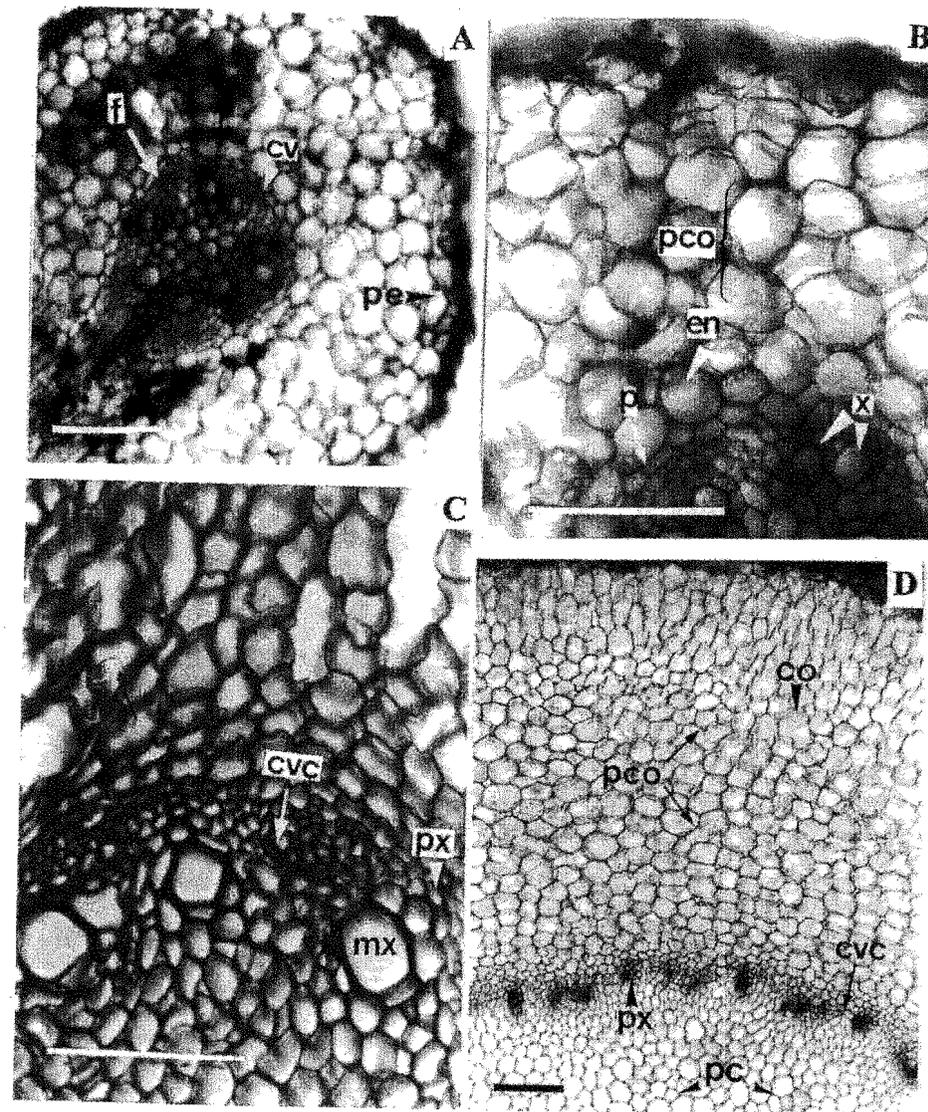


Figura 3 – *P. hispidinervium* - Corte transversal da raiz: A – Região subapical da raiz primária (escala = 100mm); B – Detalhe da região subapical da raiz primária (escala = 100mm); C – Região subapical da raiz adventícia subterrânea (escala = 100mm); D – Região subapical da raiz adventícia aérea (escala = 100mm). Câmbio vascular (cvc); célula oleífera (co); cilindro vascular (cv); endoderme (en); floema (f); metaxilema (mx); parênquima central (pc); parênquima cortical (pco); periciclo (p); periderme (pe); p toxilema (px) e, xilema (x).

A região vascular, ainda da porção subapical, nos três tipos de raízes, é limitada externamente por um periciclo uniestratificado. A raiz primária é formada por cerca de seis pólos de protoxilema e seis cordões de protofloema intercalados; a raiz adventícia subterrânea, por cerca de nove pólos de protoxilema e metaxilema alternados por cordões de protofloema e a raiz adventícia aérea é formada por cerca de sessenta pólos de protoxilema e protofloema, organizados circularmente. O parênquima central é limitado pelo cilindro vascular, formado por células heterodimensionais, com paredes delgadas e com poucos espaços intercelulares (Figuras 3A,B,C).

A região mediana dos três tipos de raízes acima mencionados, em corte transversal, revela um crescimento secundário, onde o tecido de revestimento é composto por uma periderme. Na raiz primária e adventícia subterrânea, percebe-se que subjacente a periderme, ocorre uma faixa descontínua de esclerênquima, formada por agrupamentos de fibras separados por 1-2 células parenquimáticas no sentido radial (Figuras 4A,B,C). Já, na adventícia aérea, não ocorre esses agrupamentos de fibras e a região cortical mantém aproximadamente o mesmo

acima, em crescimento primário. Entretanto, observa-se ainda nesta região, a ocorrência de células em divisão anticlinal, permitindo que a mesma, apresente crescimento em espessura (Figuras 4A,B,C,D).

A região vascular também caracteriza um crescimento secundário, principalmente na raiz primária e adventícia subterrânea, onde é evidente a presença de anel cambial, originando o floema, o xilema o parênquima axial esclerificado e os raios. Na porção externa das cunhas de xilema, observa-se pólos de protoxilema separados por raios de origem pericíclica. Na adventícia aérea, a região vascular é pouco desenvolvida, o câmbio vascular é quase imperceptível e o número de pólos de xilema e floema permanecem praticamente inalterados com relação a região subapical desta raiz (Figuras 4A,B,C,D).

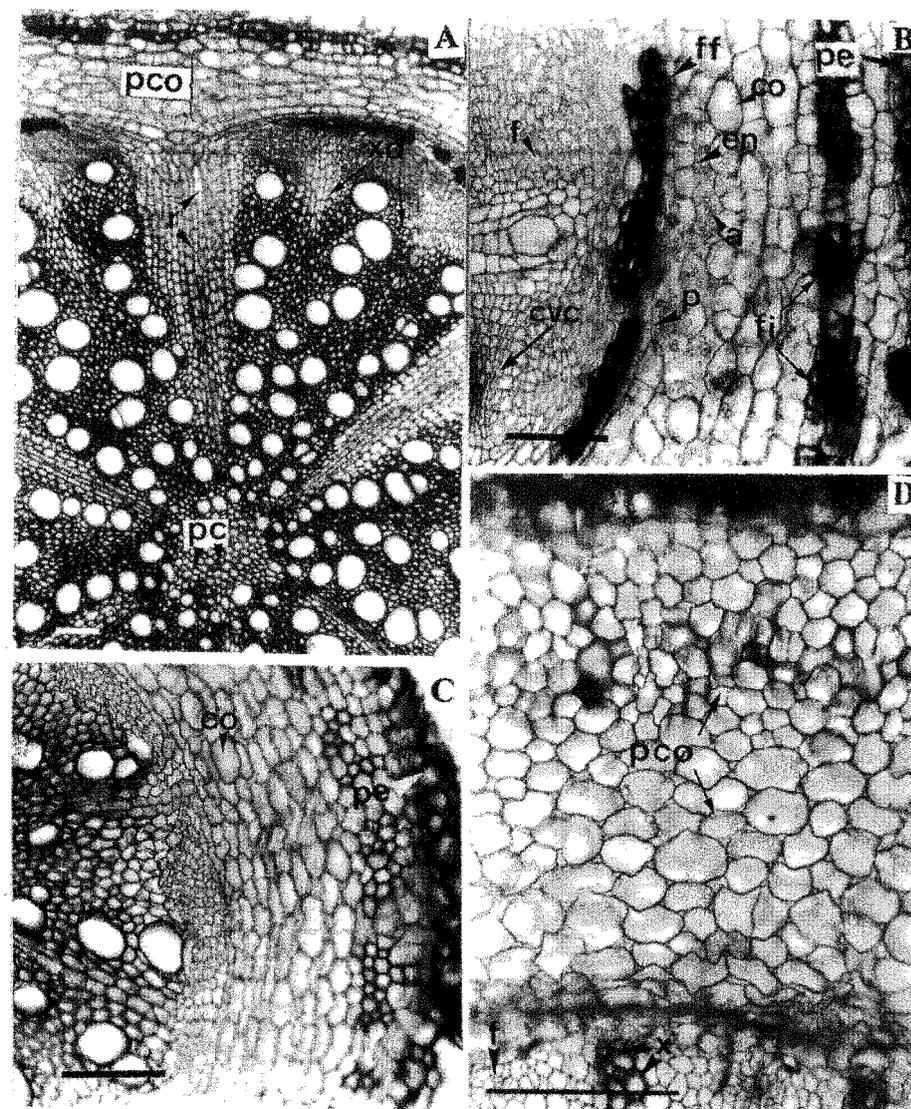


Figura 4 - *P. hispidinervium* - Corte transversal da raiz: A - Região mediana da raiz primária (escala = 100mm); B - Detalhe da região mediana da raiz primária (escala = 100mm); C - Região mediana da raiz adventícia subterrânea (escala = 100mm); D - Região mediana da raiz adventícia aérea (escala = 100mm). Amiloplasto (a); câmbio vascular (cvc); célula oleífera (co); endoderme (en); fibras (fi); fibras floemáticas (ff); floema (f); parênquima central (pc); parênquima cortical (pco); periciclo (p); periderme (pe); raios (r); xilema (x) e, xilema dividido (xd).

Na porção basal da raiz primária, verifica-se uma região de transição, cuja organização estrutural dos tecidos assemelha-se ora ao caule ora a raiz. O tecido de revestimento é simples, uniestratificado e, a região cortical apresenta camadas de células esclerificadas e células ricas em amiloplastos, semelhantes ao caule. Limitando esta região internamente, nota-se a endoderme com estria de Caspary, o periciclo e as fibras floemáticas, semelhantes a raiz. Na região central, os feixes vasculares são distribuídos circularmente, separados por tecido parenquimático formado por células de paredes delgadas, em intensa divisão celular, semelhantes ao caule (Figuras 5A,B,C,D).

Testes histoquímicos realizados nas diferentes regiões das raízes primária e adventícia, com suas respectivas localizações, e o resultado é apresentado na Tabela 1.

Caule

Nos cortes transversais, em crescimento primário, da região mediana do primeiro, segundo e terceiro entrenós apicais de plantas adultas, os tecidos apresentam a mesma organização, onde a epiderme é uniestratificada, com estômatos distribuídos aleatoriamente, cutícula delgada com numerosos tricomas simples e glandulares (Figura 6A).

Anexo à epiderme ocorre a região cortical, preenchida, fundamentalmente, por células parenquimáticas irregulares com células oleíferas distribuídas entre agrupamentos de colênquima e células cristalíferas. Os agrupamentos de colênquima, em torno de vinte e seis, encontram-se separados entre si por 3-6 células parenquimáticas, alongadas no sentido radial. Cada agrupamento é formado por seis estratos de células com espessamentos angulares. Os cristais são em forma de ráfides, aciculares ou poliédricos. Esta mesma região do caule revela que o sistema vascular é formado por duas camadas de feixes, uma camada externa e outra interna (Figura 6A).

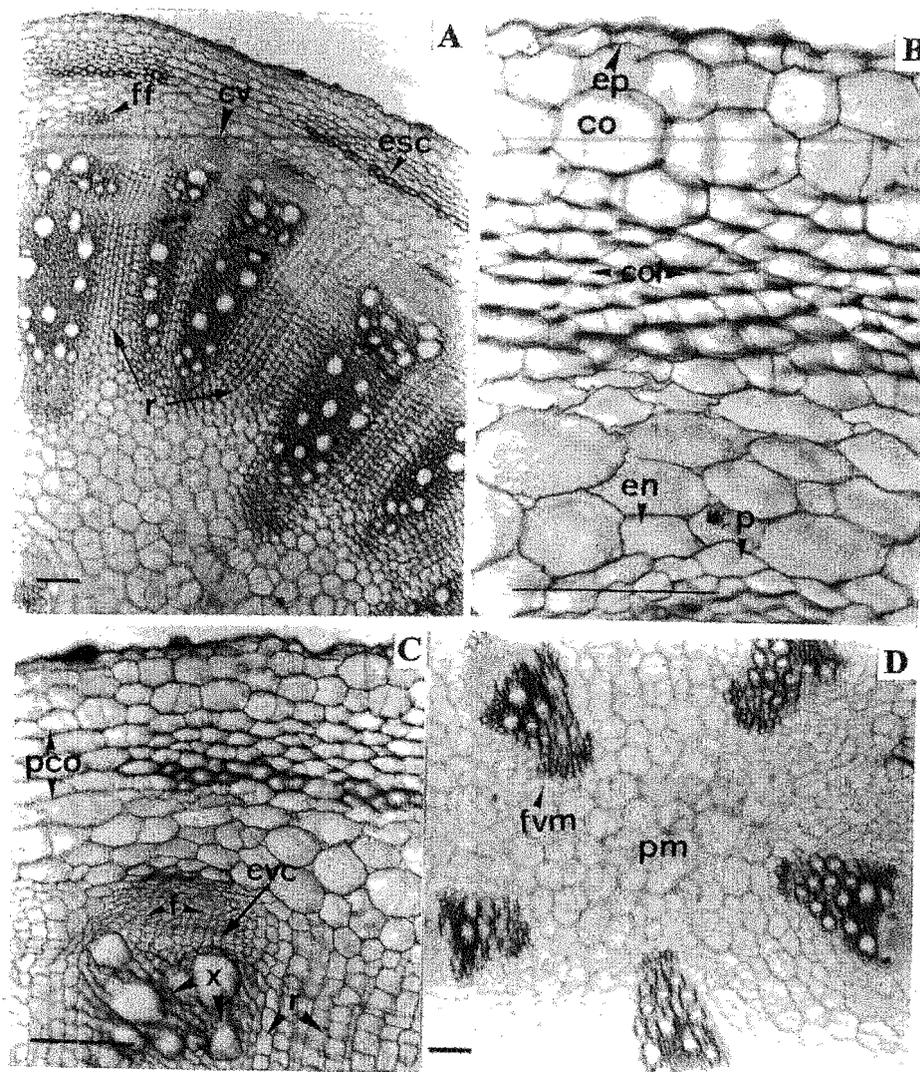


Figura 5 – *P. hispidinervium* - Corte transversal da região de transição raiz/caule: A – Aspecto geral da região de transição raiz/caule (escala = 100mm); B – Detalhe da região cortical (escala = 50mm); C – Detalhe do cilindro vascular (escala = 100mm); D – Aspecto geral dos feixes vasculares da região medular (escala = 100mm). Câmbio vascular (cvc); célula oleífera (co); cilindro vascular (cv); colênquima (col); endoderme (en); epiderme (ep); esclerênquima (esc); floema (f); feixe vascular medular (fvm); parênquima cortical (pco); parênquima medular (pm); periciclo (p); raios (r) e, xilema (x).

Tabela 1 - Constituintes e conteúdos celular identificados nas raízes principal e adventícia de *P. hispidinervium* nas regiões subapical e basal.

Constituintes e Conteúdo Celular	Regiões	
	Subapical	Basal
Amiloplasto	parênquima cortical próximo à endoderme	Parênquima medular e raios
Suberina	nas células do súber que sofrem descamação e nas estrias de Caspary da endoderme	no súber e nas estrias de Caspary da endoderme
célula oleífera	pouco freqüente na região cortical	Pouco freqüente na região cortical
células de mucilagem	pouco freqüente na região cortical	Abundantes na região cortical e nos raios
celulose/pectina	no câmbio, floema e periciclo	no câmbio, floema e periciclo
lignina	Subjacente a periderme e no parênquima central	Subjacente a periderme e no parênquima central
Cristais de oxalato de cálcio	somente na região cortical da raiz adventícia aérea	Ausentes

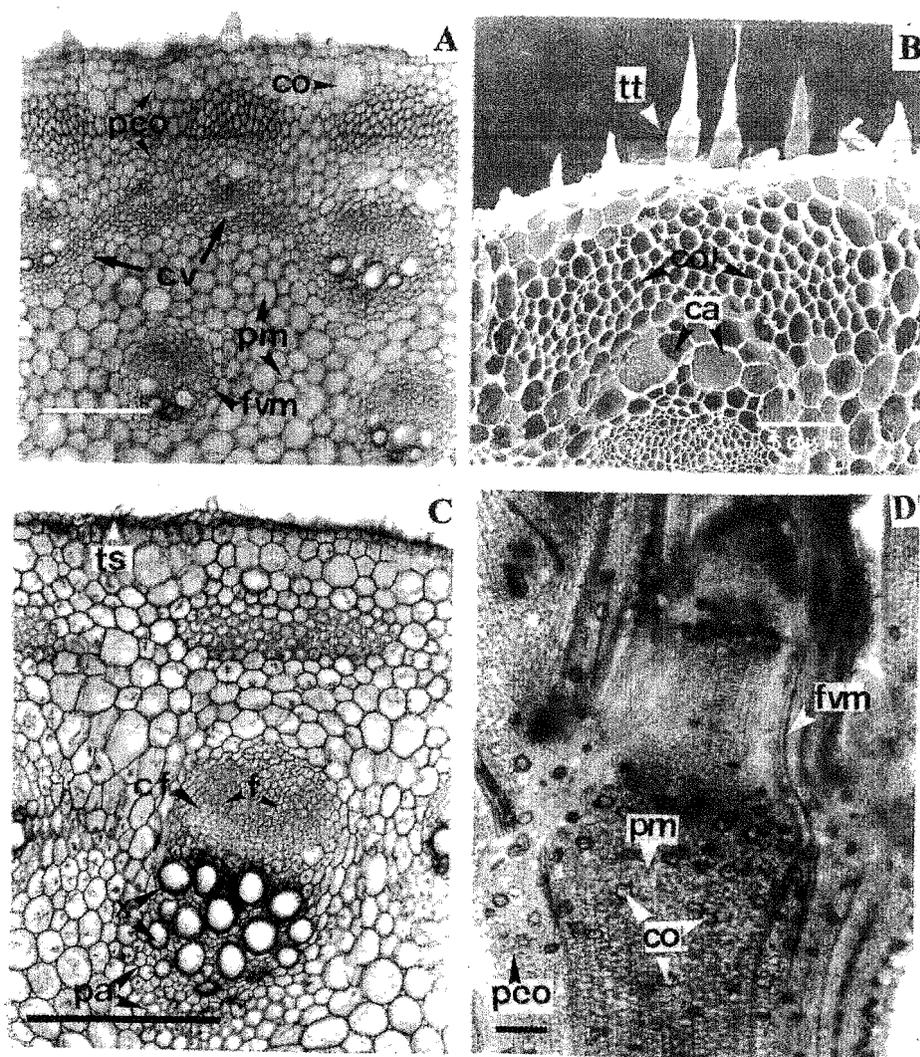


Figura 6 - *P. hispidinervium* - Corte transversal do caule: A - Aspecto geral da região mediana do terceiro entrenó (escala = 100mm); B - Detalhe da região cortical do terceiro entrenó (MEV); C - Detalhe do cilindro vascular (escala = 100mm); D - Aspecto geral do ápice caulinal em corte longitudinal (escala = 100mm). Camada amilífera (ca); câmbio fascicular (cf); célula oleífera (co); cilindro vascular (cv); colênquima (col); floema (f); feixe vascular medular (fvm); parênquima axial (pa); parênquima cortical (pco); parênquima medular (pm); tricoma secretor (ts); tricoma tector (tt) e, xilema (x).

A camada mais externa apresenta cerca de trinta e três feixes colaterais abertos, xilema constituído por apenas 1-6 elementos de vaso, e uma faixa interna de parênquima axial formado por aproximadamente quatro estratos de células poligonais que já apresentam um início de deposição de lignina nas paredes secundárias; algumas vezes esta faixa é interrompida (Figura 6A). Em cada feixe, ao nível do floema, observa-se a endoderme formada por uma camada de células maiores que as demais do parênquima cortical, ricas em amiloplastos (Figura 6B).

A camada mais interna é formada por dezesseis feixes vasculares colaterais, dispersos circularmente entre células do parênquima medular, as quais são ricas em cristais em forma de ráfides, aciculares e poliédricos. Os amiloplastos ocorrem, principalmente, ao nível do floema, porém são menos abundantes que na região cortical. Na Figura 6B evidenciam-se as células oleíferas pelo seu maior tamanho e por possuírem paredes delgadas que coram-se diferentemente das demais células do tecido onde se encontram. Estas, localizam-se principalmente próximo aos feixes vasculares (Figura 6C).

Na região mediana do terceiro entrenó observa-se que a organização dos tecidos assemelham-se aos dois entrenós acima mencionados. Entretanto, apresenta algumas modificações como: epiderme com menor número de tricomas, agrupamentos colenquimáticos, cujas paredes primárias apresentam espessamentos desiguais e células mais internas que sofrem deposição de lignina em suas paredes, originando gradativamente um tecido esclerenquimático (Figura 6B).

Em corte longitudinal, ao nível do primeiro nó, há grande concentração de células oleíferas na região nodal (Figura 6D).

O corte transversal do caule em estrutura secundária, na região mediana do quinto entrenó, observa-se, ainda, um revestimento primário com epiderme uniestratificada, intercalada raramente por tricomas tectores e secretores, predominando os do primeiro tipo. A região

cortical também apresenta vinte e seis agrupamentos colenquimáticos, na porção externa e esclerenquimático na porção interna. Não foi observado aumento em estrato de células parenquimáticas nesta região, e sim, divisões anticlinais propiciando um aumento de diâmetro neste órgão (Figuras 7A,B).

O anel cambial é a característica anatômica mais forte e que revela um crescimento secundário a partir deste entrenó, ao lado de outras características anatômicas, como a presença de esclereídeos próximo ao colênquima e a esclerificação da faixa que acompanha internamente o cilindro vascular contínuo (Figuras 7A,B,D).

Ao nível do floema, observa-se uma camada externa de células com amiloplastos, caracterizando uma endoderme (Figura 7B). Neste entrenó ocorrem trinta e sete feixes vasculares formando o cilindro vascular (Figura 7A). Um corte longitudinal ao nível da região mediana do quinto entrenó, revelou células colenquimáticas alongadas e presença de células oleíferas entre as células do parênquima cortical (Figura 7C).

Os cristais de oxalato de cálcio em forma de ráfides são mais abundantes no parênquima central que no cortical. As células do parênquima central são semelhantes às do parênquima cortical, porém são maiores, mais arredondadas e com paredes mais delgadas. As células oleíferas são menos abundantes permanecendo próximas à epiderme e aos feixes vasculares (Figura 7A).

A Tabela 2 apresenta o resultado dos testes histoquímicos feitos em diferentes regiões do caule, com as respectivas localizações nos tecidos onde estes ocorrem. Observou-se que o teste para mucilagem feitos com azul de metileno, reagiu fortemente para as células da medula, sendo ainda mais intensa na região do nó apical. Isto foi confirmado com o reagente universal de Steimetz, também para os outros tipos de substâncias conforme tabela abaixo, com resultados positivos para todos.

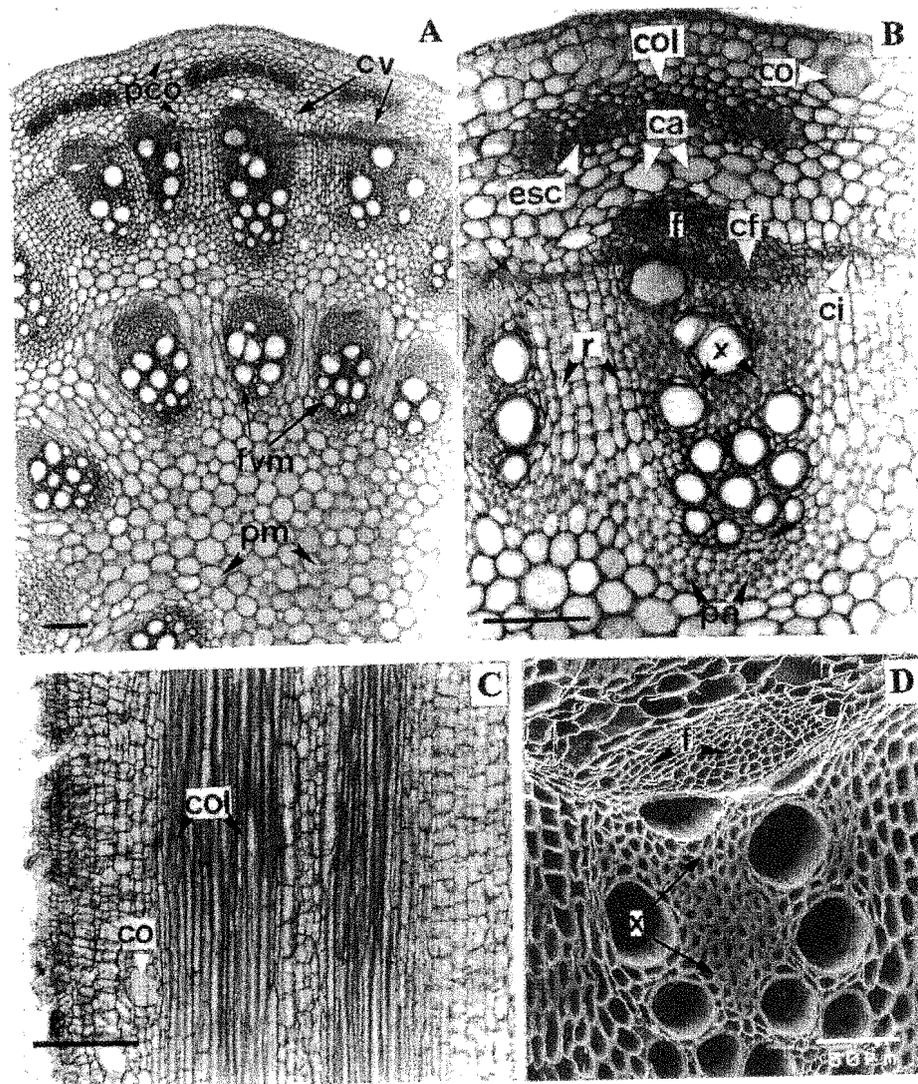


Figura 7 - *P. hispidinervium* - Corte transversal do caule: A - Aspecto geral da região mediana do quinto entrenó (escala = 100mm); B - Detalhe do quinto entrenó (escala = 100mm); C - Corte longitudinal do quinto entrenó (escala = 100mm); D - Detalhe do cilindro vascular (MEV). Camada amilífera (ca); câmbio fascicular (cf); câmbio interfascicular (ci); célula oleífera (co); cilindro vascular (cv); colênquima (col); esclerênquima (esc); floema (f); feixe vascular medular (fvm); parênquima axial (pa); parênquima cortical (pco); parênquima medular (pm); raios (r) e, xilema (x).

Tabela 2 - Constituintes e conteúdo celular na região mediana do entrenós do caule de *P. hispidinervium* e a sua localização.

Constituintes e Conteúdo Celular	Regiões	
	primeiro entrenó	quinto entrenó
amiloplasto	Endoderme ao nível do floema do cilindro vascular	Endoderme ao nível do floema do cilindro vascular
cutina e suberina	nas células epidérmicas, sobre os tricomas e nas paredes das células oleíferas	nas células epidérmicas, sobre os tricomas e nas paredes das células oleíferas
célula oleífera	presente na região cortical e menos abundante no parênquima medular	pouco abundante na região cortical e na região medular
célula de mucilagem	na região medular	Na região medular
celulose/pectina	nas células parenquimáticas no câmbio e floema	nas células parenquimáticas no câmbio e floema
Lignina	no colênquima e no xilema	no colênquima e no xilema
cristais de oxalato de cálcio	nas células parenquimáticas, principalmente na região medular	nas células parenquimáticas, principalmente na região medular
Alcalóides	nas células parenquimáticas da região cortical	nas células parenquimáticas da região cortical
corpos silicosos	Ausente	na epiderme e subepiderme

FOLHA

Pecíolo

A folha de *P. hispidinervium* apresenta base assimétrica e pecíolo curto, côncavo na face ventral e convexo na face dorsal (Figura 1B). Um corte transversal na região basal do pecíolo revelou que o mesmo é revestido por uma camada de células epidérmicas, cobertas por uma fina cutícula e intercaladas por tricomas simples, cônicos e por tricomas glandulares em forma de saco. A epiderme abaxial, é formada por células arredondadas, heterodimensionais. Junto à epiderme abaxial ocorre uma região cortical formada por 2-3 estratos de células aclorofiladas, sem cristais, as quais limitam-se internamente com os agrupamentos colenquimáticos do tipo angular. Cada agrupamento é constituído por 6-9 estratos de células, opostos ao feixe vascular e dispostos em semicírculo próximo à epiderme abaxial. A epiderme adaxial é semelhante a abaxial e apresenta uma região cortical também aclorofilada com aproximadamente seis estratos, formados por células alinhadas radialmente com as células epidérmicas (Figura 8A).

Na região mediana do pecíolo, quatorze feixes vasculares estão organizados em forma semicircular na região convexa do órgão, protegidos por uma camada de colênquima. A composição dos feixes inclui um xilema semicircular, floema que o acompanha, e entre eles um tecido semelhante ao câmbio fascicular (Figuras 8B,C).

O parênquima fundamental é formado por células arredondadas, de paredes delgadas, algumas contendo amiloplastos, formando uma camada amilífera margeando o floema, e quase todas contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de ráfides e cristais poliédricos (Figuras 8A, B, C, D).

As células oleíferas são mais abundantes na subepiderme e se destacam principalmente pela sua forma esférica, pelo tamanho em relação

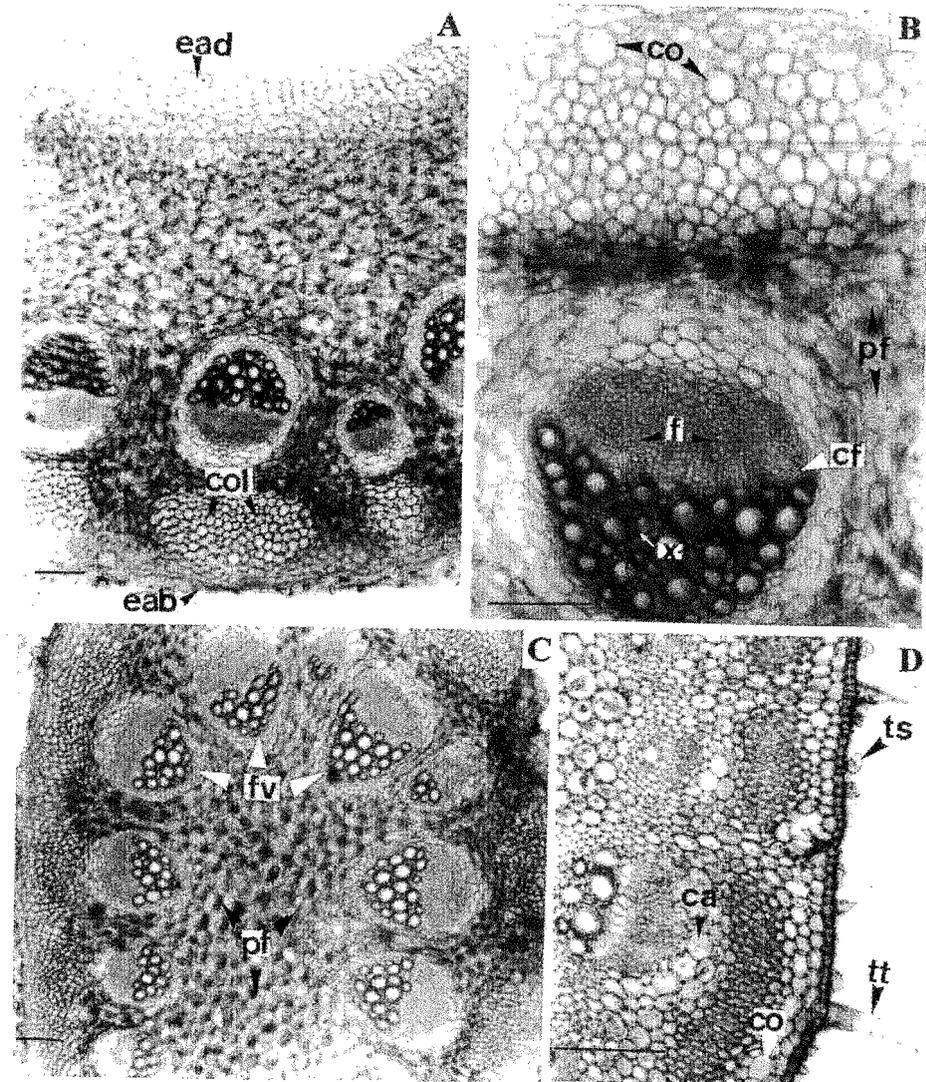


Figura 8 - *P. hispidinervium* - Corte transversal do pecíolo: A - Aspecto geral da região basal (escala = 100mm); B - Detalhe da região basal (escala = 100mm); C - Aspecto geral da região mediana (escala = 100mm); D - Detalhe da região mediana (escala = 100mm). Camada amilífera (ca); câmbio fascicular (cf); célula oleífera (co); colênquima (col); epiderme abaxial (eab); epiderme adaxial (ead); floema (f); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf); tricoma secretor (ts); tricoma tector (tt) e, xilema (x).

às demais células e pelas paredes suberizadas, que coram-se por reagente específico (Foster 1949; Johansen 1940), (Figuras 8B, D).

Na região proximal do pecíolo, a maioria dos tecidos e estruturas anatômicas são semelhantes as das regiões mediana e distal, com exceção dos tricomas que tornam-se mais abundantes nesta última.

Os feixes vasculares permanecem com a mesma organização interna nas três regiões do pecíolo, porém, sua disposição é semicircular na região distal, tornando-se circular na região mediana e circular assimétrica na região próximo-à base do limbo foliar em face a concavidade desta região.

Testes histoquímicos foram realizados na região mediana do pecíolo, do primeiro e do quinto nó, com suas respectivas localizações e o resultado é apresentado na Tabela 3.

Nervura central e mesofilo

Um corte transversal da nervura central, na base da folha, revelou que a organização anatômica dos tecidos é muito semelhante a do pecíolo, com região ventral côncava e dorsal convexa. A epiderme adaxial é formada por células de diferentes tamanhos cobertas por cutícula delgada e intercaladas por tricomas simples e secretores. A hipoderme aclorofilada que ocorre no mesofilo é substituído por um colênquima angular na nervura central. Na região cortical subjacente ao colênquima, ocorrem 1-2 estratos de parênquima clorofiliano e, próximo à epiderme abaxial, nota-se um colênquima contínuo formado por 3-5 estratos de células com espessamento angular (Figuras 9A, B).

O parênquima fundamental é formado por células arredondadas heterodimensionais, ricas em cristais do tipo ráfides e poliédricos. Nota-se nesta região foliar, seis feixes vasculares dispostos em semicírculo, com o floema voltado para fora e xilema para dentro. O tecido

Tabela 3 - Constituintes e conteúdo celular identificados no pecíolo de *P. hispidinervium*.

Constituintes e Conteúdo	Regiões	
	Primeiro nó	quinto nó
Celular	Endoderme ao nível do floema do cilindro vascular	Endoderme ao nível do floema do cilindro vascular
Amiloplasto	nas células epidérmicas, sobre os tricomas e nas paredes das células oleíferas	nas células epidérmicas, sobre os tricomas e nas paredes das células oleíferas
cutina e suberina	presente na região cortical e menos abundante no parênquima medular	pouco abundante na região cortical e na região medular
células oleíferas	na região medular	na região medular
células de mucilagem	nas células parenquimáticas, no câmbio e floema	nas células parenquimáticas no câmbio e floema
celulose/pectina	Na camada de células esclerificadas subjacente ao colênquima e no xilema	Na camada de células esclerificadas subjacente ao colênquima e no xilema
Lignina	nas células parenquimáticas, principalmente na região medular	nas células parenquimáticas, principalmente na região medular
cristais de oxalato de cálcio	nas células parenquimáticas da região cortical	nas células parenquimáticas da região cortical
Alcalóides		

colenquimático apresenta em torno de seis estratos de células e localiza-se próximo à epiderme (Figura 9A).

À medida que se distancia da base, o número de feixes vasculares diminui gradativamente, passando de seis feixes na base foliar para três feixes na região mediana e um feixe na região apical (Figuras 9A,B,C).

Na região mediana da nervura central a epiderme adaxial apresenta células irregulares, maiores que as da face abaxial. Subjacente à esta ocorre uma hipoderme formada de 2-3 células sem conteúdo, seguindo-se o parênquima paliçádico que é bisseriado, conectando-se com o parênquima lacunoso. Na subepiderme abaxial, nota-se que o colênquima é contínuo e formado de 2-3 estratos de células com espessamento angular. As células oleíferas ocorrem em menor número (Figura 9B) e os tricomas simples localizam-se principalmente sobre a epiderme abaxial.

Os três feixes vasculares estão dispostos em semicírculo, com o floema voltado para cima em direção a epiderme adaxial e o xilema para baixo em direção a epiderme abaxial, nos quais observa-se uma camada de tecido esclerenquimático ao nível do floema (Figura 9B).

Na região apical da folha, a nervura primária apresenta um único feixe vascular central envolvido por uma bainha esclerenquimática. Um colênquima contínuo e bisseriado dispõe-se sob a epiderme abaxial e sob a adaxial uma hipoderme uniestratificada. Os cristais e células oleíferas são menos abundantes que nas outras regiões da folha. Os tricomas simples ocorrem com maior frequência na epiderme adaxial (Figura 9C).

Um corte transversal da lâmina foliar revelou que o mesofilo é dorsiventral com epiderme uniestratificada. A epiderme adaxial é constituída por células quadradas e retangulares, cobertas por uma fina cutícula, seguida de hipoderme constituída por 2-3 estratos de células aclorofiladas, praticamente sem espaços intercelulares, poliédricas ou

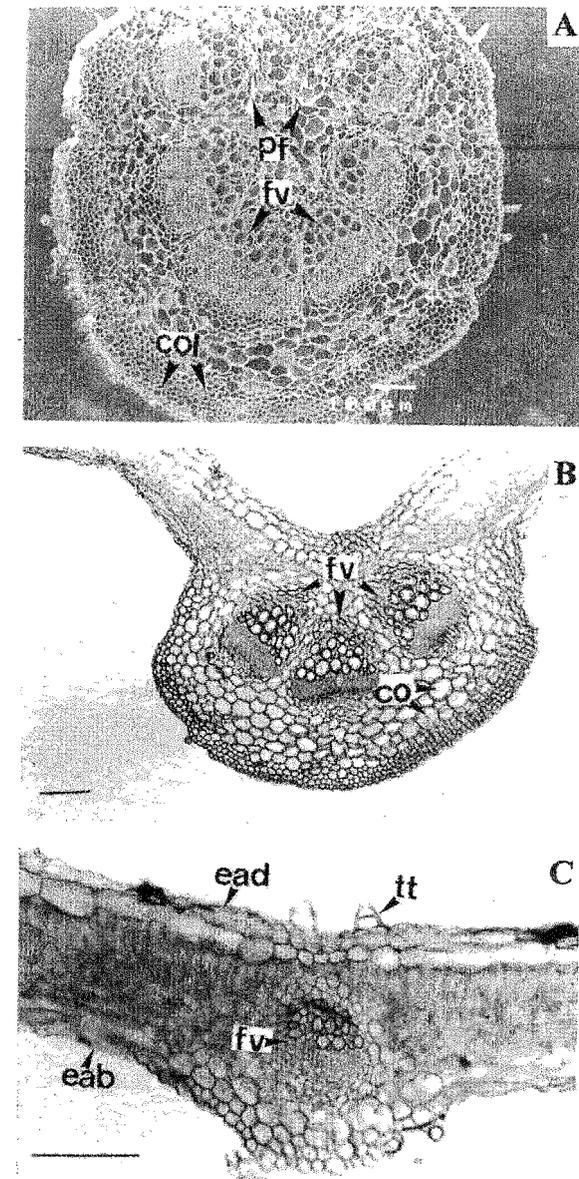


Figura 9 – *P. hispidinervium* - Corte transversal da nervura central: A – Aspecto geral da região basal (MEV); B – Aspecto geral da região mediana (escala = 100mm); C – Aspecto geral da região apical (escala = 100mm). Célula oleífera (co); colênquima (col); epiderme abaxial (eab); epiderme adaxial (ead); feixe vascular (fv); parênquima fundamental (pf) e, tricoma tector (tt).

arredondadas e desalinhas das células epidérmicas. As células oleíferas estão presentes nos diferentes tecidos da folha, e mais concentradas no parênquima lacunoso (Figuras 10A, B).

A epiderme abaxial, em corte transversal, é constituída por células semelhantes às da epiderme adaxial em forma e tamanho, diferenciando-se principalmente pela alta concentração de gotículas de óleo no interior destas, as quais reagiram positivamente ao teste para lipídeos com Sudan IV (Figuras 10A, 11A). Na mesma epiderme predominam os tricomas glandulares, abundantes, principalmente, nas folhas jovens (Figuras 12A, B). Estes formados por duas células, sendo uma basal e outra apical dilatada em forma de saco, onde contêm material de natureza lipídica pardo-amarelado, que também reagiu positivamente ao teste histoquímico com Sudan IV (Figura 12B). O parênquima clorofiliano compreende duas camadas de parênquima paliçádico, formado de células alongadas e justapostas deixando pequenos espaços intercelulares, e parênquima lacunoso constituído por 3-4 camadas de células arredondadas, com espaços intercelulares irregulares, característico deste tecido. O parênquima paliçádico equivale a 1/3 da espessura do mesofilo (Figuras 10A, B e 11A, B).

Na região apical da folha, os tecidos são semelhantes aos da região mediana, diferenciando-se, porém, pela menor número de estratos celulares nos diferentes tecidos que constituem o mesofilo. Observa-se, então, uma camada de hipoderme, uma camada de parênquima paliçádico e 2-3 camadas de parênquima lacunoso (Figura 9C). As superfícies adaxial e abaxial da folha são também semelhantes, porém, há uma maior concentração de tricomas, tanto tectores quanto secretores.

Um corte transversal observado em microscopia de varredura mostra um aspecto tridimensional dos tecidos do mesofilo, onde destacam-se as câmaras subestomáticas (Figura 11B) e tricomas tectores pluricelulares concentrados na margem foliar e nervura intercostal, em vista transversal (Figura 11D).

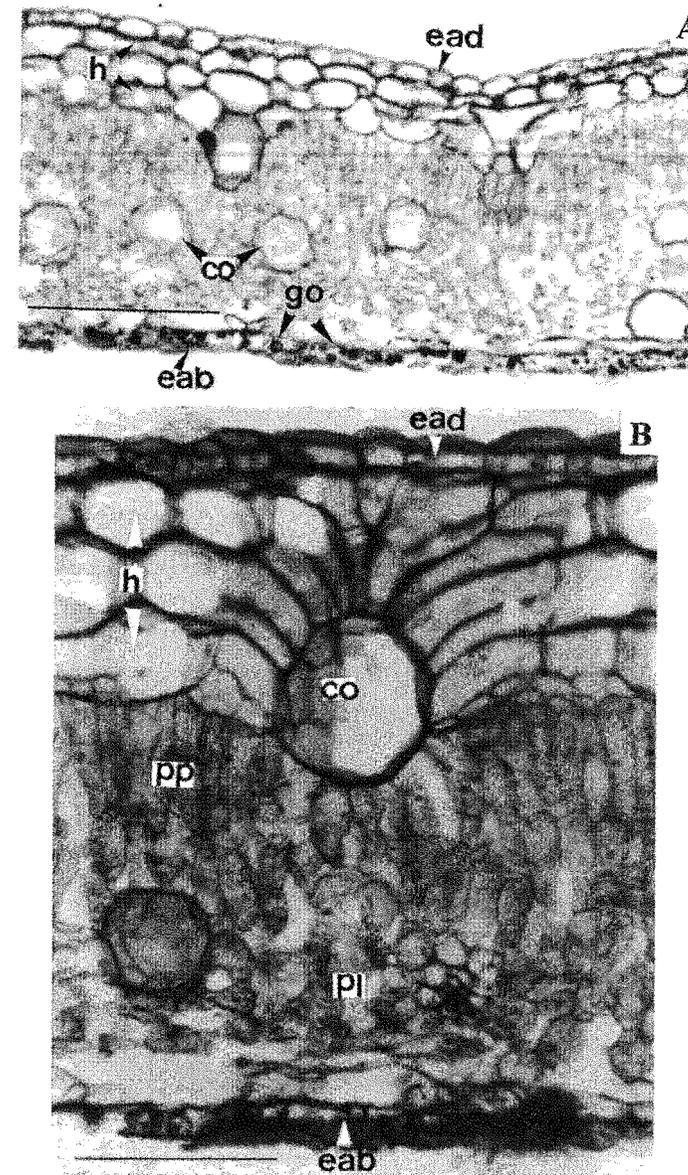


Figura 10 – *P. hispidinervium* - Corte transversal da lâmina foliar: A – Aspecto geral do mesofilo da base foliar (escala = 100mm); B – Detalhe do mesofilo da base foliar (escala = 50mm). Célula oleífera (co); epiderme abaxial (eab); epiderme adaxial (ead); gotícula de óleo (go); hipoderme (h); parênquima lacunoso (pl) e, parênquima paliçádico (pp).

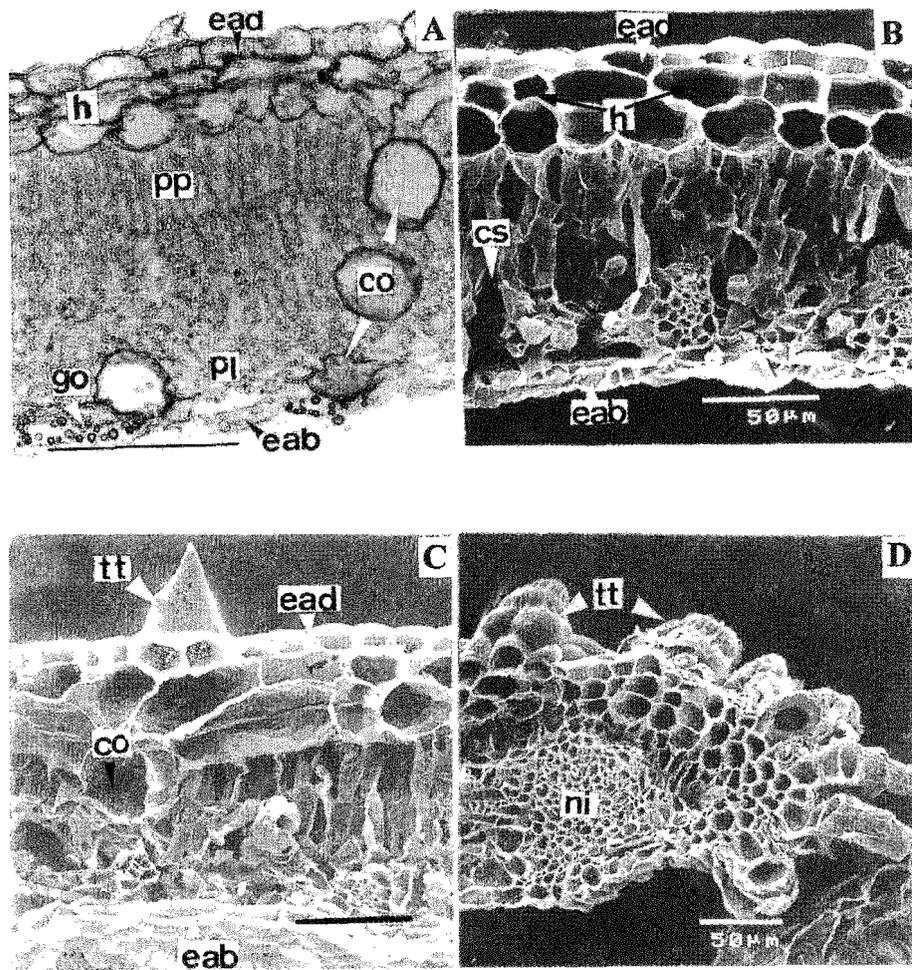


Figura 11 – *P. hispidinervium* - Corte transversal da lâmina foliar: A – Aspecto geral do mesófilo do limbo foliar (escala = 100µm); B – Detalhe da hipoderme (MEV); C – Detalhe da célula oleífera e tricoma tector (MEV); D – Detalhe da margem foliar (MEV). Célula oleífera (co); câmara subestomática (cs); epiderme abaxial (eab); epiderme adaxial (ead); gotícula de óleo (go); hipoderme (h); nervura intercostal (ni); parênquima lacunoso (pl); parênquima paliçádico (pp) e, tricoma tector (tt).

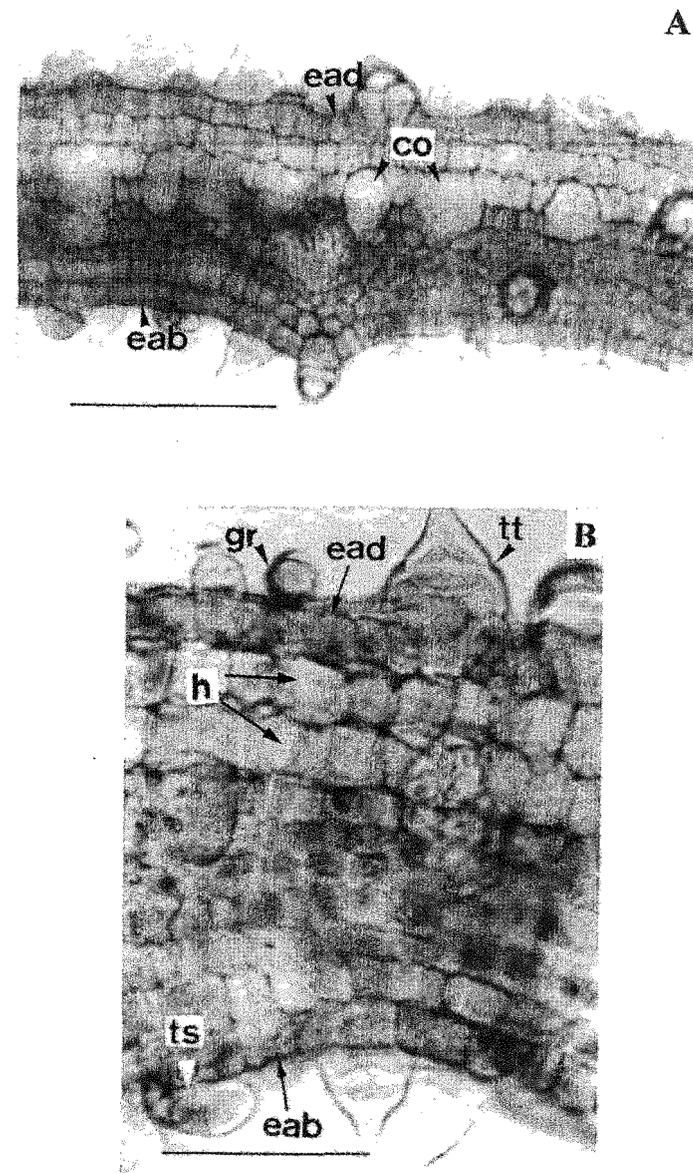


Figura 12 – *P. hispidinervium* - Corte transversal da lâmina foliar jovem: A – Aspecto geral do mesófilo do limbo foliar (escala = 100µm); B – Detalhe do mesófilo (escala = 50µm). Célula oleífera (co); epiderme abaxial (eab); epiderme adaxial (ead); glândula reluzente (gr); hipoderme (h); tricoma secretor (ts) e, tricoma tector (tt).

Nos primórdios foliares, além dos tricomas secretores e tectores, nota-se glândulas reluzentes em ambas epidermes. Estas estruturas secretoras, unicelulares, tendem a desaparecer com o desenvolvimento da folha, tornando-se ausentes ou raras a partir do terceiro nó apical. O mesofilo ainda não apresenta parênquimas paliçádico e lacunoso diferenciados, porém, as células oleíferas são evidentes (Figura 12B).

Na face adaxial da folha observa-se que as células epidérmicas possuem paredes retas ou ligeiramente curvas, são de diferentes tamanhos e em sua maioria, poliédricas. Os estômatos são raros nesta epiderme (Figura 13A) e entre as células epidérmicas encontra-se tricomas secretores e tricomas tectores (Figuras 13B, C).

Os tricomas tectores são cônicos em geral são formados por 3-8 células, o ápice é agudo e a base entumescida. Em geral apresentam superfície com ornamentação estriada e concentram-se, principalmente, na margem foliar (Figuras 13C, D). A base dos tricomas simples são pluricelulares e as células são arredondadas, destacando-se das demais células epidérmicas (Figura 13C). Nota-se ainda, com certa frequência, que as bases desses tricomas são formadas por 2-6 células (Figuras 13B, C). Nesta última figura, observam-se também células silicificadas, isoladas ou agrupadas, que se destacam, principalmente, ao microscópio com contraste de fase.

Na superfície abaxial os estômatos são mais abundantes em relação aos tricomas secretores, tectores e células oleíferas. Eles variam quanto a forma em: ciclocíticos, anisocíticos e tetracíticos, predominando este último (Figuras 15A, B). Entre as estruturas anexas como tricomas secretores, tricomas tectores, células oleíferas e células silicificadas, nota-se que a presença de células silicificadas é rara. Células oleíferas ocorrem somente nesta epiderme. Tricomas tectores são raros enquanto tricomas secretores são mais abundantes do que na epiderme adaxial (Figura 15A).

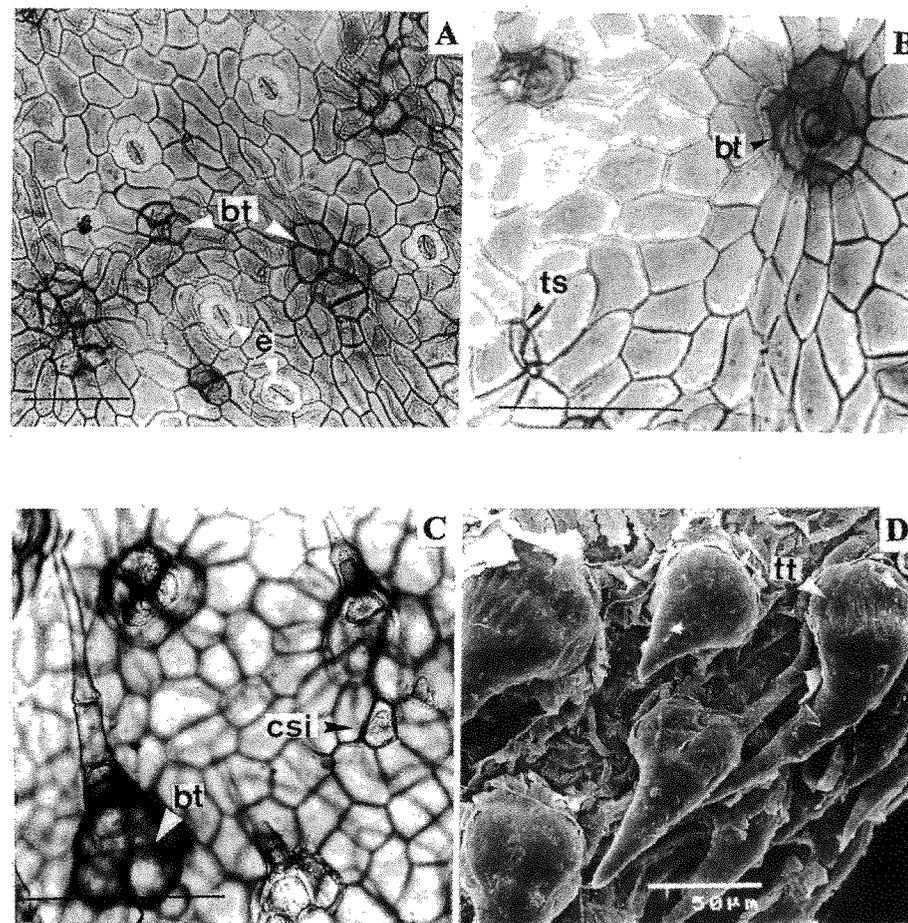


Figura 13 - *P. hispidinervium* - Vista frontal da epiderme adaxial da folha: A - Aspecto geral (escala = 100mm); B - Detalhe da base dos tricomas tectores (escala = 100mm); C - Detalhe do tricoma tector e célula silicificada (escala = 100mm); D - Detalhe dos tricomas tectores na margem foliar (MEV). Base de tricoma tector (bt); célula silicificada (csi); estômato (e) e, tricoma tector (tt).

A Tabela 4 apresenta o resultado dos testes histoquímicos feitos em diferentes regiões da folha, com as respectivas localizações nos tecidos onde estes ocorrem, conforme tabela abaixo. Com resultados positivos para todos.

Os estômatos encontram-se ao nível das demais células epidérmicas (Figuras 15B, C). Neles, observa-se amiloplastos nas células subsidiárias. O número de estômatos varia de 6-14 por 0,021 mm², com uma média de 8,92, desvio padrão de 0,86 e frequência estomática de 12,120 (Figura 14).

Venação foliar

A nervura principal é proeminente em toda extensão da folha, afinando-se gradualmente em direção ao ápice. Dela, partem as nervuras secundárias, ligeiramente curvas, ascendentes, direcionadas para a região apical da folha, não chegam a tocar a margem, mas terminam na nervura intercostal em pequenos laços inconspícuos (Figura 16A).

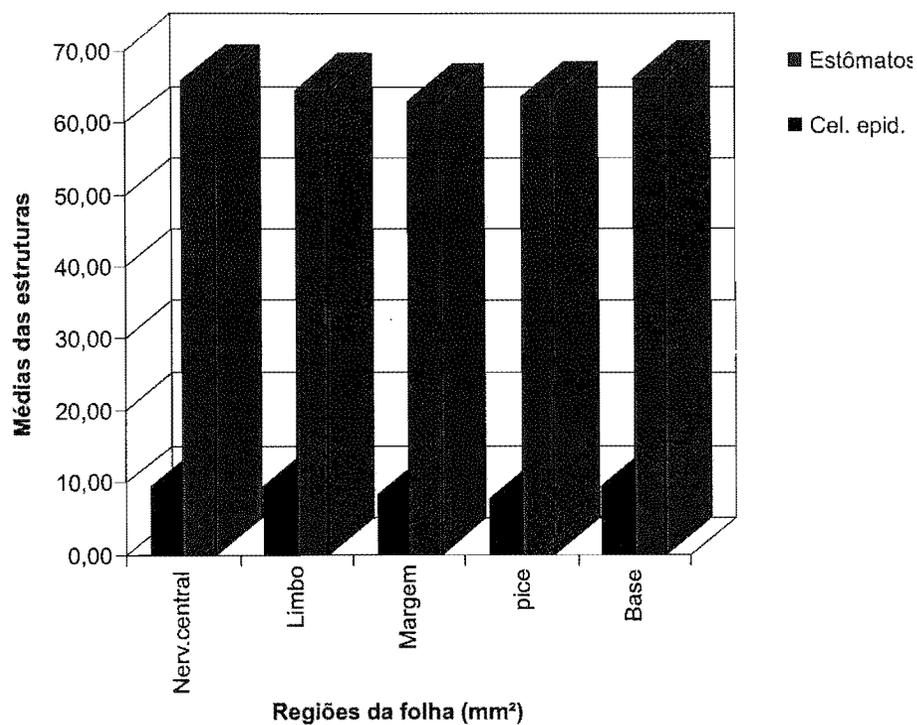
As nervuras secundárias são alternadas, possuem menor calibre que a principal. Na metade basiscópica do limbo ocorre sete nervuras, enquanto na metade acroscópica apenas seis secundárias. O padrão de venação é do tipo camptódromo-eucamptódromo (Figura 16A). Estas nervuras mantêm com a nervura principal ângulos agudos de diferentes graus, variando de doze graus na região apical da folha para oitenta e dois graus na base foliar (Figura 16A).

A nervura intercostal é contínua de espessura intermediária entre a nervura primária e as nervuras secundárias. Originam-se no ápice foliar em direção à base da primeira nervura secundária da base da folha, fusionando-se com as terminações das nervuras secundárias (Figura 16B).

A rede de nervuras terciárias é de dois tipos, axial e lateral. Estas últimas formam um compartimento subdividido por veias quaternárias,

Tabela 4 - Constituintes e conteúdo celular identificados no primeiro e quinto metáfilo de *P. hispidinervium*.

Constituintes e Conteúdo Celular	Regiões	
	primeiro metáfilo	quinto metáfilo
Amiloplasto	Endoderme ao nível do floema dos feixes vasculares na nervura central, no parênquima clorofiliano e células estomáticas	camada de células externa ao floema dos feixes vasculares na nervura central, no parênquima clorofiliano e células estomáticas
cutina	nas células epidérmicas sobre os tricomas e nas paredes das células oleíferas	nas células epidérmicas sobre os tricomas e nas paredes das células oleíferas
célula oleífera	na região cortical, no mesofilo e epiderme inferior	na região cortical, no mesofilo e epiderme inferior
Célula de mucilagem	na região medular e na base dos tricomas tectores	na região medular e na base dos tricomas tectores
Celulose/pectina	nas células parenquimáticas e no floema	nas células parenquimáticas e no floema
Lignina	na camada de fibras perivasculares da nervura central	na camada de fibras perivasculares da nervura central
Cristais de oxalato de cálcio	nas células parenquimáticas da nervura central	nas células parenquimáticas da nervura central
Alcalóides	nas células parenquimáticas da nervura central	nas células parenquimáticas da nervura central
Corpos silicosos	nas faces adaxial e abaxial da epiderme	nas faces adaxial e abaxial da epiderme



Regiões	Estruturas epidérmicas				
	Estômatos	Cel. epid.	Tric.secr.	Tric.Tector	Cel. Oleíf.
Nerv.central	9,62	65,90	1,72	0,22	1,18
Limbo	9,45	64,59	1,49	0,08	1,51
Margem	8,24	63,04	1,18	0,06	1,33
Ápice	7,76	63,55	1,06	0,16	1,12
Base	9,53	66,22	1,86	0,12	1,12

Médias das estruturas epidérmicas em cinco regiões da superfície foliar abaxial de *P. hispidinervium*. Cel. Epid.= células epidérmicas; Tric. Secr.=tricomas secretores; Tric. Tector=tricomas tectores e Cel. Oleíf.=células oleíferas.

Figura 14 – Correlação das médias de estômatos e células epidérmicas de cinco regiões da folha de *P. hispidinervium*.

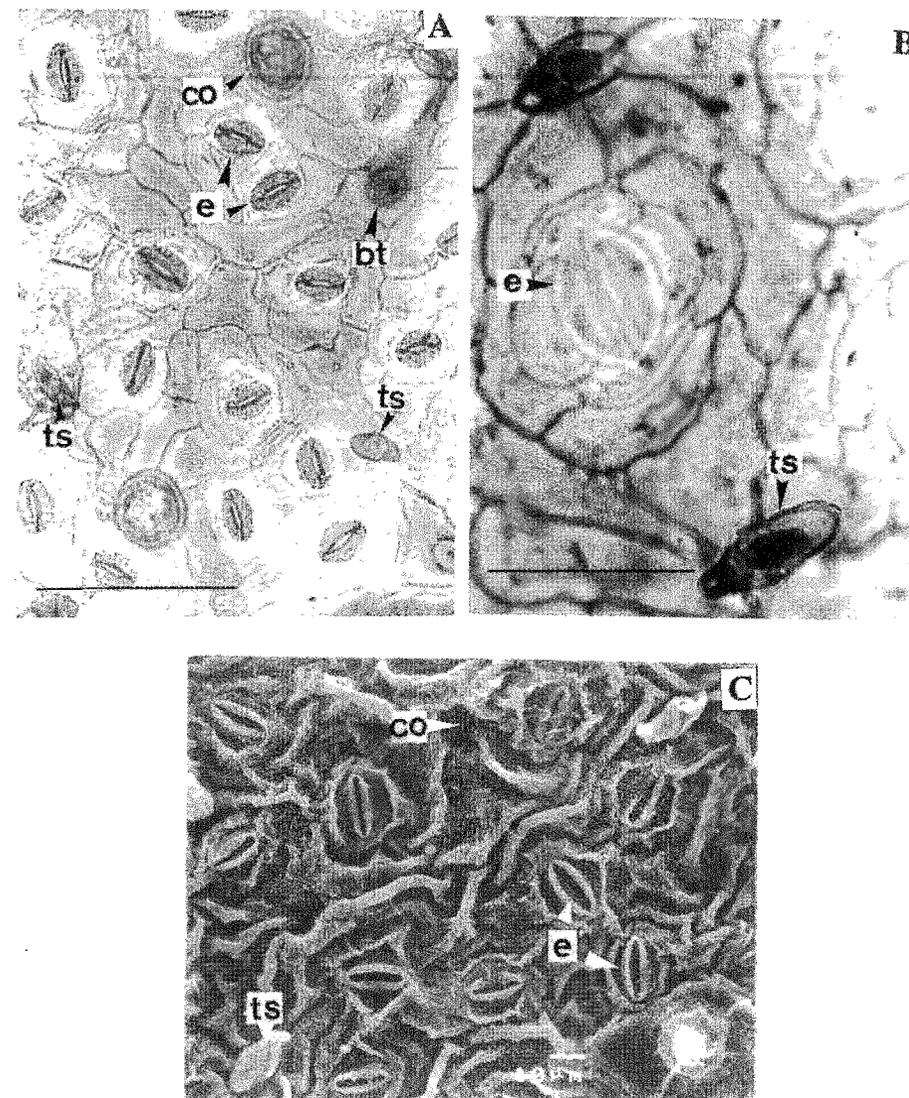


Figura 15 – *P. hispidinervium* – Vista frontal da epiderme abaxial da folha: A – Aspecto geral (escala = 100mm); B – Detalhe do estômato e tricoma secretor (escala = 50mm); C – Aspecto geral (MEV). Base de tricoma tector (bt); célula oleífera (co); estômato (e) e, tricoma secretor (ts).

das quais partem nervuras de quinta grandeza que se ramificam podendo ou não formar aréolas. Quando livres, as terminações são isoladas ou bifurcadas, formadas por traqueídeos simples, inconspícuos e não apresentam nenhum tipo de bainha (Figuras 16C, D).

Estruturas secretoras

P. hispidinervium apresenta estruturas secretoras internas e externas. As estruturas externas são os tricomas secretores e glândulas reluzentes, ambas com conteúdo lipídico, comprovadas por testes histoquímicos. As estruturas internas são representadas pelas células oleíferas e pelas células de mucilagem que secretam substâncias de natureza lipídica e mucilaginosas, respectivamente.

Os tricomas secretores são de diversos tamanhos e localizam-se sobre o limbo e as nervuras e são revestidos por cutícula delgada. As paredes celulares destes tricomas reagiram positivamente aos testes para suberina e lignina (Figura 19D). Estes apêndices são saculiformes, formados por duas células, uma basal mais curta e estreita e outra apical dilatada. Medem em torno de 20 mm de comprimento e 10 mm de diâmetro na porção mais dilatada. A célula basal desses tricomas localiza-se entre as células epidérmicas (Figura 12B).

Os tricomas secretores ocorrem em ambas as faces da folha, sendo mais abundantes na face abaxial (Figura 19A) e, na epiderme caulinar até por volta do quinto entrenó a partir do ápice, sendo gradativamente mais abundante em direção a este. A posição destes tricomas é geralmente oblíqua com relação à epiderme; a ornamentação externa da parede dos tricomas secretores é lisa e as células em volta de sua base são semelhantes às demais células epidérmicas (Figuras 19A, 12B).

A relação entre os tricomas secretores, estômatos e células epidérmicas varia nas diferentes regiões da folha, conforme dados da Tabela 5 e Figura 17, resultando no índice de tricomas de 2.030. Observa-se uma

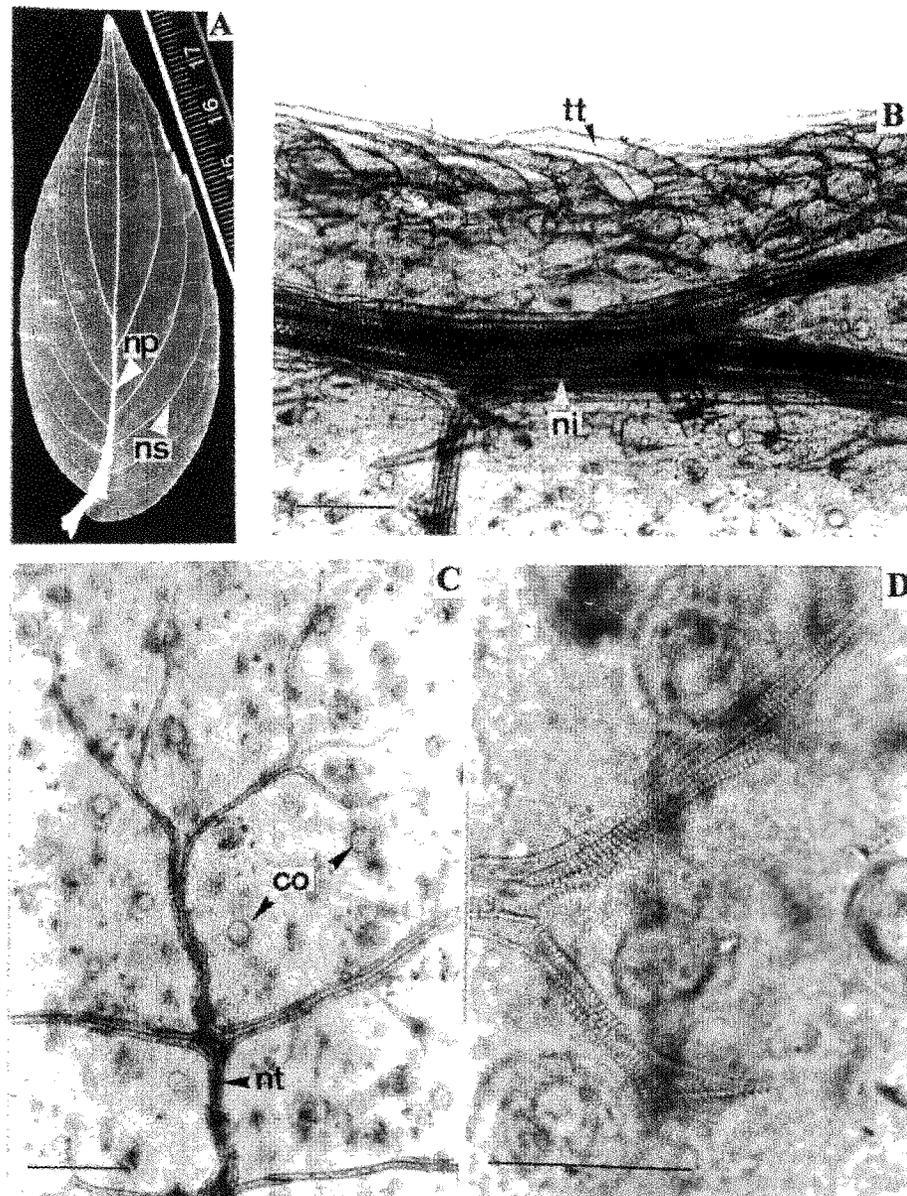


Figura 16 - *P. hispidinervium* - Venação foliar: A - Aspecto geral das nervuras; B - Vista frontal da nervura intercostal (escala = 100mm); C - Detalhe da nervura terciária (escala = 100mm); D - Detalhe da terminação da nervura (escala = 50mm). Célula oleífera (co); nervura intercostal (ni); nervura primária (np); nervura secundária (ns); nervura terciária (nt) e, tricoma tector (tt).

correlação quantitativa entre o número de tricomas secretores e as células oleíferas presentes na face abaxial, evidenciadas nas regiões do limbo, margem e ápice (Figura 18).

As glândulas reluzentes são unicelulares e ocorrem sobre ambas as faces da epiderme foliar dos primórdios foliares, principalmente (Figura 12B). Estes apêndices reagiram positivamente ao teste histoquímico para lipídeos, semelhante aos tricomas secretores e possuem paredes celulares e cutículas delgadas.

As células oleíferas são arredondadas, e tem em média 30 μ m de diâmetro. Elas destacam-se no tecido pelo seu conteúdo pardo-amarelado e, pela parede celular delgada. Submetidos a testes histoquímicos revelam em sua parede a presença de celulose, suberina e lignina. Estas células oleíferas ocorrem em todos os órgãos vegetativos (Figuras 19B, C), sendo a raiz o órgão que apresenta a menor concentração de células oleíferas distribuídas estritamente na região cortical (Figura 4C).

Longitudinalmente e transversalmente, o caule mostra maior concentração de células oleíferas na região nodal e nos entrenós apicais, tornando-se mais esparsamente distribuídos nos entrenós mais distantes do ápice caulinar, ou seja, a quantidade de células oleíferas diminui em direção basípeta, tanto nos ramos laterais quanto no ramo principal (Figura 6C).

A folha é o órgão onde está concentrada a maior quantidade de células oleíferas. Em vista frontal, identifica-se esta célula secretora pela sua forma arredondada e conteúdo lipídico, contrastando com as demais células epidérmicas (Figura 15A).

Em corte transversal da folha adulta, verificou-se que ocorre uma maior concentração de células oleíferas no parênquima lacunoso e na segunda camada mais interna do parênquima paliádico (Figuras 10A,B). Na folha jovem, esta concentração ocorre subjacente a

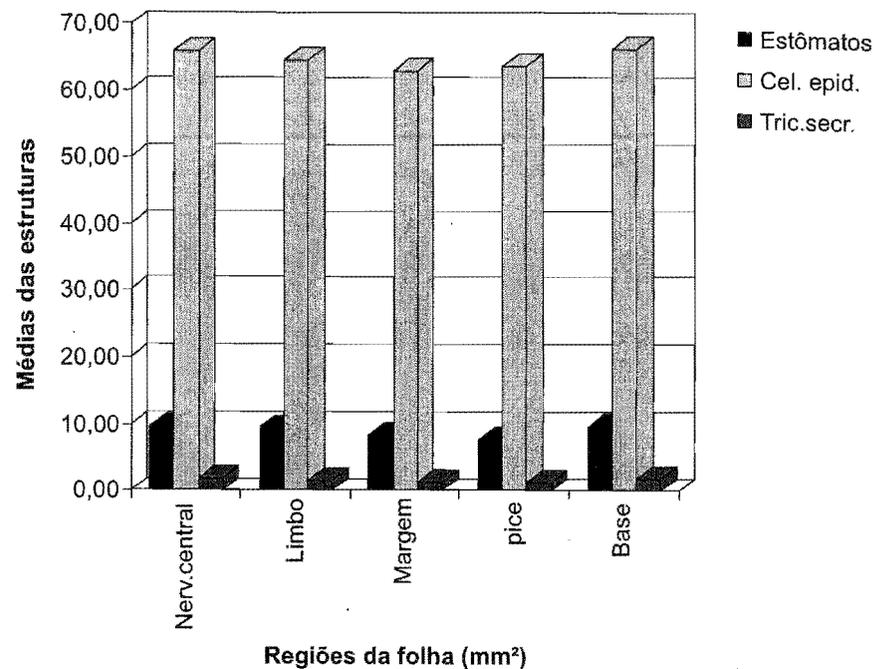


Figura 17 - Correlação entre as médias dos estômatos, células epidérmicas e tricomas secretores em cinco regiões da folha de *P. hispidinervium* (Tabela 5)

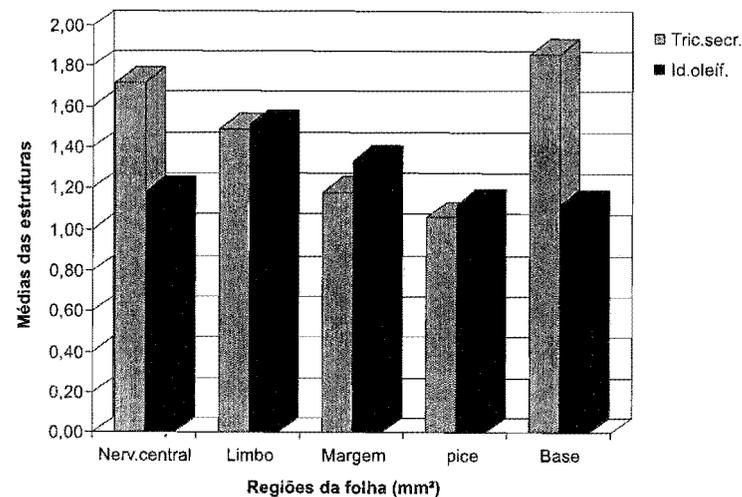


Figura 18 - Correlação entre as médias de tricomas secretores e células oleíferas em cinco regiões da folha de *P. hispidinervium* conforme Tabela 5.

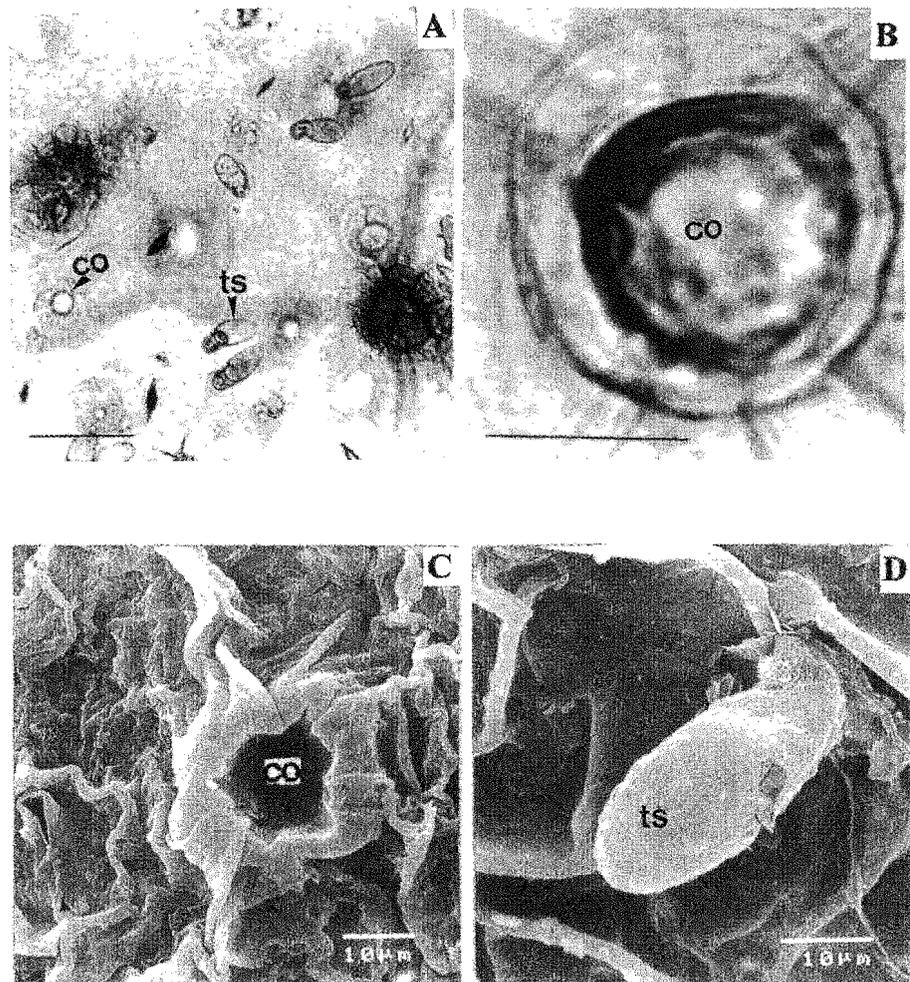


Figura 19 – *P. hispidinervium* – Vista frontal das estruturas secretoras: A – Aspecto geral das estruturas secretoras da epiderme abaxial (escala = 100µm); B – Detalhe da célula oleífera em microscopia de transmissão (escala = 50µm); C – Detalhe da célula oleífera (MEV); D – Detalhe do tricoma secretor (MEV). Célula oleífera (co); tricoma secretor (ts).

hipoderme e na primeira camada do parênquima paliçádico, que encontra-se em desenvolvimento inicial (Figura 12B). Ainda na folha adulta, observa-se que estas células, na face abaxial podem romper-se, liberando o conteúdo lipídico do seu interior (Figura 11A).

Na face adaxial da folha as células oleíferas não afloram, pois localizam-se abaixo da hipoderme. As células da hipoderme apresentam um aspecto de funil, pela inclinação em direção às células oleíferas, que neste tecido assemelham-se às células coletoras (Figura 10B).

DISCUSSÃO

Burger (1972), em seu trabalho sobre tendências evolutivas das espécies de *Piper* (Piperaceae) da América Central e México, cita, entre as 150 espécies estudadas, *P. sagittifolium* C. DC. como a representante mais primitiva, baseando-se em alguns caracteres tais como, peças florais grandes, inflorescência em espiga com aproximadamente 1 cm de espessura, antera estreita e relativamente longa (1 mm) com deiscência lateral e pólen grande (50-100 µm). O mesmo autor ressalta que *P. hispidum* e outras espécies afins como representantes de um grupo mais avançado, pois apresentam peças florais compactadas, antera com deiscência apical e pólen pequeno; presença de prófilo e processo ligular. Com base nestas informações e comparando com as características observadas em *P. hispidinervium*, podemos indicar que a mesma está entre as espécies mais evoluídas do gênero *Piper*.

Quanto aos aspectos anatômicos dos órgãos vegetativos, as raízes de *P. betle*, segundo Chibber (1912), apresentam seis feixes de xilema que se bifurcam uma ou duas vezes, separados por raios parenquimáticos a partir do centro e, *Peperomia berteriana* Miq., apresenta raiz diarca quando em crescimento primário e raiz tetraarca quando em desenvolvimento secundário. Em *P. hispidinervium*, nas raízes

primária, adventícia subterrânea e adventícia aérea ocorre uma diferença quantitativa de pólos de xilema. As raízes com crescimento primário são poliarcas e possuem seis, nove e vinte e sete pólos de xilema, respectivamente. Em crescimento secundário, nas raízes adventícias aéreas este número chega a atingir cerca de sessente pólos. Entretanto esses pólos não são separados por raios como afirma Chibber (1912), visto que os raios fazem parte tanto do xilema como do floema secundário.

Metcalf & Chalk (1950) mencionam que o súber e a região cortical da raiz são bem desenvolvidos nas espécies da família Piperaceae. Na espécie estudada, também foi observado esse espessamento suberificado, revelando a presença de periderme mesmo na raiz em crescimento inicial. Os autores citam ainda, que as células secretoras e os canais de mucilagem são pouco frequentes ou mesmo ausentes nas raízes de muitas espécies da família Piperaceae. Em *P. hispidinervium* não foram encontrados canais de mucilagem, entretanto observou-se além das células oleíferas, células de mucilagem.

No caule, Solereder (1908) distinguiu na família Piperaceae, quanto à disposição, quatro tipos diferentes de feixes vasculares: aqueles dispostos em único anel; único cordão vascular de estrutura concêntrica; dois anéis de feixes vasculares, sendo um medular e outro periférico e, feixes dispersos no tecido fundamental. O primeiro tipo foi encontrado nos gêneros da tribo Saurureae e o segundo tipo foi encontrado no caule de *Verhuellia* L. O terceiro tipo está representado por várias espécies de *Piper* e o quarto tipo pelo gênero *Peperomia*. A organização anatômica dos feixes vasculares em *P. hispidinervium* está arranjado de maneira diferente, sendo um cilindro vascular periférico e uma disposição circular de feixes com crescimento secundário mais internamente, semelhante ao terceiro tipo, sem entretanto corresponder a feixes periféricos. Bond (1931), revela que a disposição em dois anéis

medulares que é um caráter também observado para as espécies *Piper chaba* Hunter e *Piper tilicefolium* Schlecht., o que é um padrão comum do gênero *Piper*, é denominado como feixes vasculares anômalos.

Seguindo a mesma linha de estudo acima, Metcalfe & Chalk (1950) verificaram que a disposição dos feixes vasculares em dois anéis medulares lembra as Monocotiledôneas. Os mesmos autores distinguem os feixes das Monocotiledôneas e informam que os feixes vasculares de Piperaceae possuem certa semelhança com relação a distribuição, porém, outros arranjos distintos ocorrem nos diferentes gêneros e espécies de Piperaceae. Com base nisto, Hutchinson (1967) acredita que a ordem Piperales foi derivada da Ranales. A organização vascular de *P. hispidinervium*, semelhante a disposição dispersa dos feixes, já mencionados acima é mais um subsídio que reforça a hipótese dos autores Metcalfe & Chalk (1950).

Burger *apud* Silva (1992), também cita que algumas Piperales possuem características comuns às Monocotiledôneas e pouco comuns às Dicotiledôneas em geral. O autor ainda argumenta que algumas espécies dentre as Piperales, Nymphaeales, Arales e Najadales são mais semelhantes às Monocotiledôneas do que às Dicotiledôneas atuais, baseados principalmente no sistema vascular. O mesmo acontecendo com Dahlgren & Clifford (1982) que destacaram a hipótese de que as Piperaceae representam um grupo de transição entre Monocotiledôneas e Dicotiledôneas, visto que ambos os grupos se originaram de um tronco comum.

A condição trilacunar da anatomia nodal das angiospermas é segundo Sinnott (1914), um caráter primitivo presente nas Piperales e, principalmente no gênero *Peperomia* onde as espécies conservam esta característica, enquanto que no gênero *Piper*, o número de traços varia de 3-7. Em *P. hispidinervium* foram observados nove traços foliares ao nível do terceiro e quinto nós, ratificando nesta espécie mais um caráter

evoluído em relação às espécies de *Peperomia* e demais espécies do gênero *Piper* referidas. Pequeno número de traços como caráter primitivo foi também confirmado por Fahn & Bailey *apud* Fahn (1985) que registraram o tipo unilacunar presente em plantas menos complexas como Pteridófitas, Gimnospermas e, nas Ranales.

Chibber (1912) identificou uma hipoderme para a espécie *Piper betle*. Metcalfe & Chalk (1950) citam o mesmo tecido para os gêneros *Peperomia*, *Chavica* e *Piper*. Esau (1985) caracteriza uma hipoderme aos estratos de células aclorofiladas e que não estão alinhadas radialmente com as células epidérmicas. Silva (1992) ao estudar *P. regnellii*, descreveu um tecido semelhante e o denominou de hipoderme. Em *P. hispidinervium*, também foi visto uma organização de estratos celulares semelhantes caracterizando uma hipoderme.

Metcalfe & Chalk (l.c.) citam que nos gêneros *Piper* e *Peperomia*, a partir do quarto entrenó apical em direção à base, o tecido colenquimático gradualmente esclerifica-se, à medida que o caule se desenvolve em espessura e comprimento. Duchaigne, *apud* Fahn (1985) também informa que o colênquima é um tecido que pode esclerificar-se com o desenvolvimento da planta. O autor vai mais além, descrevendo como ocorre essa esclerificação através de um processo de lamelação centrífuga e centrípeta. No início, há um conjunto de estratos ricos em celulose que mais tarde se impregna de lignina, como resultado de desenvolvimento centrífugo de lamelas lignificadas e o desaparecimento progressivo da substância pecto-celulósica das paredes do colênquima. Em *P. hispidinervium* o tecido colenquimático também, gradualmente, sofre esclerificação, a partir do quarto entrenó e esta esclerificação é centrífuga, visto que as camadas mais internas do colênquima reagem fortemente para lignina e apresentam paredes mais espessadas que as camadas intermediárias deste tecido, no caule.

De acordo com Bond (1931), a endoderme caulinar é bastante comum entre as espécies da família Piperaceae e segundo Myllus *apud* Bond (1931) está também presente em outras famílias como em Rosaceae. Weiss *apud* Bond (1931) cita a presença de uma endoderme caulinar em *Piper* e que esta pode ser de três tipos: cilindro completo de células da endoderme em volta do sistema vascular, como em *P. brederneyeri* Jaqu, *P. geniculatum* Sw., *P. bullatum* Pth.; endoderme limitada à zona imediatamente externa ao floema ou às fibras pericíclicas como em *P. carpunya* R. & Pav.; e endoderme completamente ausente, como em *P. rivinoides* Kth. Em *P. hispidinervium* não foi evidenciado nenhum dos três tipos acima, a endoderme nesta espécie é constituída por uma bainha amilífera formada de células maiores que as demais células do parênquima, sem estrias de Caspary, circundando parcialmente o floema, que segundo Bond (1931) substitui a endoderme caulinar com estrias de Caspary.

De acordo com Solereder (1908), a família Piperaceae apresenta células secretoras no caule, em regiões da casca, córtex primário e medula. Na espécie estudada, observou-se que estas células secretoras ou células oleíferas foram vistas somente no córtex e na região medular, em concentração nos primeiros entrenós apicais, ou diminuindo gradativamente em direção à base caulinar, sendo mais abundantes na região nodal e em suas proximidades.

A presença de cristais em forma de drusas na família Piperaceae é citada por Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1950), além de outros tipos de cristais aciculares ou pequenos grãos cristalinos, arenosos de várias formas. Em *P. hispidinervium* esses cristais apresentam-se sob a forma acicular, ráfides e poliédricos constituídos de oxalato de cálcio, sendo que este último tipo foi encontrado a partir do quarto entrenó apical.

Van Tieghem (1908) cita a presença de canais de mucilagem para muitos *taxa* dos gêneros *Piper* e *Peperomia*, enquanto Metcalfe & Chalk (1950) os reconhecem em espécies de *Piper* como *P. betle* e *P. methysticum* e Silva (1992) cita para *P. regnellii*. Nesta última espécie, os referidos canais só foram encontrados em plantas adultas, a partir de doze meses de idade. A ausência desses canais foi constatada para algumas espécies de *Piper* com crescimento primário e secundário como *P. aduncum* L., *P. cubeba* L., *P. unguiculatum* R. & P., *P. scabrum* Willd. ex Kunth. e *P. treleaseanum* Britton & Wilson *apud* Garner & Beakbane (1968). Na espécie estudada, esses canais de mucilagem também não foram observados em espécimes em crescimento primário e nem em crescimento secundário

Na folha, Metcalfe & Chalk (1950) citam para as espécies do gênero *Piper*, algumas características anatômicas comuns como a dorsoventralidade, estômatos tetracíticos e ciclocíticos, tricomas tectores e a presença de glândulas reluzentes, entre outras. No presente trabalho, com exceção das glândulas reluzentes que ocorrem somente nas folhas jovens do ápice caulinar, todas as estruturas e situações foram comprovadas.

Na superfície foliar as células silicificadas, conforme Yuncker & Gray *apud* Metcalfe & Chalk (1950) constituem caráter presente em certas espécies de *Piper*, e foram observadas na espécie estudada. Geralmente, encontram-se isoladas ou agrupadas em torno de vinte células.

A condição hipostomática das folhas de *Piper* citadas pelos autores acima foi um caráter não observado na espécie estudada, a qual é anfiestomática pela presença, embora rara, de estômatos também na epiderme adaxial.

Rowson, *apud* Metcalfe & Chalk (1979) informa que em *Cassia acutifolia* Delile (Fabaceae) o índice estomático varia de 11, 4-13

Marion *et al.* (1994) encontrou índice estomático para espécies do gênero *Forsythia* (Oleaceae) variando de 7,740-20,395. Na espécie estudada, este índice foi de 12,120, revelando que não houve diferença significativa enquadrando-se na média das outras espécies de dicotiledôneas citadas acima.

Segundo Yuncker & Gray, *apud* Metcalfe & Chalk (1950), a presença de hipoderme, mais de uma camada de parênquima paliçádico e parênquima esponjoso pouco desenvolvido, são características xeromórficas. Na espécie estudada, ocorrem características semelhantes à estas, pela presença de: hipoderme, duas camadas de parênquima paliçádico e parênquima esponjoso em poucas camadas e com pequenos espaços entre as células, sugerindo de alguma forma uma tendência xeromórfica. A ocorrência de parênquima paliçádico em mais de uma camada é uma característica também presente em *Peperomia*, onde há de 1-3 paliçadas.

Em *Saururus cernuus* Plum. ex Linn. (Saururaceae, Piperales), citado por Tucker (1976), as células oleíferas apresentam caráter intrusivo, ou seja, formam-se no mesófilo e afloram na epiderme. Isto também foi observado em *Virola* Aublet (Braga 1992). Embora não se tenha investigado a ontogenia da célula oleífera, notou-se em *P. hispidinervium*, sob microscópio de luz, que as células oleíferas aparentemente, afloram na face abaxial da epiderme e rompem-se, extravasando seu conteúdo na superfície da folha.

Segundo Maron & Fahn (1979) em *Laurus nobilis* L. (Lauraceae), a primeira célula de óleo é encontrada na terceira folha, a partir do ápice. Porém, na espécie estudada, as células oleíferas são observadas já na primeira folha apical cujo tamanho é menor que um terço da folha desenvolvida.

A distribuição das células oleíferas na folha adulta da espécie estudada é mais abundante no parênquima lacunoso que no parênquima

paliçádico, enquanto que em outras espécies produtoras de óleos essenciais, como em *Aniba parviflora* (Meissn) Mez (Lauraceae), Vattimo (1968), cita que essas estruturas são mais freqüentes na segunda camada do parênquima paliçádico e, menos freqüente na primeira camada deste parênquima e na hipoderme. Essas estruturas apresentam diâmetro máximo de 40-46 mm, ligeiramente maiores que as da espécie estudada, cujo diâmetro médio é de 30 mm.

Chibber *apud* Metcalfe & Chalk (1950) menciona que a região central do pecíolo, no gênero *Piper*, é ocupada por grandes canais de mucilagem, presentes em várias espécies deste gênero, como em *P. nigrum*, entre outras. Na espécie estudada, esses canais não foram encontrados no pecíolo, e nem nos outros órgãos vegetativos, encontra-se, porém, células de mucilagem.

As estruturas secretoras internas encontradas na espécie estudada são unicelulares, e o produto de secreção, entre outros, é constituído por mucilagem e óleos. Este último, permanece contido no interior das células oleíferas e, segundo Kisser *apud* Fahn (1985), pode ocorrer uma mistura de substâncias em uma mesma célula. Isto foi verificado na espécie em estudo, com relação às células mucilaginosas que reagiram positivamente, ao mesmo tempo, aos testes histoquímicos para cristais e mucilagem.

Hanberlandt (1965) relata em seu trabalho a presença de ráfides embebidos em massa mucilagínosa, no interior de um vacúolo especial. Esau (1985) reforça esta observação quando informa que geralmente as células de mucilagem contêm cristais do tipo ráfides. Na espécie estudada, algumas células reagiram positivamente ao teste de mucilagem e cristais, principalmente nas células do parênquima medular da porção apical do caule, entre o primeiro e o terceiro entrenó, contados a partir do ápice.

Lehmann (1925) ao descrever a célula de óleo de *P. nigrum* informou que a mesma apresentava o conteúdo oleífero num saco

membranogênico fixado na parede celular por uma cúpula ou cavilha. Postek & Tucker (1983) informam que a célula de óleo em *Magnolia grandifolia* L. também possui uma cúpula ou cavilha, com a mesma função. Tal característica também foi observada por Bakker & Gerritsen (1992) para várias espécies de *Anona*. Essa estrutura não foi visualizada neste trabalho, porém notou-se que a secreção era fixada em determinado ponto da parede celular.

Postek & Tucker (1983) ao estudarem sessenta e sete espécies de quinze famílias, dentre as quais Piperaceae (*Piper* e *Peperomia*), concluíram que a camada de suberina tem sido comumente reportada à parede de células secretoras de óleo. Porém, esta camada não era sempre contínua. Através de testes histoquímicos específicos foi possível observar tal característica, principalmente nas células oleíferas mais maduras.

West (1969) afirma que vinte famílias lenhosas Ranalianas têm como caráter unificador as células de óleo. Este autor estudou e descreveu os membros de somente nove, dentre as quais Annonaceae, Canellaceae, Hernandiaceae, Illiaceae, Lauraceae, Magnoliaceae, Myristicaceae e Piperaceae. A espécie estudada reforça este caráter para a família Piperaceae, pela grande abundância de células oleíferas.

Ainda sobre as células secretoras internas, Bond (1931), informou que estas ocorrem comumente na medula, córtex, floema e raramente na bainha amilífera do caule de algumas espécies de *Piper* ou, ainda na endoderme, como em *P. excelsum*. Em *P. hispidinervium*, as células oleíferas atingem sua maior concentração nas folhas. No caule, ocorrem principalmente na região cortical, e próximos aos feixes vasculares da região medular e, nas raízes são pouco freqüentes.

As células secretoras, segundo Metcalfe & Chalk (1950) ocorrem no caule e nas folhas de todos os gêneros da família Piperaceae, com exceção do gênero *Symbrio*. Porém, na espécie estudada essas células

foram observadas na raiz, embora pouco freqüentes, principalmente na região com estrutura de crescimento primário.

Dahlgren & Clifford (1982) informam que as Piperales e Nymphaeales são Dicotiledôneas, provavelmente derivadas de um ancestral Magnoliifloreano. Porém, as características são mais evidentes em Piperales da floresta tropical que em Nymphaeales aquáticas, especialmente em atributos químicos como óleo essencial e alcalóide, ambos também detectados na espécie estudada.

Segundo Metcalfe & Chalk (1950), as estruturas secretoras externas comuns no gênero *Piper*, são os hidatódios, os tricomas glandulares e glândulas reluzentes, sendo que na espécie estudada, não foram encontrados os hidatódios. Entretanto, foi observado outro tipo de estrutura, que são as células oleíferas que afloram na face abaxial da folha.

Os tricomas secretores no caule são numerosos na porção apical, raros por volta do quinto entrenó contados a partir do ápice. Na folha, estes tricomas são mais abundantes. Marion (1994), estudando a folha de quarenta e dois taxa do gênero *Forsythia* (Oleaceae), encontrou índice de tricomas secretores variando de 0,0760-1,0650. Ele observou que quanto maior o índice de tricomas, maior era a produção de óleo. Foi realizado em *P. hispidinervium* a contagem de tricomas secretores entre espécimes da mesma procedência, mostrando pouca variação do índice o qual apresentou uma média de 2,030.

Embora se tenha observado que algumas regiões da folha como o limbo, a margem e o ápice mantêm uma paridade entre os tricomas secretores e os células oleíferas e que nas regiões da nervura central e da base os tricomas secretores são mais numerosos que as células oleíferas conforme Tabela 5 e Figura 18; isto nos permite formar uma hipótese de que o índice de tricomas seja proporcional a produção de óleo, o que poderá vir a ser tema de trabalho futuro.

Os tricomas secretores são as estruturas externas, decíduas, semelhantes aos citados por Metcalfe & Chalk (1950); cuja cutícula provavelmente rompe-se, facilitando a vaporização do safrol, substância predominante no conteúdo oleífero desses apêndices epidérmicos. Os tricomas secretores também reagiram positivamente ao teste histórico-químico, para diferentes substâncias como lipídeos, suberina e lignina, caráter semelhante ao que ocorre em *Inula viscosa* (L.) AIT., a qual produz no mesmo tricoma diversas substâncias em diferentes estágios de desenvolvimento (Werker & Fahn 1981).

As estruturas secretoras sofreram uma evolução de célula oleífera à cavidade ou canal secretor e pêlo glandular (Gottlieb & Salatino 1987). Estas estruturas também foram observadas na espécie estudada, onde o conteúdo oleífero encontra-se em células oleíferas, e também nos tricomas secretores, indicando que a espécie apresenta ao mesmo tempo características primitivas e evoluídas.

Segundo os autores acima, os óleos essenciais evoluíram de óleos terpênicos a lignóides e novamente terpênicos. Estes constituem uma característica primitiva na linhagem evolutiva das angiospermas, que são substituídas por outros sistemas defensivos como os alcalóides e, que na espécie estudada, apresenta os dois tipos de substâncias, porém essas encontram-se depositadas em estruturas diferentes.

Segundo Gottlieb & Salatino (1987) os constituintes dos óleos essenciais são envolvidos, em todos os aspectos da interação planta-micróbio, planta-planta e planta-animal. Na espécie estudada, de acordo com Maia *et al.* (1993), 80% do componente do óleo é o safrol, um fenil-éter que ao sofrer pequenas transformações, origina o butóxido de piperonila que tem ação inseticida.

Hanberlandt (1965) já informava que a secreção de óleo protegia a planta contra ataque de animais e que a volatilização do óleo atuava contra o aumento de temperatura interna e, conseqüentemente, contra o

aumento de transpiração. Segundo Levin (1973), os tricomas têm um papel de defesa mecânica e química nas plantas, através dos tricomas tectores e dos tricomas secretores que exudam terpenos, fenóis, alcalóides ou outras substâncias olfativas ou gustativas repelentes.

Em *P. hispidinervium* ocorrem os dois tipos de tricomas: os tectores, que dispõem-se principalmente sobre as nervuras e margem foliar, porém suas paredes delgadas e lume largo diminuem sua resistência mecânica a prováveis ataques de herbívoros, enquanto os tricomas secretores e as células oleíferas são amplamente distribuídos em toda superfície foliar, sugerindo principalmente uma linha de defesa química para a planta.

CONCLUSÕES

A espécie estudada apresenta caracteres morfológicos tais como prófido, grãos de pólen e anteras pequenas que a posicionam entre as mais evoluídas do gênero *Piper*. Com base nos aspectos anatômicos estudados neste trabalho, os numerosos pólos de xilema na raiz e a organização do sistema vascular no caule em dois círculos, entre outros caracteres, são subsídios que reforçam a semelhança do gênero *Piper* com as Monocotiledôneas.

Este trabalho permitiu-nos concluir que *Piper hispidinervium* apresenta nos diversos órgãos os seguintes elementos:

. Na **raiz**, o crescimento primário está restrito à região próxima ao ápice, já o crescimento secundário predomina, sendo evidenciado desde a porção subapical da raiz até o colo ou coleto, evidenciado pela presença de periderme e câmbio vascular.

. No **caule**, o crescimento primário ocorre até por volta do quarto entrenó e o crescimento secundário a partir do quinto entrenó, contados do ápice caulinar, onde observa-se a substituição do colênquima pelo

esclerênquima e a presença de cilindro vascular periférico com câmbio vascular contínuo.

. Na **folha**, conclui-se que as características anatômicas observadas como hipoderme, mais de uma camada de parênquima paliçádico e parênquima lacunoso pouco desenvolvido sugerem de alguma forma a tendência xeromórfica, o que se justifica possivelmente pelo hábito heliófito da planta e pelo seu comportamento como planta invasora de pastagens.

. A espécie apresenta células oleíferas na raiz, tricomas secretores em ambas faces da folha e afloramento das células oleíferas na superfície abaxial da folha.

. As células oleíferas ocorrem em todos os órgãos vegetativos estudados e predominam na folha e ápice caulinar do primeiro ao terceiro entrenó, sendo mais abundante nas regiões nodais. Os tricomas secretores concentram-se nas folhas e caule jovem e são diretamente proporcionais as células oleíferas.

. Os índices de estômatos e de tricomas não apresentaram variações entre os indivíduos. Porém, mostraram-se variáveis entre as regiões da folha

. Sugere-se, portanto, que a exploração comercial seja feita nas partes apicais dos ramos e folhas para maior aproveitamento do óleo essencial.

. Aparentemente, as estruturas secretoras citadas acima apresentam uma relação direta com o estágio de desenvolvimento da planta. Isto é, quanto mais jovem o órgão, maior a concentração dessas estruturas.

. Este trabalho permitiu-nos ainda, além do conhecimento sobre a anatomia dos órgãos vegetativos de *P. hispidinervium*, o reconhecimento das estruturas secretoras, sua localização e distribuição na planta, o que servirá de base para outros estudos em áreas afins, como melhoramento genético e cultura de tecido.

. Por se tratar de um estudo preliminar ao nível da anatomia, estrutura secretora e morfologia, serão necessários estudos ontogênicos e de microscopia eletrônica para que sejam determinadas a origem das estruturas secretoras, a localização dos sítios sub-celulares e, as vias de eliminação da secreção na planta.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e CAPES, pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual não teria sido possível a realização do curso.

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi, Instituição que me apoiou durante toda minha vida científica, bem como durante a realização deste trabalho.

Ao Centro de Pesquisas Agroflorestais da Amazônia Oriental - CPATU, pela contribuição com pessoal qualificado, laboratórios, herbário e equipamentos, que enriqueceram meu trabalho e marcaram um novo momento na minha carreira científica na busca do domínio de novas tecnologias.

À Lúcia Carvalho do Nascimento, Mira Ketlen Carvalho Nascimento e a Celeste de Carvalho e Carvalho que não descuidaram da minha saúde e bem estar, fundamentais à realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Raimunda Conceição de Vilhena Potiguara, do Departamento de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi, pelo carinho, dedicação e rigor na orientação deste trabalho.

Aos demais pesquisadores, bolsistas e funcionários do Departamento de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi e do Centro de Pesquisas Agroflorestais da Amazônia Oriental - CPATU, que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALENCAR, R.; LIMA, R.A.; CORRÊA, R.G.C.; GOTTLIEB, O.R.; MARX, M.C.; SILVA, M.L.; MAIA, J.G.S.; MAGALHÃES, M.T. & ASSUMPÇÃO, R.M.V. 1971. Óleos Essenciais de Plantas Brasileiras. *Acta Amazon.* 1: 41-43.
- BAAS, P. & GREGORY, M. 1985. A Survey of Oil Cells in the Dicotyledons with comments on their replacement by and joint occurrence with Mucilage Cells. *Israel J. Bot.* 34: 167-186.
- BAKKER, M.E. & GERRITSEN, A.F. 1992. Oil and mucilage cells in *Annona* (Annonaceae) and their systematic significance. *Blumea*, 36: 411-428.
- BARROSO, G.M. 1978. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. São Paulo, EPU/USP, 255p.
- BIERMANN, R. 1898. Ueber bau und Entwicklung der. In: *Oelzellen und die Oelbildung in ihnen*, 80p.
- BOND, G. 1931. The stem endodermis in the genus *Piper*. *Trans. R. Soc. Edinb.*, 56: 695-724.
- BRAGA, M.M.N. 1992. Anatomia foliar de *Virola Aublet* (Myristicaceae). *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, Sér. Bot.*, 8 (1): 57-142.
- BURGER, W.C. 1972. Evolutionary trends in the Central American species of *Piper* (Piperaceae). *Brittonia*, 24: 356-362.
- CHIBBER, H.M. 1912. Morphology and Histology of *Piper betle* Linn. (the Betel-vine). *Agric. Coll.*, Poona: 357-383.
- CHAMBERLAIN, C. J. 1938. *Methods in plant histology*. 5.ed. Illinois, University of Chicago, 86p.
- CRONQUIST, A. 1968. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. 2.ed. New York, New York Botanical Garden, 555p.
- DAHLGREN, R.M.T. & CLIFFORD, H.T. 1982. *The Monocotyledons: A comparative study*. London/New York, Academic Press, 378p.
- ESAU, K. 1972. *Anatomia Vegetal*. Barcelona, Ômega, 778p.
- ESAU, K. 1985. *Anatomia Vegetal*. 3.ed. Barcelona, Ômega, 779p.
- FAHN, A. 1979. *Secretory Tissues in Plants*. Academic Press, 302p.
- FAHN, A. 1985. *Anatomia Vegetal*. 3.ed. Madrid, Ediciones Pirâmide, 599p.

- FELIPPE, G.M. & ALENCASTRO, F.M.M.R. 1966. Contribuição ao estudo da nervação foliar das Compostas dos cerrados. I. Tribos Helinieae, Heliantheae, Inuleae, Mitisieae e Senecioneae. *An. Acad. Bras. Ciênc.* Rio de Janeiro, 38: 125-158. Suplemento.
- FOSTER, A.S. 1949. *Practical Plant Anatomy*. 2.ed. New York, Van Nostrand Company, 228p.
- GARNER, R.J. & BEAKBANE, A.B. 1968. A note on the grafting and anatomy of Black Pepper. *Exp. Agric.*, 4 (3): 187-192.
- GERLACH, D. 1977. *Botanische Mikrotechnik*. Stuttgart, Thieme Verlag, 311p.
- GOMES, P.F. 1990. *Curso de Estatística Experimental*. 13.ed. Piracicaba, Nobel, 467p.
- GOTTLIEB, O.R. & SALATINO, A. 1987. Função e evolução dos óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. *Ciênc. Cult.*, 39 (8): 707-716.
- GUPTA, M.P.; ARIAS, T.D. & SMITH, R.M. 1983. The composition of the essential oil of *Piper aduncum* L. from Panamá. *Rev. Latinoam. Quím.*, 14 (1).
- HANBERLANDT, G. 1965. *Physiological Plant Anatomy*. Today & Tomorrow's Printers, 777p.
- HANDRO, W. 1964. Contribuição ao estudo da venação foliar das Amarantaceas dos cerrados. *An. Acad. Bras. Ciênc.* Rio de Janeiro, 36 (4): 479-499.
- HICKEY, L.J. 1973. Classification of the architecture of dicotyledons leaves. *Am. J. Bot.*, Columbus, 60 (1): 17-33.
- HUTCHINSON, J. LL. D. 1967. *The Genera of Flowering Plants. Dicotyledones*. v.1. Oxford Clarendon Press, 516p.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry principle and practice*. San Francisco, W. H. Freeman, 408p.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. 2.ed. Bombay, Tata McGraw-Hill, 532p.
- JOLY, A.B. 1975. *Botânica: introdução a Taxonomia Vegetal*. 2.ed. São Paulo, Editora Nacional/EDUSP, 777p.
- LAWRENCE, G.H.M. 1920. *Taxonomy of Vascular Plants*. New York, MacMillan, 823p.

- LEHMANN, C. 1925. Studies Uber den Bau und die Entwicklungsgeschichte von Olzellen. *Planta*, 1: 343-373.
- LEVIN, D.A. 1973. The role of trichomes in plant defense. *Q. Rev. Biol.*, 48 (1): 03-17.
- MACHADO, S.M.F.; MILITÃO, J.S.L.T.; FACUNDO, V.A.; RIBEIRO, A.; MORAIS, S.M. & MACHADO, M.I.L. 1994. Leaf oils of two Brazilian *Piper* espécies: *Piper arboreum* Aublet var. *latifolium* (C.DC.) Yuncker and *Piper hispidum* Sw. *J. Essential Oil Res.*, 6: 643-644.
- MAIA, J.G.; SILVA, M.L.; LUZ, A.I.R.; ZOGHBI, M.G.B. & RAMOS, L.S. 1987. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em safrol. *Quím. Nova*. São Paulo, 10 (3): 200-204.
- MAIA, J.G.; GREEN, C.L. & MILCHARD, M.J. 1993. New Source of Natural Safrole. *Perfum. Flavor. Int.*, 18: 19-22.
- MARION, C.; PELISSER, Y.; SABATIER, R. & ANDARY, C. 1994. Calculation of Essential Oil Yield without Prior Extraction-Application to the Genus *Forsythia* Vahl. (Oleaceae). *J. Essential Oil Res.*, 6: 379-387.
- MARIZ, G. 1965. *Contribuição para o conhecimento da anatomia de Piper umbellatum* L. Recife, Universidade de Recife/Imprensa Universitária. (Cadernos de Filosofia de Pernambuco, 11), 33p.
- MARON, R. & FAHN, A. 1979. Ultrastructure e development of oil cells in *Laurus nobilis* leaves. *J. Lin. Soc.*, 78: 31-40.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. v.2. Oxford Clarendon Press, 1500p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford Clarendon Press, 293p.
- POSTEK, M.T. & TUCKER, S.C. 1983. Ontogeny and ultrastructure of secretory oil cells in *Magnolia grandiflora* L. *Bot. Gaz.*, 144 (4): 501-512.
- SALATINO, A. & SILVA, J.B. 1975. Anatomia e Óleos Essenciais das folhas de *Piper regnellii* (Miq) C.DC. Var. *regnellii*. *Bol. Bot. Univ. São Paulo*, 3: 95-106.
- SALISBURY, E.J. 1927. On the causes and ecological significanse of stomatal frequency. With special reference to the woodland Flora. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Série B.*, 217: 1-65.
- SCHULTZ, A.R. 1963. *Botânica Sistemática*. v.2. Porto Alegre, Globo, 427p.

- SILVA, E.M.J. 1992. *Estudo morfológico e anatômico dos órgãos vegetativos de Piper regnellii (Miq.) C. DC. PIPERACEAE, em diferentes fases de desenvolvimento*. São Paulo, Instituto de Biociências/Universidade Estadual Paulista, 95p. Tese de mestrado.
- SILVA, M.H.L. 1993. *Tecnologia de Cultivo e Produção racional de Pimenta Longa, Piper hispidinervium C.DC.* Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 120p. Tese de Mestrado.
- SINNOTT, E.W. 1914. The Anatomy of the node as an Aid in the Classification of Angiosperms. *Am. J. Bot.*, 1 (7): 303-328.
- SOLEREDER, M. 1908. *Systematic anatomy of the Dicotyledons*. v.2. Oxford Clarendon Press, 1182p.
- TUCKER, S.C. 1976. Intrusive growth of secretory oil cells in *Saururus cernuus*. *Bot. Gaz.*, 137, (4): 341-347.
- VAN TIEGHEM, P. 1908. Sur les canaux à mucilage de Piperées. *An. Sci. Natur. b.*, Paris, ser. 9, (7): 117-127.
- VATTIMO, I. 1968. Citomorfologia da folha das espécies conhecidas de Pau-Rosa. III - Estudo do limbo de *Aniba parviflora* (Meissn.) NEZ (Lauraceae). *Atas Soc. Biol. Rio Jan.*, 12 (2): 43-46.
- WERKER, E. & FAHN, A. 1981. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L.) AIT. - Development, ultrastructure and secretion. *Bot. Gaz.*, 142 (4): 461-476.
- WEST, W.C. 1969. Ontogeny of oil in the woody Ranales. *Bull. Torrey Bota. Club*, 96 (3): 329-344.

Recebido em: 22.07.97
Aprovado em: 14.07.99

BOLETIM DO MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI INSTRUÇÕES AOS AUTORES PARA PREPARAÇÃO DE MANUSCRITOS

- 1) O *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* dedica-se à publicação de trabalhos de pesquisas científicas que se referem, direta ou indiretamente, à Amazônia, nas áreas de Antropologia, Arqueologia, Lingüística, Botânica, Ciências da Terra e Zoologia.
- 2) Os manuscritos a serem submetidos devem ser enquadrados nas categorias de artigos originais, notas preliminares, artigos de revisão, resenhas bibliográficas ou comentários.
- 3) À Comissão de Editoração é reservado o direito de rejeitar ou encaminhar para revisão dos autores, os manuscritos submetidos que não cumprirem as orientações estabelecidas.
- 4) Os autores são responsáveis pelo conteúdo de seus trabalhos. Os manuscritos apresentados devem ser inéditos, não podendo ser simultaneamente apresentados a outro periódico. No caso de múltipla autoria, entende-se que há concordância de todos os autores em submeter o trabalho à publicação. A citação de comunicação de caráter pessoal, nos manuscritos, é de responsabilidade do autor.
- 5) A redação dos manuscritos deve ser, preferencialmente, em português, admitindo-se, contudo, manuscritos nos idiomas espanhol, inglês e francês.
- 6) O texto principal deve ser acompanhado de resumo, palavras-chave, "abstract", "key words", referências bibliográficas e, em separado, as tabelas e figuras com as legendas.
- 7) Palavras e letras a serem ingressas em negrito devem ser sublinhadas com dois traços e as impressas em grifo (itálico), com um só traço.
- 8) Os textos devem ser datilografados em papel tamanho A-4 ou similar, espaço duplo, tendo a margem esquerda 3 cm, evitando-se cortar palavras à direita. As posições das figuras e tabelas devem ser indicadas na margem. As páginas devem ser numeradas consecutivamente, independente das figuras e tabelas.
- 9) Os manuscritos devem ser entregues em quatro vias na forma definitiva, sendo uma original.
- 10) O título deve ser sucinto e direto e esclarecer o conteúdo do artigo, podendo ser completado por um subtítulo. O título corrente (resumo do título do artigo) deverá ser encaminhado em folha separada para que seja impresso no alto de cada página ímpar do artigo e não deverá ultrapassar 70 caracteres.
- 11) As referências bibliográficas e as citações no texto deverão seguir o "Guia para Apresentação de Manuscritos Submetidos à Publicação no *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*".
- 12) No artigo aparecerá a data do recebimento pelo Editor e a respectiva data de aprovação pela Comissão Editorial.
- 13) Os autores receberão, gratuitamente, 30 separatas de seu artigo e um fascículo completo.
- 14) Os manuscritos devem ser encaminhados com uma carta à Comissão de Editoração do Museu Paraense Emílio Goeldi-CNPq (Comissão de Editoração, Caixa Postal 399, 66040-170, Belém, Pará, Brasil).
- 15) Para maiores informações, consulte o "Guia para Apresentação de Manuscritos Submetidos à Publicação do *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*".