

## ANATOMIA FOLIAR COMPARADA ENTRE CLONES DE SERINGUEIRA (PB 235 e IAN 873)

Maria Bernadete Gonçalves Martins (IBILCE/UNESP/São José do Rio Preto)  
Rodrigo Zieri (IBILCE/UNESP/São José do Rio Preto)  
Aline Margareth Magri (IBILCE/UNESP/São José do Rio Preto)

**Resumo-** O objetivo do trabalho foi efetuar um estudo anatômico e morfológico foliar comparando os diferentes clones (PB 235 e IAN 873), sobre o mesmo porta enxerto (TJ1), desenvolvidos sob as mesmas condições edáficas e climáticas, com o intuito de obter informações que possam diferenciar os clones e também ter referências da localização e disposição dos laticíferos nos tecidos foliares. Foram realizadas secções transversais na região do mesofilo, nervura central e pecíolo, seguindo-se os métodos usuais de preparação de lâminas permanentes. Foram realizadas análises biométricas de extensões de tecidos dos parênquimas paliçádico e lacunoso e contagem do número de células do parênquima lacunoso. Paralelamente foram realizadas análises biométricas para aferições de estômatos. Comparando-se os dois clones através da análise de variância, foi observado que houve diferenças significativas entre vários parâmetros observados entre os clones. PB 235 apresentou maior altura de células epidérmicas, maior altura e maior número de camadas do parênquima lacunoso e maior espaço intramarginal na região do bordo foliolar em relação ao clone IAN 873. O clone IAN 873 obteve a maior espessura das células do parênquima paliçádico, o que pode estar correlacionado a uma maior eficiência fotossintética e consequentemente, maior produtividade. Estômatos em maior número, porém com menor tamanho, maior diâmetro do pecíolo e da nervura central do folíolo mediano em relação ao clone PB 235. O conteúdo de fibras de esclerênquima presente no clone IAN 873 foi superior ao encontrado no clone PB 235, sugerindo suportar maior resistência a períodos de seca.

**Palavras-chave:** anatomia, folha, seringueira, clones.

### 1. Introdução

*Hevea brasiliensis* (Euphorbiaceae) é uma planta de fácil reconhecimento por ser lenhosa, de porte mediano a grande, que apresenta um padrão característico de desfolha e reenfolhamento e, sobretudo, pela produção de látex.

No Brasil são encontradas 11 espécies, sendo o centro primário de diversidade genética de sete delas (Wycherley apud Colombo et al., 1989), incluindo a *Hevea brasiliensis* [(Willd. Ex. Adr. De Juss) Müel Arg.], que apresenta maior resistência à doenças, sendo a principal produtora de borracha natural, matéria prima para diversos ramos da indústria.

Embora a seringueira seja uma cultura originária de região de clima tropical e úmido (Bastos & Diniz, 1975), as regiões de produção comercial vão desde a latitude 24° N (China) até 25° S (litoral do estado de São Paulo), indicando que possui excepcional adaptação a grande variedade de condições edafoclimáticas (Ortolani, 1986). Entretanto, clones adaptados para uma determinada região nem sempre apresentam o mesmo desempenho em outra, devido à interação entre genótipo e ambiente (Gonçalves, 1982).

Muitos autores postularam variações de folhas sob diferentes condições ecológicas, entre eles, Shields (1950) e Esau (1960), verificaram que fatores ambientais podem induzir variações estruturais, ocasionando a xeromorfia. Dentre os fatores mais

utilizados para caracterização do xerofitismo estão: estômatos numerosos (Salisbury, 1927) e espessamento das folhas com maior compactação do mesofilo (Esau, 1960) entre outros.

Medri (1983), através do estudo anatômico comparado, utilizando seis clones de *Hevea* spp, observou uma estreita correlação entre a estrutura da folha e seu comportamento, indicando que a anatomia pode ser utilizada eficientemente como indicador de tolerância à seca, eficiência fotossintética e conseqüentemente de produtividade.

O objetivo desse trabalho foi efetuar um estudo anatômico e morfológico foliar comparando os diferentes clones (PB 235 e IAN 873), sobre o mesmo porta enxerto (TJ 1), desenvolvidos sob as mesmas condições edáficas e climáticas, com o intuito de obter informações que possam diferenciar os clones e também ter referências da localização e disposição dos laticíferos nos tecidos foliares.

## 2. Material e Método

O seringal foi instalado em janeiro de 1989 na área experimental do IAC, seção de Votuporanga-SP, a 20° 20' S de latitude, 49° 58' W de longitude e 510 m de altitude, em solo Podzólico Vermelho Escuro, latossólico eutrófico A moderado e textura arenosa média.

As árvores foram plantadas com espaçamento de 7,0 m entre linhas e de 3,0 metros entre plantas, ocupando uma área total de 1,2 hectare, dividida em três blocos, subdividido em 24 parcelas. O enxerto foi realizado sobre o clone TJ 1, e o experimento mantido em condições de campo.

Com a finalidade de caracterizar a histologia da lâmina foliar e do pecíolo e estabelecer uma análise comparativa entre a anatomia e morfologia dos clones (PB 235 e IAN 873), que fazem parte dos recomendados para produção em alta escala na região de Planalto (Gonçalves et al., 1991), foram coletadas folhas adultas do estrato inferior (8 metros de altura do solo), em bom estado fitossanitário e sob condição de sombreamento. Foi utilizada a porção mediana do folíolo central e a porção mediana do pecíolo.

O preparo do material para obtenção do laminário histológico para microscopia óptica constou basicamente de processos usuais utilizados em microtomia, que incluem: fixação do material vegetal (FAA-50%) em bomba à vácuo, desidratação na série alcoólica (etílica), infiltração em parafina, emblocamento do material, técnica de microtomia, distensão dos cortes, coloração dupla e montagem de lâminas permanentes (Miller, 1968).

As peças incluídas em parafina foram seccionadas em micrótomo rotativo, obtendo-se seções transversais da lâmina foliar, da nervura principal e transversal do pecíolo, para observação da cutícula, epiderme adaxial e abaxial, número de camadas de células e altura do mesofilo e localização dos laticíferos, padronizando a espessura do corte em 12µm.

Para observar o número e o tamanho de estômatos, foi utilizado a solução de Jeffrey (ácido crômico 10% e ácido nítrico 10% em partes iguais) na qual colocou-se partes correspondentes à região mediana de cinco folíolos de cada um dos clones (PB 235 e IAN 873) para dissociação das epidermes, permanecendo nessa solução por aproximadamente 72 horas. Após a dissociação, as epidermes foram coradas em safranina. A determinação do número e do tamanho estomático foi realizada através de ocular de retículo micrométrico, através de uma área determinada (número/mm<sup>2</sup>). Segundo Coutinho & Conforto (2001), esses dois clones apresentam maior densidade

estomática na região mediana do folíolo. Também foi utilizado neste trabalho a técnica de diafanização (Felippe e Alencastro,1966), com a finalidade de se estabelecer diferenças entre os padrões de nervuras.

O recurso utilizado para os cálculos estatísticos foi o programa Origin do qual a ferramenta utilizada foi o Teste One Way ANOVA com nível de significância a 5% .

### 3. Resultado e Discussão

A seringueira, quando enxertada, é uma árvore constituída de duas partes, que compreendem o enxerto (parte superior da planta) e o porta-enxerto (situado na porção inferior). Geralmente, em um cultivo comercial, os clones são escolhidos quanto à sua adaptabilidade às condições locais. Quanto ao porta-enxerto, desde que preencha as condições ideais de enxertia, pouca importância lhe é dada quanto à sua procedência ou descendência. No entanto, há muito tempo tem sido demonstrada a influência do porta-enxerto no crescimento e produção do enxerto; onde ocorreu uma variação de 14 a 40% para a produção, e de 7 a 25% para o crescimento, provavelmente causada pela heterogeneidade do porta-enxerto (Gonçalves et al., 1994).

Análises histológicas permitiram diferenciar os dois clones estudados em relação a vários parâmetros morfológicos e anatômicos (Tabela I) por apresentarem referência para o diagnóstico de plantas com resistência à seca.

O limbo foliolar (Figura 1) de *Hevea brasiliensis* é dorsiventral, apresenta-se com epiderme superior (adaxial), parênquima paliçádico unisseriado, parênquima lacunoso com três a cinco camadas de células e epiderme inferior (abaxial). Em relação à altura das epidermes abaxial e adaxial, os clones PB 235 e IAN 873 apresentaram diferenças, sendo que PB 235 obteve maior média em relação a IAN 873 (Tabela I).

**Tabela I.** Valores médios, desvio padrão e análise de variância para altura da epiderme adaxial e abaxial, altura do parênquima paliçádico, altura do parênquima lacunoso, número de camadas de células do parênquima lacunoso, comprimento, largura (mm) e densidade estomática (mm<sup>2</sup>) para dois clones de seringueira.

Clones	Ep. Ada	Ep. Aba	Alt. p.p.	Alt. p.l.	Cam. p.p.	Comp. est.	Larg. est.	Dens. est.
<b>PB 235</b>	0.12	0.08	0.40	0.60	5	0,50	0,32	222,57
<b>IAN 873</b>	0.09	0.07	0.44	0.50	3,5	0,37	0,24	268,50
<b>D.P.</b>	1,69E-4*	0.02*	0.01*	0,78E-2*	6,12E-8*	1,38E-6*	0,17E-2*	0,48E-3*

\* significativo à 5% probabilidade

Em ambos os clones, a cutícula da epiderme superior é glabra, sendo que a da epiderme inferior mostra saliências opticamente semelhantes a pêlos, o que está de acordo com Medri (1977).

Os clones PB 235 e IAN 873 apresentam diferenças significativas quanto à altura do parênquima paliçádico, sendo que o clone IAN 873 obteve a maior média (0,44mm) em relação ao PB 235 (0,40mm), sugerindo maior eficiência fotossintética e consequentemente maior produtividade (Tabela I). Diferenças não significativas foram encontradas por Coutinho & Conforto (2001), que obteve uma média de 38,32 µm para IAN 873 e 39,39 µm para PB 235.

A tabela I mostra que há diferenças quando comparados os valores relativos à espessura e ao número de camadas do parênquima lacunoso. O clone PB 235 apresenta maior média referente aos valores relativos à altura e ao número de camadas do parênquima lacunoso em relação ao clone IAN 873. Coutinho & Conforto (2001), em

seu trabalho verificou que este parâmetro anatômico era distinto nos dois clones, tendo IAN 873 uma média de 46,49 $\mu$ m e PB 235 55,86  $\mu$ m.

Os valores médios do comprimento e da largura estomática entre os clones PB 235 e IAN 873 indicam que há diferenças quando comparadas essas duas características nos dois clones. O clone PB 235 obteve a maior média referente aos valores de comprimento e largura estomática em relação ao clone IAN 873 (Tabela I).

O número médio de estômatos por unidade de área apresentou diferenças significativas quando comparado os dois clones. O clone IAN 873 apresentou maior número de estômatos em relação ao PB 235 (Tabela I).

Existem diversos fatores atuando de diferentes modos, ocasionando variações entre os valores de densidade estomática encontradas em vários trabalhos. Gomez & Hamzah (1983) observaram diferenças na densidade estomática entre plantas do mesmo clone, entre idades das folhas do mesmo clone (tendo geralmente as mais velhas, maior número de estômatos), e entre local de amostragem da folha (maior número estomático quanto maior a exposição ao sol).

Como constatado no presente trabalho e descrito por Medri (1977), os laticíferos ocorrem na região floemática das nervuras e entre os parênquimas paliçádico e lacunoso da lâmina foliar (Figura 1).

O padrão morfológico das folhas de PB 235 e IAN 873, apresentou folíolos de forma elíptica, com ápice acuminado, base côncava, margem inteira, levemente ondulada, sendo que o padrão de nervuras primárias é pinado e as demais nervuras (2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup>) são reticuladas (Figura 2 A-C). Ocorre diferenciação foliar na região do bordo, observada através do processo de diafanização em relação ao espaço intramarginal (figura 2 B-D). PB 235 apresenta o espaço intramarginal maior e bem definido em relação ao IAN 873.

Segundo Medri (1977), os reforços mecânicos, representados por abundante desenvolvimento do esclerênquima, aumentam com a altura da planta (xerofitismo), e são interpretados como estruturas que reduzem os efeitos danosos produzidos pelo murchamento. Analisando a nervura central do folíolo e o pecíolo, IAN 873 apresentou maior diâmetro da nervura central do folíolo e do pecíolo e maior quantidade de fibras de esclerênquima que a PB 235 (Figuras 3 e 4).

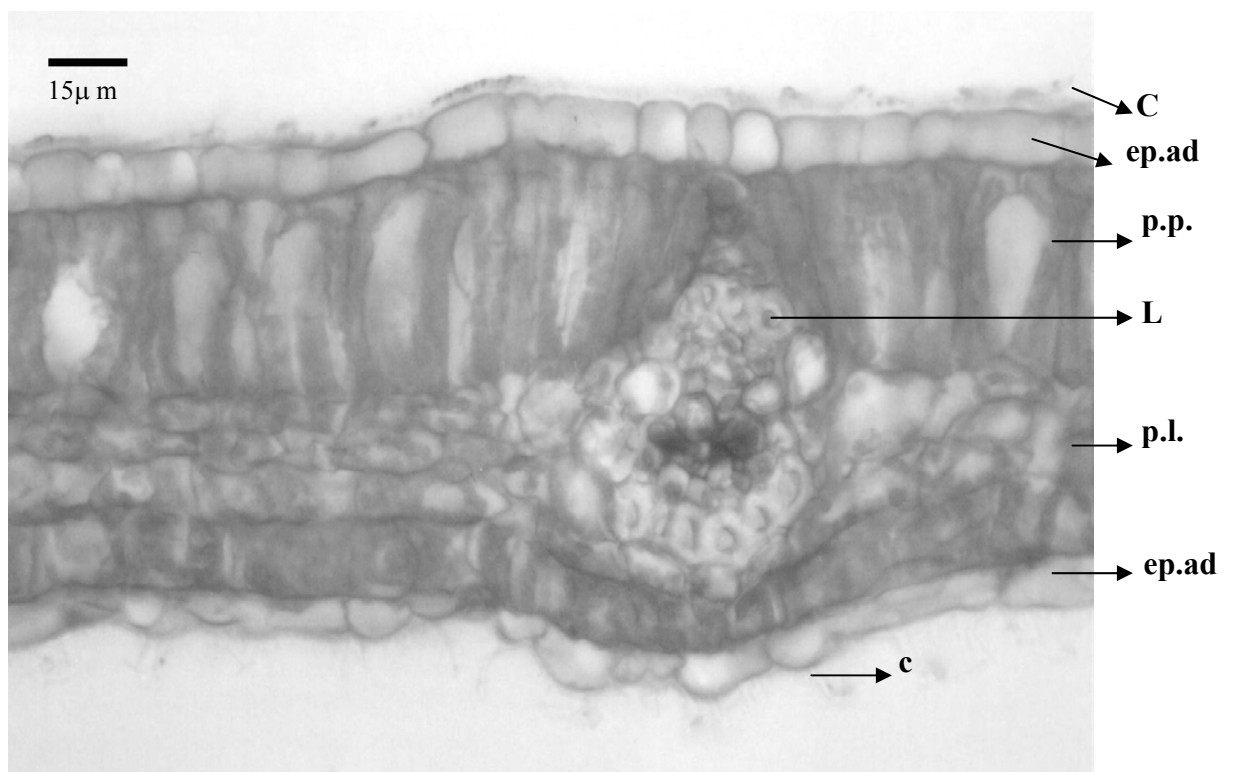


Figura 1 : Secção transversal da região do limbo foliolar médiano de *Hevea brasiliensis* (Clone PB 235). Coloração Safra-Blau.  
(c- cutícula; ep.ad.- epiderme adaxial; p.p.- parênquima paliçádico; L – laticífero; p.l - parênquima lacunoso; ep. ab. – epiderme abaxial).

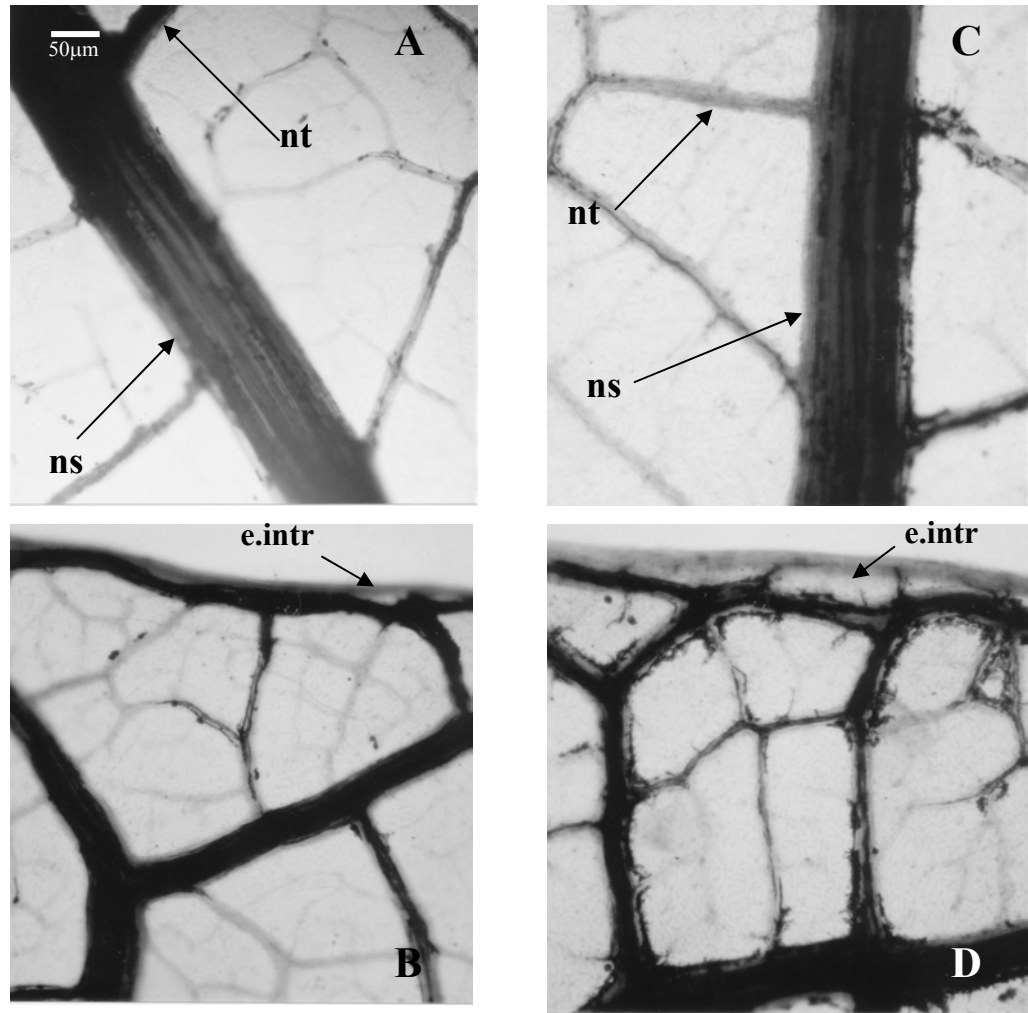


Figura 2: Folhas diafanizadas de *Hevea brasiliensis*.

A: Clone IAN 873 mostrando nervura secundária e nervuras terciárias.

B: Clone de IAN 873 mostrando a região do bordo, próximo ao ápice da  
folha.

C: Clone PB 235 mostrando nervura secundária e nervuras terciárias.

D: Clone de PB 235 mostrando a região do bordo, próximo ao ápice da  
folha

(ns – nervura secundária; nt – nervura terciária; e.intr – espaço  
intramarginal)

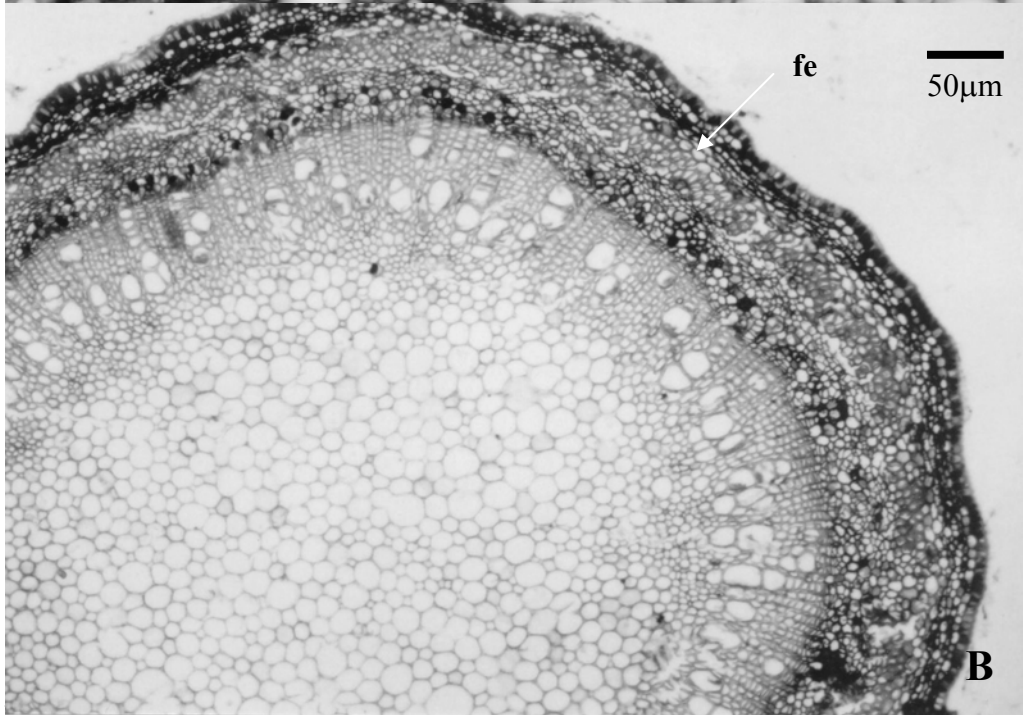
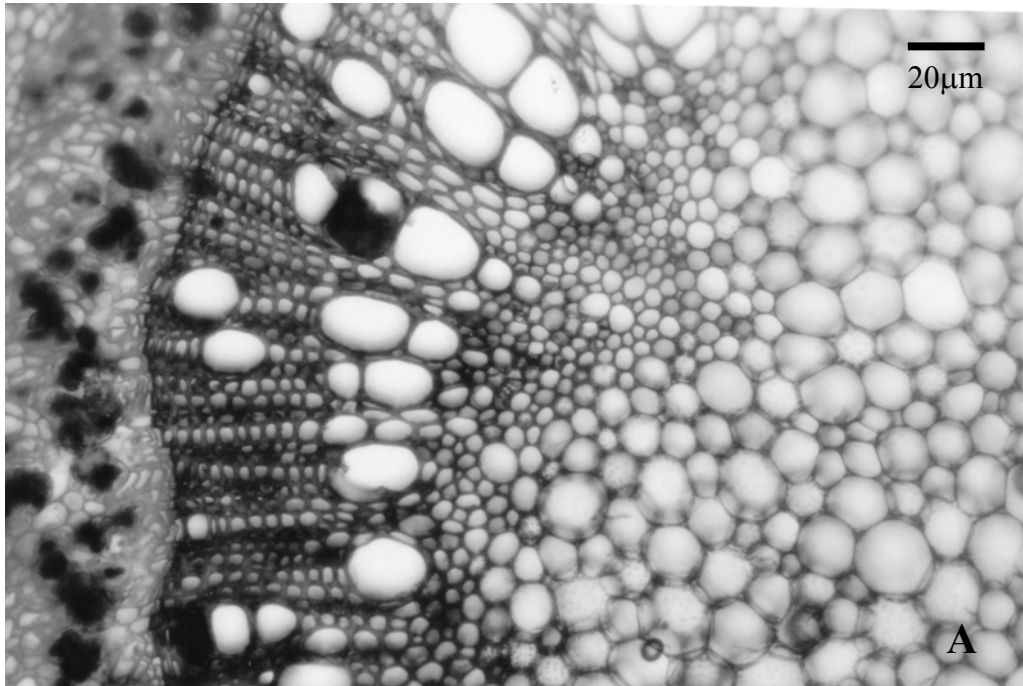


Figura  
Coloração

Safra-Blau

A: Clone IAN 873

B: Cone PB 235

(fe – fibra de esclerênquima)

5.

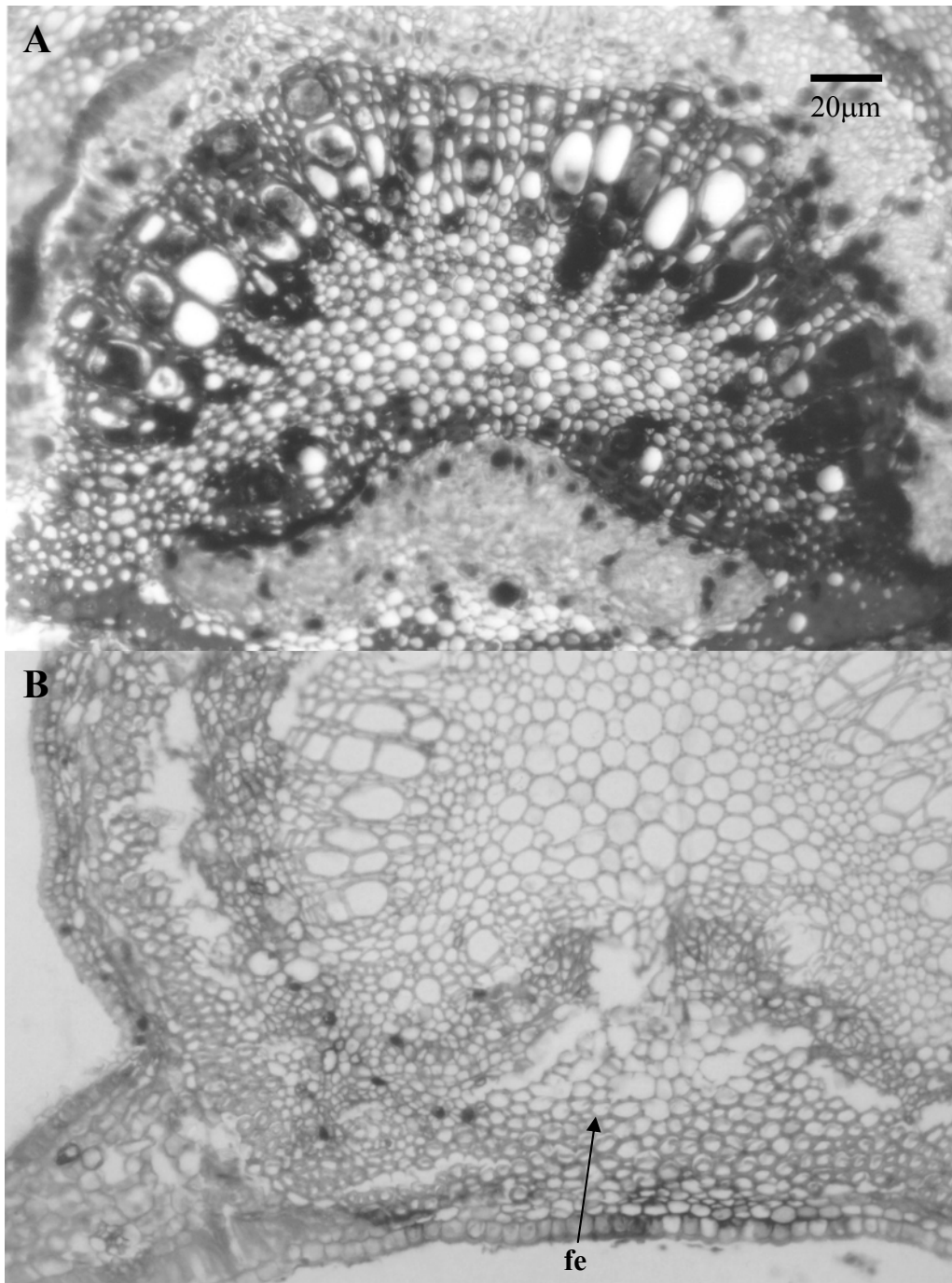


Figura 4 : Secção transversal da região da nervura principal da folha de *Hevea brasiliensis*.

Coloração Safra-Blau.

A: Clone IAN 873

B: Clone PB 235

(fe – fibra de esclerênquima)



#### 4. Conclusão

- 1- O clone IAN 873 apresentou maior diâmetro da nervura central do folíolo e do diâmetro do pecíolo, em relação ao clone PB 235.
- 2- PB 235 apresentou maior espaço intramarginal observado na região do bordo foliar em relação ao clone IAN 873.
- 3- Houve diferença em relação à altura da epiderme, sendo que PB 235 apresentou-se com maior altura em relação a IAN 873.
- 4- Foi observado que houve diferença quanto à altura do parênquima paliçádico, sendo que o clone IAN 873 obteve a maior média em relação ao PB 235, o que sugere possuir uma maior eficiência fotossintética e conseqüentemente maior produtividade.
- 5- Houve diferença quando comparados os valores relativos à espessura e ao número de camadas dos parênquimas lacunoso, sendo que PB 235 apresenta maior número de camadas e maior altura em relação à IAN 873.
- 6- IAN 873 apresentou maior número de estômatos em relação ao clone PB 235, porém com menor tamanho.
- 7- IAN 873 apresentou maior conteúdo de fibras de esclerênquima em relação à PB 235, sugerindo suportar com maior resistência os períodos de seca.
- 8- Ocorreu a presença de laticíferos na região floemática das nervuras e entre ao parênquimas paliçádico e lacunoso da lâmina foliar.

#### 5. Referências Bibliográficas

- BASTOS, T. X.; DINIZ, T. D. A. S. **Clima típico da seringueira**. Belém: Embrapa-CPATU, 1975. 12 p.
- COUTINHO, A. C. F.; CONFORTO, E. C. Desenvolvimento vegetativo, estrutura do limbo foliolar e trocas gasosas em plântulas de cinco clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*, Müell. Arg.). **Naturalia**, v.26, p.159-174, 2001.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. New York, Wiley & Sons, 1960. 376 p.
- FELIPE, G. M. & ALENCASTRO, F. M. M. R. Contribuição ao estudo da nervação foliar das compostas dos cerrados. I – Tribos Helinieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisieae e Senecioneae. **An. Acad. Bras. Ciên.**, Rio de Janeiro, v. 38 (supl.), p. 125 – 158, 1966.
- GOMEZ, J. B. ; HAMZAH, S. B. Variations in Leaf Morphology and Anatomy between Clones of *Hevea*. **Journal of the Research Institute of Malaysia**. v. 28, n. 3, 1983.
- GONÇALVES, P. S.; MARTINS, M.; BOAVENTURA, M. A. A.; ORTOLANI, C. A. Clones de Hevea: influência dos fatores ambientais na produção e recomendação para o plantio. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico**, n. 138, 1991.
- GONÇALVES, P. S. et al. Comportamento preliminar de alguns clones de seringueira. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 17, n.10, p.1447-56, 1982.
- GONÇALVES, P. S.; MARTINS, A.L.M.; GORGULHO, E. P.; BORTOLETTO, N. BERMOND, G. Influência de seis porta-enxertos no crescimento de clones de seringueira - avaliação preliminar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n.4, p. 553-560, 1994.
- MEDRI, M. E. Alguns aspectos da anatomia de folha de *Hevea brasiliensis* Müell. Arg. Manaus, 1977. 107p. Dissertação (mestrado)-Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia.

- MEDRI, M. E.; LLERAS, E. Quantificação e uso de caracteres anatômicos e fisiológicos de folhas na determinação de eficiência hídrica em clones de *Hevea* spp. **Acta Amazônica**, v. 13, n. 2, p. 261-288, 1983.
- MILLER, L. *Apostila do curso de Microtécnica e Fotomicrografia*. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 1968.
- ORTOLANI, A. A. Agroclimatologia e cultivo da seringueira. **Anais do simpósio sobre a cultura de seringueira no estado de São Paulo**. Campinas, Fundação Cargill, p. 11-32, 1986.
- SALISBURY, E.J. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to woodland flora. **Phil. Trans. Roy. Soc. London ser. B.** ,v.46, p. 1-65, 1927.
- SHIELDS, L. M. Leaf xeromorphy as related to physiological and structural influences. **Bot.Rev.**, v.16, p. 399-477, 1950.