

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS

MONICK LIMA CARVALHO

MORFOANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES ENDÊMICAS DA CHAPADA DIAMANTINA, BA, BRASIL: *POUTERIA ANDARAHIENSIS* T.D. PENN. E *POUTERIA SUBSESSILIFOLIA* CRONQ. (SAPOTACEAE)

Feira de Santana - BA 2020

MONICK LIMA CARVALHO

MORFOANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES ENDÊMICAS DA CHAPADA DIAMANTINA: *POUTERIA ANDARAHIENSIS* T.D. PENN. E *POUTERIA SUBSESSILIFOLIA* CRONQ. (SAPOTACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Elena Carneiro

Feira de Santana - BA 2020

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

Carvalho, Monick Lima C325m Morfoanatomia foliar de duas espécies endêmicas da Chapada Diamantina: *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. (Sapotaceae) / Monick Lima Carvalho. - 2020. 57f. : il. Orientadora: Cláudia Elena Carneiro Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2020. 1. Anatomia foliar. 2. Chysophylloideae. 3. Xeromorfia. 4. Sapotaceae. I. Carneiro, Cláudia Elena, orient. II. Universidade Estadual de Feira de Santana. III. Título. CDU: 582.92

Rejane Maria Rosa Ribeiro – Bibliotecária CRB-5/695

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Kelly Regina Batista Leite (Universidade Federal da Bahia - UFBA)

Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos (Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)

taitellabournero) 1

Profa. Dra. Cláudia Elena Carneiro (Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS) Orientadora e Presidente da Banca

> Feira de Santana – BA 2020

A minha mãe por todo amor e apoio em mais uma jornada.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por nunca me deixar só, por guiar os meus passos e ser Aquele ao qual, sempre posso recorrer.

A Cláudia, por me acolher, por me ensinar, me encorajar, por me mostrar uma luz no fim do túnel em todas as minhas crises de desespero, por ser além de orientadora, amiga. De todas as escolhas que tive que fazer ao longo da minha carreira acadêmica, te pedir orientação foi sem dúvidas, uma das melhores.

A minha mãe, por ser meu porto seguro, por estar lá por mim sempre, por me apoiar e torcer por mim em cada passo da minha vida, por me amar e ser tudo que eu preciso.

A minha irmã por todas as conversas, pela força, e pelos momentos juntas. A minha família por todo apoio, incentivo e compreensão.

Aos lamivianos pelo acolhimento, em especial a Rísia, por me acompanhar durante esses dois anos, por ouvir todos os meus desabafos, por sempre cuidar de mim e compartilhar os bons e maus momentos comigo, a Sama, por me ajudar com todas as minhas dúvidas e pelo companheirismo e a Josy, por também me ajudar com minhas dúvidas, e por me mostrar que por pior que seja, nunca está tão ruim (kkkk), o Luís e a Debbie, por todas as conversas e risadas compartilhadas no horário de almoço.

A meus amigos que estiveram por perto, mesmo quando nossas vidas tomaram rumos diferentes e que entenderam minhas ausências, em especial a Aline, e a Bah, vocês são especiais e tem um lugarzinho guardado aqui comigo que sempre serão de vocês.

A meus colegas de turma, que compartilharam de boa parte dessa jornada junto comigo.

À Fundação Oswaldo Cruz da Bahia (Fiocruz- Bahia), na pessoa do Márcio Ferreira dos Santos, pelo auxílio e gentileza prestados.

À Universidade Estadual de Feira de Santana pela estrutura disponibilizada para a realização deste trabalho, ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Veg por me permitir concluir mais um passo em minha jornada acadêmica e pessoal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (C4 Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, eu deixo aqui o meu agradecimento.

"Há tantas maneiras de ser corajoso neste mundo. Às vezes a bravura implica em entregar sua vida por algo maior que si mesmo, ou por outra pessoa. Às vezes implica em abrir mão de tudo o que você já conhecia ou todos que já amou, por causa de algo maior. Mas às vezes isso não acontece. Às vezes não é nada mais do que ranger os dentes com a dor, e o trabalho de cada dia, a lenta caminhada em direção a uma vida melhor."

Veronica Roth

RESUMO

CARVALHO, M. L. Morfoanatomia foliar de duas espécies endêmicas da Chapada Diamantina: *Pouteria andarahiensis* T.D.Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. (Sapotaceae). 68 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, 2020.

A família Sapotaceae tem grande relevância na flora brasileira, apresentando uma grande diversidade, com importância ecológica e econômica bem definidas. Pouteria é o gênero mais representativo desta família e com maior número de espécies endêmicas. O presente estudo teve como objetivo analisar, através de técnicas micromorfológicas e histoquímicas, as folhas das espécies Pouteria andarahiensis T.D. Penn. e Pouteria subsessilifolia Crong., endêmicas da Chapada Diamantina. A análise da arquitetura foliar descreveu características que podem auxiliar na identificação das espécies em estado vegetativo. A superfície foliar foi analisada em microscopia de luz e em microscopia eletrônica de varredura, apresentando dados inéditos para as espécies, e a ornamentação da cutícula sugere adaptações a ambientes xéricos. A anatomia da lâmina foliar e do pecíolo apresentaram caracteres que diferenciam as espécies estudadas, com destaque para a presença de três camadas de parênquima paliçádico, colunas esclerenquimáticas no mesofilo e camada subepidérmica de esclerênquima conectando os feixes vasculares no mesofilo, estes caracteres além de diferenciar as espécies são também, consideradaso características associadas a xeromorfia. A análise histoquímica indicou a necessidade de estudos aprofundados sobre a composição dos compostos indicados no presente trabalho.

Palavras-chave: Anatomia foliar. Chrysophylloideae. Xeromorfia.

ABSTRACT

CARVALHO, M. L. Leaf Morphoanatomy of two endemic species of the Chapada Diamantina: *Pouteria andarahiensis* **T.D.Penn. and** *Pouteria subsessilifolia* **Cronq.** (Sapotaceae). 68 p. Master's thesis (Master in Plant Genetic Resources) – State University of Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, 2020.

The Sapotaceae family has great relevance in the Brazilian flora, due to the high diversity and well-defined economic and ecological importance. *Pouteria* is the most representative genus of this family and with the largest number of endemic species. The present study aimed to analyze, using micromorphological and histochemical techniques, the leaves of *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. and *Pouteria subsessilifolia* Cronq. endemic to Chapada Diamantina. The analysis of leaf architecture described characteristics that can help in the identification of species in a vegetative state. The leaf surface was analyzed using light microscopy and scanning electron microscopy, presenting unprecedented data for the species, and the cuticle ornamentation suggests adaptations to xeric environments. The transverse cuts made on the leaf blade and on the petiole were made freehand and with a freezing microtome. The anatomy of the leaf blade and petiole showed characters that differentiate the species studied, and are xeromorphic features, with emphasis on the presence of three layers of palisade parenchyma, sclerenchymatous columns in the mesophyll and subepidermal layer of sclerenchyma connecting the vascular bundles in the mesophyll. Histochemical analysis indicated the need for in-depth studies on the composition of the compounds indicated in the present study.

Keywords: Keywords: Leaf anatomy; Chrysophylloideae; Xeromorphism.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Pouteria andarahiensis T.D. Penn. em campo. A Individuo inteiro. B Presença de látex esbranquiçado nos ramos. C Fruto maduro vináceo. D Ramos com folhas alternas-espiraladas e botões florais.
 26
- Figura 2: Pouteria subsessilifolia Cronq. em campo. A Semente com cicatriz. B Fruto maduro vináceo. C Inflorescência terminal, recoberta de tricomas ferrugíneos. D Individuo inteiro com folhas alternas-espiraladas.
- Figura 3: Folha diafanizada de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. A-C. *Pouteria andarahiensis*. A Ápice foliar demonstrando a nervura principal que se afina gradativamente em direção ao ápice, arcos primários (ap) formado por nervuras secundárias e nervuras intersecundárias. B Região mediana da lâmina foliar enfatizando as nervuras secundárias (ns) alternadas. C Base foliar com destaque para a nervura principal com espessura grossa e nervuras terciárias (nt). D-F. *Pouteria subsessilifolia*. D Ápice foliar mostrando nervura principal com menor calibre na extremidade, os arcos primários (ap) formados pelas nervuras secundárias e os arcos secundários (as) formados pelas nervuras intersecundárias. E Região mediana da lâmina foliar, mostrando as nervuras guaternárias. F Base foliar demonstrando a nervura primária com maior calibre, nervuras secundárias e terciárias. Barra: A-B-D-E-F = 2 mm; C = 1 mm.
- Figura 4: Folha diafanizada de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. A-B. *Pouteria andarahiensis*. A Região mediana da lâmina foliar com enfoque nas nervuras secundárias (ns), terciárias (nt), quaternárias (nq), de quinta ordem (no) e vênulas terminais livres (FEVs). B Bordo da lâmina foliar evidenciando o arco primário (ap) formado por uma nervura secundária que se conecta a uma nervura intersecundárias, nervuras secundárias (ns), intersecundárias (ni) e terciárias (nt). C-D. *Pouteria subsessilifolia*. C Bordo do ápice foliar evidenciando as nervuras secundárias (ns), intersecundárias (nq). D Bordo da base foliar evidenciando a nervura primária única (np), nervuras secundárias (ns), intersecundárias (ni) terciárias (nt), quaternárias (nq) e as vênulas terminais livres (FEVs). Barra: A = 0,5 mm; B-C-D = 2 mm.
- Figura 5: Epiderme de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
 A-B Face adaxial evidenciando cutícula ondulada e com plaquetas (pl).
 C Face abaxial evidenciando os estômatos e padrão de ornamentação da cutícula recobertas de estrias (et), na nervura (n) e nas regiões intercostal.
 D Face abaxial evidenciando a nervura principal (np) e a nervura secundária (ns), e estômatos ocorrendo apenas nas regiões intercostais.
 E Detalhe da ornamentação da cutícula na face abaxial.

- Face abaxial com ênfase nas plaquetas(pl) presente nas estrias da cutícula ao redor dos estômatos (es). **G** - Ênfase no estômato (es) recoberto de plaquetas (pl) na face abaxial. **H** - Tricoma malpiguiáceo em forma de "T". Barra:A = 20 μm; B; F = 10 μm; C-D = 100 μm; E; G-H = 50 μm 32

- Figura 6: Epiderme de *Pouteria subsessilifolia* Cronq. vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A-B Epiderme adaxial com ênfase para os tricomas (t) e as plaquetas (pl) ornamentando a cutícula. C Epiderme, demonstrando a presença de tricomas malphiguiáceos (t), cicatrizes de tricomas (ct), cuticula com plaquetas (pl). D Ornamentação da cutícula (c) com foco nas cicatrizes de tricoma (ct). E Ornamentação da cutícula com ênfase no estômato (es). Barra: A-C = 50 μm. D-E = 20 μm.
- Figura 7: Epiderme de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. A-B Face adaxial. A Dois formatos celulares podem ser visualizados: quadrado (cq) e poligonal (cp) B Cicatriz de tricoma com cinco células na base (ct), células poligonais (cp) e paredes anticlinais retas (pr). C-H Face abaxial. C Estômatos (es) numerosos, estrias (et) e cicatrizes de tricomas (ct). D Destaque para os estômatos (es), formato celular e estrias (et). E Destaque para a nervura (n), estômatos (es), formato celular e estrias (et). F Cicatriz de tricoma (ct) com quatro células na base, estômatos (es) e estrias (et). G Destaque para estrias (et) circundando os estômatos (es). H Estômato (es) anisocítico evidenciado. Barra: A-B; D-G = 50 μm; C = 200 μm; H = 20 μm.
- Figura 8: Pouteria subsessilifolia Cronq. A Superfície adaxial, enfatizando as células poligonais (cp) e as paredes anticlinais retas. BFace abaxial, contendo estômatos (es) numerosos e cicatrizes de tricoma (ct) nas regiões costais e intercostais. C Visão de um estomato anisocitico (esa). D Estomato tetracitico (est). E Tricoma malpigiáceo do tipo II. F Tricoma malpigiáceo do tipo I. Barra: A; E-F = 50 μm; B = 200 μm; C-D = 20 μm 35
- Figura 9: Lâmina foliar de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. A Mesofilo enfatizando a nervura principal, a presença de feixes acessórios, laticíferos e o parênquima paliçádico. B
 Mesofilo evidenciando a epiderme, parênquima paliçádico, colunas de células esclerenquimáticas. C Feixes vasculares (fv) no mesofilo, laticíferos (l), parênquima paliçádico (pp), bainha de esclerênquima (eq) que forma uma camada subepidérmica que conecta os feixes. Barra: A = 500 µm; B = 200 µm; C 50 µm
- Figura 10: Lâmina foliar de *Pouteria subsessilifolia* Cronq. A Mesofilo. B Mesofilo evidenciando a cutícula (c) espessa, parênquima paliçádico (pp) e esponjoso (pe), feixe vascular (fv), coluna de esclerênquima e a presença de estômato (es). C Mesofilo evidenciando a epiderme (e) e as três camadas do parênquima paliçadico (pp). Barra: A = 500 μm; B-C 200 μm.

- **Figura 11:** A-C-E. *Pouteria andarahiensis.* A Bordo da lâmina foliar de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. A Bordo fletido, demonstrando o parênquima paliçádico (pp), feixe vascular (fv) acompanhado de células esclerenquimáticas (eq) e laticíferos (l). B Bordo da lâmina foliar de *Pouteria subsessilifolia* Cronq. Bordo reto com cutícula espessa (c), três camadas de parênquima paliçádico (pp), coluna de esclerênquima (ce), feixe vascular (fv), parênquima esponjoso (pe) e laticíferos (l) na porção distal do bordo. Barra: A-C = 500 µm; A-B-D-E = 200 µm. 42
- Figura 12: Análises histoquímicas. A-C-E = Pouteria andarahiensis T. D. Penn. B-D-F = Pouteria subsessilifolia Cronq. A-B Reação positiva para presença de amido. C-D Reação positiva pela presença de lignina. E-F Reação positiva para a presença de compostos fenólicos. Barra: A-B-C = 200 μm; D-E-F = 500 μm
- Figura 13: Análises histoquímicas. A-C-E = Pouteria andarahiensis T. D. Penn. B-D-F = Pouteria subsessilifolia Cronq. A-B Reação positiva para a presença de lipídios no pecíolo utilizando Sudan III. C-D Reação positiva para a presença de lipídios no pecíolo utilizando Sudan IV. E-F Reação positiva para a presença de açucares redutores. Barra: A-D-F = 200 μm; B-C-E = 500 μm

LISTA DE ABREVIATURAS

 $\mathbf{c} - \mathrm{Cut}$ ícula

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

ce – Coluna de esclerênquima

co – Colênquima

CNFLORA - Centro Nacional de Conservação da Flora

ct – Cicatriz de tricoma

cp – Células poligonais

cr – Células retangulares

e-Estômato

ep – Epiderme

eq - Esclerênquima

est – Estômato tetracíticos

esa – Estômatos anisocíticos

et - Estrias

fa – Feixes acessórios

FAA - Formaldeído + Ácido Acético Glacial + Etanol 70%

FEVs – Vênulas terminais livres

fl – Floema

 \mathbf{fv} – Feixe vascular

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

HUEFS - Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana

HUNEB – Herbário da Universidade do Estado da Bahia

IUCN – International Union for Conservation of Nature

 $\mathbf{l}-Laticiferos$

LAMIV – Laboratório de Micromorfologia Vegetal

 $\mathbf{m} - Medula$

MEV – Microscópio Eletrônico de Varredura

n – Nervura

ni – Nervuras Intersecundárias

np – Nervura primária

nq – Nervura quaternária

ns – Nervura secundária

nt – Nervura terciária

pe – Parênquima esponjoso

PEG – Polietilenoglicol 1500

pl – Plaquetas

pp – Parênquima paliçádico

pr – Parede anticlinais retas

 $\mathbf{t} - Tricoma$

UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana

x – Xilema

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1	Amostragem	19
2.2	Coleta e armazenamento	19
2.3	Processamento e montagem	20
2.3.1	Arquitetura foliar	20
2.3.2	Anatomia foliar	20
2.3.3	Histoquímica	22
2.3.4	Análise e documentação	22
3	RESULTADOS	24
3.1	Arquitetura foliar	24
3.2	Anatomia foliar	30
3.2.1	Epiderme foliar	30
3.2.2	Mesofilo	36
3.2.3	Nervura central	36
3.2.4	Bordo	40
3.2.5	Pecíolo	41
3.3	Histoquímica	43
4	DISCUSSÃO	46
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
6	REFERÊNCIAS	52
	APÊNDICE A- MATERIAL EXAMINADO	58

1. INTRODUÇÃO

A família Sapotaceae Juss. apresenta cerca de 1.250 espécies distribuídas em 53 gêneros encontradas nas regiões subtropicais e tropicais do globo (PENNINGTON, 1991; GOVAERTS et al., 2001). As espécies de Sapotaceae são mais comumente encontradas em florestas úmidas (PENNINGTON, 2004) e são representadas por arbustos e árvores de médio a grande porte, que apresentam como características diagnósticas: látex branco leitoso encontrado na casca, ramos, folhas e frutos; folhas simples, inteiras, geralmente alterno-espiraladas; indumento formado por tricomas malpighiáceos; flores bissexuais ou unissexuais em inflorescências do tipo fascículos axilares, ramifloros ou caulifloros, estames epipétalos, estaminódios podem ou não estar presentes, frutos do tipo baga ou drupa e sementes com hilo característico (PENNINGTON, 1990; GENTRY, 1993; SWENSON e ANDERBERG, 2005). No Brasil, há registro de ocorrência para 12 gêneros que contam com 236 espécies e 25 subespécies, distribuídas sobre os seis domínios fitogeográficos brasileiros (Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata atlântica, Pampa e Pantanal), com destaque para as regiões amazônica e de Mata Atlântica (PENNINGTON, 2006; FLORA DO BRASIL, 2020).

O estudo de revisão mais recente para Sapotaceae foi realizado por Pennington (1991), no qual utilizou dados morfológicos, classificando a família em cinco tribos: Chrysophylleae, Isonandreae, Mimusopeae, Omphalocarpeae e Syderoxyleae. No entanto, estudos filogenéticos realizados por Swenson e Anderberg (2005) não apresentaram resultados que sustentassem a classificação proposta por Pennington, com exceção para Syderoxyleae. Sendo assim, estes demonstraram que os caracteres morfológicos por si só, não são suficientes para uma classificação estável, então propuseram uma classificação sustentada por caracteres morfológicos juntamente com dados moleculares, três subfamílias foram reconhecidas, sendo elas: Sarcospermatoideae, Sapotoideae e Chrysophylloideae.

A subfamília Sarcospermatoideae se restringe à Ásia, Sapotoideae ocorre predominantemente na África e Ásia, e Chrysophylloideae ocorre predominantemente na América do Sul e Australásia (SWENSON et al., 2013). A subfamília Chrysophylloideae se destaca por conter o maior agrupamento dentro da família, constituído por 28 gêneros e cerca de 600 espécies. No Brasil, nove dos 12 gêneros ocorrentes pertencem a subfamília Chrysophylloideae (VASCONCELOS et al., 2020).

Dentre os gêneros presentes na subfamília Chrysophylloideae, o gênero *Pouteria* Aubl. se destaca por apresentar cerca de 200 espécies, sendo que 121 delas possuem representantes no Brasil (ALVES-ARAÚJO et al., 2014). *Pouteria* é o maior gênero da família em número de espécies e apresenta grande variedade morfológica, sendo caracterizado pelo hábito predominantemente arbóreo, ausência de estípulas, flores com 4-6 sépalas, estames isostêmones opostos aos lobos da corola, estaminódios alternos aos lobos da corola, ovário 1-6-(15) locular e semente com cicatriz adaxial, com ou sem endosperma (PENNINGTON, 1991). Apesar da monoicia ser amplamente difundida entre os gêneros da família, os gêneros *Pouteria* e *Chrysophyllum* L. apresentam a maioria de suas espécies dioicas (PENNINGTON, 1990).

Os táxons da família Sapotaceae apresentam alto potencial alimentício e são de grande importância ecológica, pois também participam da dieta de animais em regiões florestais; na medicina sua importância encontra-se nas propriedades de combate a infecções dos tratos respiratório e digestivo, além de anti-inflamatórios, antitérmicos e antidesentérica de seus representantes (METCALFE e CHALK, 1972; PENNINGTON, 1990, 2004; RIBEIRO et al., 1999; SOUZA e LORENZI, 2005). São importantes também na indústria madeireira e de construção civil, além de possuírem alta capacidade na produção de látex.

Apesar de sua grande importância econômica, alimentícia e na indústria farmacêutica, os trabalhos dedicados a família Sapotaceae ainda são poucos, destacando-se Cronquist (1946) e Pennington (1990; 1991) com abordagens taxonômicas, Harley (1991) abordando a palinologia, Costa (2007) que apresenta a anatomia da madeira, Bartish et al. (2005), Anderberg e Swenson (2003) e Swenson e Anderberg (2005) com estudos moleculares.

Os estudos voltados para o gênero *Pouteria* são ainda mais escassos, destacando-se Monteiro et al. (2007) que apresentaram o tratamento taxonômico e a anatomia foliar para as espécies de *Pouteria* do Rio de Janeiro; Alves-Araújo (2014) que apresentou o tratamento taxonômico para as espécies de *Pouteria* na porção norte da Mata Atlântica; Silva et al. (2009) que apresentaram uma revisão sobre a composição química e atividades biológicas para o gênero; Ma et al. (2004) que isolaram e identificaram compostos antioxidantes presentes nos frutos de três espécies de *Pouteria* utilizando cromatografia líquida; e Triono (2007) que apresentou um estudo filogenético para as espécies do gênero que ocorrem na Malásia e Australásia. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados acerca da distribuição geográfica e conhecimento taxonômico do gênero.

Os estudos anatômicos são escassos, tanto para a família como para o gênero, destacandose os trabalhos de Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1950) que reuniram características anatômicas relevantes para as principais famílias de dicotiledôneas, sendo até hoje utilizados como base para a descrição de trabalhos anatômicos. Além dessas duas obras, podemos destacar alguns estudos anatômicos realizados para espécies de outros gêneros da família, como Almeida Jr. et al. (2012) que tratou taxonômica e anatomicamente as espécies do gênero *Manilkara* Adans para o Nordeste, Lima et al. (2019) que apresentaram um estudo morfoanatomico para o gênero *Diploon* Cronquist, Santos (2019) que trata anatomicamente a espécie *Chrysophyllum rufum* Mart. na região semiárida da Bahia e Almeida (2019) que apresenta um estudo anatômico para o gênero *Pradosia* Liais do Nordeste.

Segundo a descrição de Metcalfe e Chalk (1950), as folhas das espécies de Sapotaceae apresentam organização geralmente dorsiventral, tricomas malpiguiáceo em forma de "T" que podem apresentar um dos braços reduzidos ou ausente, estes tricomas podem apresentar coloração ferrugínea, dourada ou esbranquiçada. A cutícula, especialmente na face abaxial, pode se apresentar fortemente granulada, estriada ou sulcada. A epiderme é constituída por células com paredes anticlinais retas ou sinuosas, variando em espessura; hipoderme frequentemente presente. Estômatos quase sempre restritos a superfície abaxial, embora possam ocorrer na face adaxial de algumas espécies; podendo estar abaixo do nível da epiderme e raramente elevado ao nível da epiderme. Mesofilo com uma ou mais camadas de parênquima paliçádico e parênquima esponjoso com espaço intercelular. Podem conter cristais solitários ou agrupados acompanhando os elementos esclerenquimáticos do floema e no córtex.

A produção de metabólitos pelas plantas está associada a funções essenciais para o desenvolvimento e sobrevivência da mesma. Os metabólitos podem ter funções associadas ao crescimento, armazenamento de energia, proteção contra herbívora, competição com outros indivíduos e reação ao estresse ambiental (VIZZOTO et al., 2010). Esses compostos podem apresentar diversos benefícios ao homem, sendo de conhecimento comum a utilização de plantas com potencial medicinal para suprir necessidades médicas primárias, principalmente, em comunidades tradicionais, ribeirinhas, indígenas, rurais e quilombolas. O uso das propriedades medicinais das plantas apresenta baixo custo, e são eficientes no tratamento de diversas enfermidades, tornando-se assim importante a realização de pesquisas aprofundadas sobre o tema.

As espécies da família Sapotaceae produzem diversos metabólitos como triterpenos, esteroides, taninos, polifenóis, além de alcaloides, carotenos, compostos cianogênicos, carboidratos e ácidos graxos (SAHU et al., 2001; BELTRÃO et al., 2008; ZHANG et al., 2014). Vários estudos acerca da composição química, principalmente dos frutos do gênero Pouteria foram realizados até o presente momento. A grande maioria dos estudos conclui que triterpenos e flavonoides são os constituintes principais do gênero, podendo ser encontrados também: fenólicos. terpenóides, compostos taninos. saponinas, alcaloides. e antocianinas (MONTENEGRO et al., 2006; SILVA et al., 2009; GOUVEIA et al., 2013; MORZELLE et al., 2014). Além desses, podemos citar alguns estudos sobre a composição química das folhas de Pouteria como Montenegro et al. (2006), Souza et al. (2012), Rodrigues (2015), França et al. (2016), Elsayed et al. (2016) que citam a presença de triterpenos, ácidos graxos, flavonoides, categuinas, compostos fenólicos, e fitoesterois.

A família Sapotaceae apresenta no Brasil 101 espécies endêmicas, 53 dessas espécies pertencem ao gênero *Pouteria* (FLORA DO BRASIL, 2020). Apesar do número de espécies endêmicas elevado, não há publicações específicas que as abordem, sendo a maioria dos trabalhos encontrados referentes a levantamentos de floras locais, que apenas citam a presença dessas espécies (SZTUTMAN e RODRIGUES, 2002; THOMAS et al., 2003; MONTEIRO et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2010; ALVES-ARAÚJO et al., 2014; MARTINS, 2015), havendo um déficit de estudos voltados para as espécies endêmicas pertencentes a família e também para o gênero.

As espécies *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. são endêmicas da Bahia, havendo registros de ocorrência somente para a região da Chapada Diamantina, ocorrendo em áreas de Caatinga e Cerrado, compondo a vegetação de campo rupestre, em vegetação sobre afloramento rochosos e em floresta estacional decidual. Ambas as espécies são citadas para o mesmo nome comum: "massaranduba", tendo sido encontrados também outros dois nomes populares para *Pouteria subsessilifolia*, sendo eles: "maçaranduba-devara" (PENNINGTON, 1990) e "massarandubinha".

As duas espécies se encontram na lista vermelha da International Union for Conservation of Nature - IUCN (O'BRIEN, 1998a, 1998b), sendo *Pouteria andarahiensis* classificada como "em perigo" (EN) e *Pouteria subsessilifolia* classificada como "criticamente em perigo" (CR), e na Lista Vermelha do Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFLORA, 2012a; 2012b) ambas encontram-se categorizadas como "quase ameaçada" (NT).

Com base nos dados apresentados acerca da conservação das espécies e no intuito de melhorar o conhecimento da flora nordestina e entender as características estruturais desenvolvidas nas adaptações aos diversos ambientes, bem como, auxiliar na identificação do material herborizado que pode gerar confusão na diferenciação entre espécies, o objetivo do presente trabalho foi fornecer informações sobre a anatomia foliar das espécies *Pouteria andarahiensis* T. D. Penn e *Pouteria subsessilifolia* Cronq., visando contribuir para a identificação correta e possibilitando que trabalhos futuros sejam capazes de estimar o real estado de conservação das mesmas.

2 MATERIAL E METÓDOS

2.1 Amostragem

Inicialmente foi realizado o levantamento e a identificação das duas espécies através da consulta a bibliografias específicas para a família, principalmente Pennington (1990; 1991), da consulta física ao acervo dos herbários baianos: Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS) e Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB), bem como da consulta aos bancos de dados disponíveis online (SPECIESLINK, 2019; FLORA DO BRASIL, 2020).

Com base nos dados obtidos previamente, foram estabelecidos os roteiros de coleta, sendo selecionados os municípios com maior número de registros de ocorrência: Andaraí, Igatu, Lençóis, Morro do Chapéu, Mucugê e Palmeiras. Durante a expedição de campo, foram encontrados indivíduos da espécie *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. apenas no município de Morro do Chapéu, e para *Pouteria subsessilifolia* Cronq. foram encontrados indivíduos nos municípios de Igatu e Mucugê (Projeto Sempre Viva), no entanto, apenas em Mucugê e Morro do Chapéu foram realizadas coletas. A outra parte da amostragem foi obtida de material herborizado proveniente de duplicatas depositadas no acervo do HUEFS. A lista de todos os materiais analisados consta no Apêndice A. O material coletado em campo foi dividido em três partes: a primeira delas foi herborizada e depositada no HUEFS; a segunda e a terceira partes constam de folhas adultas totalmente expandidas coletadas a partir do 3° nó dos ramos, sendo uma parte armazenada em sacos plásticos herméticos e conservada em local refrigerado para utilização do material fresco, e a outra parte foi fixada em Formaldeído + Ácido Acético Glacial + Etanol 70% (FAA) nas proporções 37:1:1 e conservada em álcool etílico 70% (KRAUS e ARDUIN, 1997).

O material herborizado foi reidratado por meio de fervura em água destilada e gotas de glicerina 50% por dois minutos e, posteriormente, armazenadas em álcool etílico 70% (KRAUS e ARDUIN, 1997).

2.3 Processamento e montagem

2.3.1 Arquitetura foliar

Para o estudo da arquitetura foliar foram testadas diversas técnicas, sendo elas: a técnica de diafanização de Foster (MACÊDO, 1997), adaptando-se o processo em folhas frescas, onde foi realizado como pré-tratamento a fervura em álcool 70% por 10 minutos, para iniciar o processo de remoção da clorofila; a técnica de Shobe e Lersten (1967) adaptado por Reis et al. (2004); a técnica de Arnott (1959); uma adaptação de Quinet et al. (2002) para a técnica de Foster (MACÊDO, 1997) e Stritmatter (KRAUS e ARDUIN, 1997); a técnica de Fuchs (1963) e a técnica de Strimatter (MACÊDO, 1997), obtendo-se sucesso apenas na última técnica.

A folha diafanizada foi corada com safranina aquosa 1%, no entanto, verificou-se que *Pouteria subsessilifolia* corou excessivamente, sendo necessário a diluição da safranina aquosa a 0,5% para que fosse possível visualizar as estruturas. Em seguida, o material corado foi mantido em placas de vidro com glicerina 50% (KRAUS e ARDUIN, 1997).

2.3.2 Anatomia foliar

Para obtenção da epiderme foliar, as folhas foram submetidas a duas técnicas de diafanização: a técnica de Foster (MACÊDO, 1997), utilizado em folhas inteiras e em folhas seccionadas com o auxílio de lâminas de aço, e a técnica de Jeffrey (MACÊDO, 1997), somente em folhas inteiras. Posteriormente, as folhas inteiras submetidas aos processos de diafanização também foram seccionadas e tiveram o conteúdo interno removido com o

auxílio de um pincel de cerdas macias. A técnica de Foster (MACÊDO, 1997) utilizada em folhas seccionadas previamente foi o que obteve melhores resultados para as duas espécies.

A coloração da epiderme foliar foi realizada utilizando os corantes safranina aquosa 1% e fucsina básica 1% em álcool etílico 95% (JOHANSEN, 1940) e safranina 0,5% apenas para as folhas de *Pouteria subsessilifolia*. As amostras obtidas da epiderme foram montadas entre lâmina e lamínula com glicerina 50% e vedadas com esmalte incolor (KRAUS e ARDUIN, 1997).

Para a análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV), realizado no Microscópio eletrônico de varredura JSM-6390LV do Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ - Bahia), foram selecionadas partes da região mediana da folha estocadas em álcool etílico 70%, as quais foram submetidas a secagem em estufa a 60°C. Posteriormente, as amostras secas foram fixadas em stubs com fita adesiva de carbono e cobertas com fina camada de ouro em pó 18k em metalizador Denton Vacuum IV.

Para a realização dos estudos da estrutura interna, as folhas herborizadas previamente tratadas e armazenadas em álcool 70% e as folhas frescas, foram seccionadas transversalmente à mão livre com auxílio de lâmina de aço. As seções foram feitas no pecíolo e na lâmina foliar (regiões da base, mediana, ápice e bordo). Também foram realizados cortes em micrótomo de congelamento, onde as amostras foram submetidas a inclusão em Polietilenoglicol 1500 (PEG) seguindo Barbosa et al. (2010) e em água destilada, obtendo-se sucesso apenas para as amostras incluídas em água destilada. A metodologia utilizada para inclusão em água destilada foi uma adaptação a metodologia utilizada por Barbosa et al (2010) para inclusão em Polietilenoglicol 1500 (PEG), onde o material herborizado passou por um pré-tratamento, sendo fervido em água destilada com algumas gotas de glicerina 50% por 1 minuto. Posteriormente, foram selecionadas as frações da folha que seriam seccionadas, do material herborizado e também do material fresco. Para a inclusão em água destilada, os stubs receberam uma camada de água destilada que passou pelo processo de congelamento, essa base foi alinhada com o micrótomo rotativo de congelamento. As frações das folhas foram mergulhadas em água destilada e fixadas sobre esta camada de água congelada no stubs. Após a fixação do material nos stubs, é adicionado água destilada sobre a fração da folha, até que esta esteja submersa e também é submetida ao processo de congelamento. Após o congelamento do material incluído em água destilada, esse material foi seccionado a 25 µm de espessura utilizando-se o criostato Leica CM1860 zem -26°C.

As seções obtidas a mão livre e em criostato foram clarificados com hipoclorito de sódio comercial, corados com azul de astra 1% e safranina 1% na proporção de 9:1 (BUKATSCH, 1972), ou azul de alcian 1% e safranina 1% (LUQUE et al., 1996), e montados em lâminas semipermanentes com glicerina 50% e vedadas com esmalte incolor.

2.3.3 Histoquímica

Para os testes histoquímicos, foram obtidas seções transversais a mão livre do material recentemente coletado do pecíolo e da região mediana da folha. Os testes foram realizados de acordo com Kraus e Arduin (1997) e Macêdo (1997).

Para identificação do amido foi utilizado lugol, para lignina foi utilizado floroglucina acidificada, para compostos fenólicos utilizou-se cloreto férrico, para lipídeos utilizou-se sudan III e IV, para açucares redutores utilizou-se o teste de Fehling.

2.4 Análise e Documentação

Para a obtenção das medidas das nervuras na arquitetura foliar, as folhas diafanizadas foram montadas em lâmina com glicerina e as medidas foram realizadas através da ocular micrométrica do microscópio Zeiss Primo Star. As medidas foram realizadas em 3 regiões da lâmina foliar (base, região mediana, ápice), em todos os espécimes diafanizados.

Para os dados métricos da epiderme foliar foram utilizados dois métodos. Para a contagem do número de células, estômatos e cicatrizes de tricoma, foram fotografados com auxílio de câmera Leica ICC50 W acoplada ao microscópio Leica DM500, 20 áreas (10 campos na face adaxial e 10 na face abaxial) de 5 lâminas para cada espécime, sendo para *Pouteria andarahiensis* utilizados 2 espécimes provenientes de material herborizado e 2 espécimes de material fresco e para *Pouteria subsessilifolia* 4 espécimes de material fresco.

Para a obtenção das medidas das células e do estômato, foram utilizadas as mesmas lâminas utilizadas na contagem do número de células, no microscópio Zeiss Primo Star com o auxílio da ocular micrométrica, onde foram medidas 5 células e 5 estômatos (na face abaxial) para cada um dos 20 campos contados.

Para os dados métricos das amostras anatômicas, foram contados 20 campos de 5 lâminas de cada espécime utilizado, confeccionadas com cortes transversais da lâmina foliar e do pecíolo, sendo 10 campos da face adaxial e 10 da abaxial. Para determinar o grau da espessura da cutícula,

a mesma foi medida utilizando a ocular micrométrica do microscópio Zeiss Primo Star, utilizando o seguinte método de classificação: cutículas com 1,0 μ m < 2,0 μ m são consideradas finas, \geq 2,0 μ m < 4,0 μ m são consideradas médias, \geq 4,0 μ m são consideradas espessas. Foram realizadas também, medidas das células do parênquima paliçádico.

A análise das amostras foi realizada em microscópio Zeiss Primo Star, e as imagens foram obtidas com auxílio de câmera Leica ICC50 W acoplada ao microscópio Leica DM500.

A terminologia utilizada para as descrições anatômicas foi baseada em Metcalfe e Chalk (1972), Howard (1979), e Theobald et al. (1979). A análise da arquitetura foi feita utilizando-se os termos de classificação de folhas semi-quantitativo (HICKEY, 1974; 1979).

A descrição da cutícula visualizada através do MEV foi baseada na classificação e terminologia utilizada por Barthlott et al. (1998) para ceras epicuticulares.

3 RESULTADOS

3.1 Arquitetura foliar

Ambas espécies se apresentam como arbustos, sendo possível, no entanto, encontrar *Pouteria andarahiensis* como árvores de até 6 metros de altura. O látex leitoso e esbranquiçado está presente no tronco, ramos, folhas e frutos. As folhas são pecioladas, o pecíolo de *P. subsessilifolia* é canaliculado e simples, inteiras, coriáceas, alterna-espiraladas. *Pouteria andarahiensis* apresenta o ápice das folhas agudo a obtuso, a margem inteira revoluta e forma elíptica a ovada (Figura 1), enquanto as folhas de *Pouteria subsessilifolia* apresentam ápice agudo-arredondado, margens inteiras e a forma varia de elíptica, ovada a obovada (Figura 2). Ambas as espécies apresentam indumento constituído por tricomas não glandulares em forma de "T" em ambas as faces de suas folhas (Figura 6E-F), no entanto, *Pouteria andarahiensis* perde esses tricomas nas folhas adultas, tornam-se assim, glabrescente.

As folhas das duas espécies são peninérveas, camptódromas do tipo broquidódroma e apresentam a nervura principal reta com alto calibre, sendo mais grossa na base e afinando gradativamente em direção ao ápice, variando o diâmetro em *Pouteria andarahiensis* de 1 mm na base a 0,2 mm no ápice (Figura 3A; C), enquanto, *P. subsessilifolia* varia o diâmetro de 1 mm na base a 0,4 mm no ápice (Figura 3D; F).

As nervuras secundárias seguem o mesmo padrão para as duas espécies, se originando da nervura principal alternadamente, apresentando desenvolvimento reto, com as extremidades curvando-se formando arcos (Figura 4B-D). *Pouteria andarahiensis* apresenta de oito a dez pares de nervuras secundárias e *P. subsessilifolia* apresenta seis a oito pares e no ápice as nervuras secundárias formam arcos abruptos e retos. As nervuras intersecundárias em ambas as espécies se encontram na região mediana entre as nervuras secundárias, se desenvolvendo paralelamente e se conectando as nervuras secundárias através de nervuras terciárias (Figura 4B; E).

As nervuras terciárias de ambas as espécies apresentam ângulo reto nas proximidades do ponto de inserção na nervura secundária, são alternadas e compõe um padrão sinuoso, podendo formar arcos secundários ao se conectarem com outra nervura terciária ou nervuras quaternárias (Figura 3C; F; 4).

Ambas as espécies apresentam nervuras terciárias e de menor calibre externamente as aréolas formadas pelas nervuras secundárias, apresentando o mesmo padrão reticulado encontrado no restante da folha (Figura 3A; 4C).

Em *Pouteria andarahiensis* é possível verificar a presença de nervuras de até quinta ordem e vênulas terminais livres (VTLs) (Figura 4A), já em *Pouteria subsessilifolia* Cronq. é possível visualizar até as nervuras quaternárias, e VTLs (Figura 4D).



Figura 1: *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. em campo. A – Hábito. B – Presença de látex esbranquiçado nos ramos. C – Fruto maduro vináceo. D – Ramo com folhas alternas-espiraladas e botões florais.



Figura 2: *Pouteria subsessilifolia* Cronq. em campo. A – Semente com cicatriz. B – Fruto maduro vináceo. C – Inflorescência terminal, recoberta de tricomas ferrugíneos. D – Hábito arbustivo, filotaxia alternas-espiraladas.



Figura 3: Folha diafanizada de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. A-C. *Pouteria andarahiensis*. A – Ápice foliar demonstrando a nervura principal que se afina gradativamente em direção ao ápice, arcos primários (ap) formado por nervuras secundárias e nervuras intersecundárias. B – Região mediana da lâmina foliar enfatizando as nervuras secundárias (ns) alternadas. C – Base foliar com destaque para a nervura principal com espessura grossa e nervuras terciárias (nt). D-F. *Pouteria subsessilifolia*. D – Ápice foliar mostrando nervura principal com menor calibre na extremidade, os arcos primários (ap) formados pelas nervuras secundárias e os arcos secundários (as) formados pelas nervuras intersecundárias. E – Região mediana da lâmina foliar, mostrando as nervuras secundárias alternadas, arcos terciários (at) formados pelas nervuras terciárias e nervuras quaternárias. F – Base foliar demonstrando a nervura primária com maior calibre, nervuras secundárias e terciárias. Barra: A-B-D-E-F = 2 mm; C = 1 mm.



Figura 4: Folha diafanizada de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. e *Pouteria subsessilifolia* Cronq. A-B. *Pouteria andarahiensis*. A – Região mediana da lâmina foliar com enfoque nas nervuras secundárias (ns), terciárias (nt), quaternárias (nq), de quinta ordem (no) e vênulas terminais livres (FEVs). B – Bordo da lâmina foliar evidenciando o arco primário (ap) formado por uma nervura secundária que se conecta a uma nervura intersecundárias, nervuras secundárias (ns), intersecundárias (ni) e terciárias (nt). C-D. *Pouteria subsessilifolia*. C – Bordo do ápice foliar evidenciando as nervuras secundárias (ns), intersecundárias (ns), intersecundárias (ni), terciárias (ni), terciárias (nt) e quaternárias (nq). D – Bordo da base foliar evidenciando a nervura primária única (np), nervuras secundárias (ns), intersecundárias (ni) terciárias (ns), intersecundárias (ni) terciárias (ns), intersecundárias (ni) terciárias (ns), intersecundárias (ni) terciárias (ns), intersecundárias (ns), intersecundária

3.2 Anatomia foliar

3.2.1 Epiderme foliar

Utilizando-se o microscópio eletrônico de varredura foi possível verificar que a ornamentação da cutícula de *Pouteria andarahiensis* é complexa, já que foi possível visualizar pequenas plaquetas recobrindo as estrias e células guardas dos estômatos (Figura 5C-G), além de formarem leves elevações na superfície foliar (Figura 5C-H). *Pouteria subsessilifolia* apresenta cutícula ondulada que também é recoberta por plaquetas (Figura 6B-E). Essas plaquetas estão distribuídas aleatoriamente em *Pouteria subsessilifolia*, enquanto em *Pouteria andarahiensis* elas estão organizadas sobre as células guardas perpendicularmente e longitudinalmente sobre as estrias (Figura 5G).

Utilizando-se a epiderme extraída das folhas das duas espécies, foi possível visualizar em microscopia ótica de luz que *Pouteria andarahiensis* se diferencia de *Pouteria subsessilifolia* pela presença de ornamentação da cutícula estriada (Figura 7C-H), ocorrendo ao redor dos estômatos e nas células intercostais na face abaxial. Nas células costais, é possível observar essas estrias, porém, menos proeminentes que nas células intercostais (Figura 7E).

Em vista frontal, utilizando o microscópio ótico de luz, é possível verificar a presença de células epidérmicas intercostais com formato retangular e poligonal em *Pouteria andarahiensis* em ambas as faces (Figuras 7A-B; D-E), sendo maiores na face abaxial, medindo em média 40 µm x 15 µm com cerca de 645 células por mm² e na face adaxial medindo em média 19,5 µm x 16,6 µm com cerca de 1.908 células por mm². As células costais na face abaxial de *Pouteria andarahiensis* são retangulares e apresentam maior dimensão que as intercostais 60 µm x 14,5 µm (Figura 7E). As células epidérmicas intercostais e costais de *Pouteria subsessilifolia* apresentam o mesmo padrão em ambas as faces e apresentam tamanho similar, com formato poligonal, diferenciando-se pela organização celular e ausência de estômatos sobre a região da nervura (Figuras 8A-B). As células adaxiais de *P. subsessilifolia* apresentam em média 22,7 µm x 11,2 µm e na face abaxial 16,3 µm x 12,8 µm, apresentando cerca de 1.382 células por mm² na face adaxial e 1.250 células por mm² na face abaxial. Ambas as espécies apresentam paredes anticlinais retas (Figuras 7A-B; E; 8A-B).

Em vista transversal, utilizando o microscópio ótico de luz, *Pouteria andarahiensis* e *Pouteria subsessilifolia* apresentam uma camada de cutícula espessada com cerca de 20 µm na face adaxial e 17,5 µm na face abaxial em *P. andarahiensis*, e 24,3 µm na face adaxial e 21,6 µm

na face abaxial em *P. subsessilifolia*, a epiderme de ambas as espécies é uniestratificada (Figuras 15 e 18). Em *Pouteria andarahiensis* as células epidérmicas da face adaxial apresentam formato diferenciado próximo a nervura principal, sendo estas quadradas e menores e no restante da lâmina se apresentam alongadas e com formato tabular (Figura 9B), na face abaxial as células da epiderme são arredondadas e uniformes. Em ambas as faces, a parede celular anticlinal é reta, podendo haver flanges discretas. Em *Pouteria subsessilifolia*, as células epidérmicas apresentam formato tabular (Figura 10C).

Ambas as espécies são hipoestomáticas, o estômato do tipo anisocítico é encontrado em nas duas espécies (Figuras 7C-H; 8B-D; 10B), porém, em *Pouteria subsessilifolia* é possível verificar a presença de estômatos tetracíticos (Figura 8D). Os estômatos estão amplamente distribuídos nas células intercostais podendo ocorrer nas costais em *Pouteria andarahiensis*, que tem cerca de 61 estômatos por mm² e 56 estômatos por mm² em *Pouteria subsessilifolia*.

Pouteria andarahiensis e *Pouteria subsessilifolia* apresentaram tricomas não glandulares (tectores) simples, em forma de "T", conhecidos como tricomas malpighiáceos, em ambas as faces. Os tricomas de *Pouteria andarahiensis* apresentam de quatro a cinco células na base (Figura 7B; E-F), enquanto *Pouteria subsessilifolia* possuem de seis a sete células na base (Figura 8B).

Foi possível verificar a presença de dois tipos de tricoma malphigiáceo em forma de "T". O tipo I apresenta os braços longos e retos que se afinam nas extremidades, com base alongada, e parede espessada (Figura 8F). O tipo II apresenta os braços longos torcidos, base curta e parede fina (Figura 8E). O tipo I ocorre em ambas as espécies e o tipo II ocorre apenas em *Pouteria subsessilifolia*.

Ambas as espécies apresentam tricomas tanto na face adaxial como na abaxial (Figuras 5H, 6A-E, 7B-C; E-F; e 8B), no entanto, foi possível verificar que as folhas adultas de *P. andarahiensis* perdem esses tricomas, tornando-se glabrescente. Em *Pouteria andarahiensis* foram encontrados na superfície adaxial em média 5 tricomas por mm², e na superfície abaxial em média 26 tricomas por mm², já em *P. subsessilifolia* foi possível verificar a presença, em média de 10 tricomas por mm² na superfície adaxial e 26 tricomas por mm² na superfície abaxial.



Figura 5: Epiderme de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). **A-B** – Face adaxial evidenciando cutícula ondulada e com plaquetas (pl). **C** – Face abaxial evidenciando os estômatos e padrão de ornamentação da cutícula recobertas de estrias (et), na nervura (n) e nas regiões intercostal. **D** – Face abaxial evidenciando a nervura principal (np) e a nervura secundária (ns), e estômatos ocorrendo apenas nas regiões intercostais. **E** – Detalhe da ornamentação da cutícula na face abaxial. **F** – Face abaxial com ênfase nas plaquetas(pl) presente nas estrias da cutícula ao redor dos estômatos (es). **G** – Ênfase no estômato (es) recoberto de plaquetas (pl) na face abaxial. **H** - Tricoma malpiguiáceo em forma de "T". Barra: A = 20 µm; B; F = 10 µm; C-D = 100 µm; E; G-H = 50 µm



Figura 6: Epiderme de *Pouteria subsessilifolia* Cronq. vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). **A-B** Epiderme adaxial com ênfase para os tricomas (t) e as plaquetas (pl) ornamentando a cutícula. **C** - Epiderme, demonstrando a presença de tricomas malphiguiáceos (t), cicatrizes de tricomas (ct), cuticula com plaquetas (pl). **D** – Ornamentação da cutícula (c) com foco nas cicatrizes de tricoma (ct). **E** – Ornamentação da cutícula com ênfase no estômato (es). Barra: A-C = 50 µm. D-E = 20 µm.



Figura 7: Epiderme de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. **A-B** – Face adaxial. **A** – Dois formatos celulares podem ser visualizados: quadrado (cq) e poligonal (cp) **B** – Cicatriz de tricoma com cinco células na base (ct), células poligonais (cp) e paredes anticlinais retas (pr). **C-H** – Face abaxial. **C** – Estômatos (es) numerosos, estrias (et) e cicatrizes de tricomas (ct). **D** – Destaque para os estômatos (es), formato celular e estrias (et). **E** – Destaque para a nervura (n), estômatos (es), formato celular e estrias (et). **E** – Cicatriz de tricoma (ct) com quatro células na base, estômatos (es) e estrias (et). **G** – Destaque para estrias (et) circundando os estômatos (es). **H** – Estômato (es) anisocítico evidenciado. Barra: A-B; D-G = 50 µm; C = 200 µm; H = 20 µm.



Figura 8: *Pouteria subsessilifolia* Cronq. **A** – Superficie adaxial, enfatizando as células poligonais (cp) e as paredes anticlinais retas. BFace abaxial, contendo estômatos (es) numerosos e cicatrizes de tricoma (ct) nas regiões costais e intercostais. **C** – Visão de um estomato anisocitico (esa). **D** – Estomato tetracitico (est). **E** – Tricoma malpigiáceo do tipo I. Barra: A; E-F = 50 µm; B = 200 µm; C-D = 20 µm

3.2.2 Mesofilo

O mesofilo das duas espécies apresentam estrutura tipicamente dorsiventral (Figura 9A; 10A), onde *Pouteria andarahiensis* possui duas camadas de parênquima paliçádico com cerca de 124,8 µm de espessura onde as células do parênquima paliçádico tem cerca de 56 µm x 14,4 µm (Figura 9B) e 6 a 7 camadas de parênquima esponjoso com cerca de 147,2 µm de espessura (Figura 9B) e *Pouteria subsessilifolia* possui três camadas de parênquima paliçádico tem cerca de 75 µm x 15 µm (Figura 10B-C) e 6 a 9 camadas de parênquima esponjoso com cerca de 140,8 µm de espessura (Figuras 10B). As células do parênquima paliçádico apresentam-se alongadas, justapostas transversalmente a epiderme e com paredes anticlinais retas em ambas as espécies, porém, em *P. subsessilifolia* a terceira camada de parênquima paliçádico encurtam o comprimento das células ao se aproximar da região da nervura central. O parênquima esponjoso em ambas as espécies, é formado por células de formato irregular, providas de projeções braciformes que formam espaços intercelulares de dimensão variada (Figura 9B; 10B).

Em *Pouteria andarahiensis*, os feixes vasculares presentes no mesofilo encontram-se acompanhados de células esclerenquimáticas que formam uma bainha que circundam estes feixes e se prolongam formando uma camada subepidérmica que conecta os feixes laterais (Figura 9C). Em *Pouteria subsessilifolia*, o mesofilo apresenta células esclerenquimáticas que acompanham os feixes vasculares e nas nervuras de maior porte comunicam-se com as epidermes adaxial e abaxial, formando uma coluna esclerenquimática (Figura 10B). Foi identificada a presença de laticíferos no parênquima esponjoso, além de laticíferos associados aos feixes vasculares em ambas as espécies (Figura 10B-C).

3.2.3 Nervura Central

Em corte transversal na região mediana da folha, a lâmina foliar das duas espécies exibem formato biconvexo, sendo mais proeminente na face abaxial (Figura 9A; 10A). As células epidérmicas na região da nervura principal não apresentam diferenças quando comparadas as células epidérmicas do restante da lâmina foliar. A região cortical de *Pouteria andarahiensis* é constituída na face adaxial por 6 a 7 camadas de colênquima angular e em *P. subsessilifolia* é composta por 4 camadas de colênquima angular. A face abaxial da região cortical de *P. andarahiensis* apresenta 8 a 9 camadas de colênquima angular (Figura 9A) e em *P.*

subsessilifolia apresenta 4 a 5 camadas de colênquima angular (Figura 10A). O tecido parenquimático simples preenche toda a região cortical restante, e na face adaxial em *P. andarahiensis* faz a transição para parênquima paliçádico ao se aproximar do mesofilo (Figura 10B). É possível verificar a presença de laticíferos em todo córtex e idioblastos na região cortical na face abaxial.

O sistema vascular das duas espécies se apresenta na forma de um arco contínuo, planoconvexo (Figura 9A e 10A). O floema se organiza em fileiras paralelas, podendo-se visualizar a presença de laticíferos entre os seus elementos. O xilema apresenta o mesmo padrão de organização do floema e o centro da nervura principal é preenchido por tecido parenquimático que contém laticíferos. O sistema vascular pode ou não apresentar feixes acessórios, *P. andarahiensis* pode apresentar de um a três, e *P. subsessilifolia* pode apresentar de um a dois, sendo estes anastomosados através dos elementos da bainha de células esclerenquimáticas perivasculares (Figuras 11E-F).



Figura 9: Lâmina foliar de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. **A** – Mesofilo enfatizando a nervura principal, a presença de feixes acessórios, laticíferos e o parênquima paliçádico. **B** – Mesofilo evidenciando a epiderme, parênquima paliçádico, colunas de células esclerenquimáticas. **C** – Feixes vasculares (fv) no mesofilo, laticíferos (l), parênquima paliçádico (pp), bainha de esclerênquima (eq) que forma uma camada subepidérmica que conecta os feixes. Barra: A = 500 µm; B = 200 µm; C – 50 µm



Figura 10: Lâmina foliar de *Pouteria subsessilifolia* Cronq. A – Mesofilo. B – Mesofilo evidenciando a cutícula © espessa, parênquima paliçádico (pp) e esponjoso (pe), feixe vascular (fv), coluna de esclerênquima e a presença de estômato (es). C – Mesofilo evidenciando a epiderme (e) e as três camadas do parênquima paliçadico (pp). Barra: A = 500 μ m; B- C – 200 μ m.

3.2.4 Bordo

O bordo da folha de *Pouteria andarahiensis* é fletido (Figura 11A), as células epidérmicas da face adaxial em corte transversal, são retangulares organizadas paralelamente e vão se estreitando a medida que se aproximam da porção distal, na face abaxial as células são poligonais e menores que na face adaxial, com duas camadas de parênquima paliçádico, organizado paralelamente e 7 a 8 camadas de parênquima esponjoso com projeções braciformes (Figura 11A).

O bordo da folha de *Pouteria subsessilifolia* é reto (Figura 11B), possui células epidérmicas poligonais que se estreitam na porção distal, com três camadas de parênquima paliçádico de células justapostas e 6 a 7 camadas de parênquima esponjoso, com projeções braciformes.

Na porção distal do bordo das duas espécies, o parênquima perde gradativamente a distinção entre paliçádico e lacunoso e se apresenta como um tecido homogêneo com células arredondadas (Figura 11A-B). É possível verificar a presença de laticíferos na porção distal do bordo em ambas as espécies (Figura 11A-B).

3.2.5 Pecíolo

O pecíolo de *Pouteria andarahiensis* é biconvexo (Figura 11C), apresenta cutícula espessada, epiderme uniestratificada com paredes anticlinais retas, possui 6 a 7 camadas de colênquima angular abaixo da epiderme na região cortical, a medula apresenta parênquima de preenchimento (Figura 11E). Em *P. subsessilifolia* o pecíolo é plano-convexo (Figura 11D), possui cutícula espessada, epiderme uniestratificada com paredes anticlinais retas, possui de 8 a 9 camadas de colênquima angular abaixo da epiderme, a medula é preenchida por parênquima y(Figura 11F).

O feixe vascular é fechado em ambas as espécies, o floema está organizado em fileiras paralelas externamente, o xilema segue a mesma organização em fileiras paralelas e a região central do feixe vascular é preenchido por parênquima. Podem ou não ocorrer a presença de feixes acessórios e quando presentes, variam de 1 a 2, anastomosados através da bainha esclerenquimática que circunda o feixe vascular (Figura 11E-F). Laticíferos são vistos no centro do feixe vascular, entre os elementos do floema e em toda região cortical.



Figura 11: A-C-E. *Pouteria andarahiensis*. A – Bordo da lâmina foliar de *Pouteria andarahiensis* T.D. Penn. A – Bordo fletido, demonstrando o parênquima paliçádico (pp), feixe vascular (fv) acompanhado de células esclerenquimáticas (eq) e laticíferos (l). B – Bordo da lâmina foliar de *Pouteria subsessilifolia* Cronq. Bordo reto com cutícula espessa (c), três camadas de parênquima paliçádico (pp), coluna de esclerênquima (ce), feixe vascular (fv), parênquima esponjoso (pe) e laticíferos (l) na porção distal do bordo.

3.3 Histoquímica

Através do teste com lugol, em *Pouteria andarahiensis,* foi possível verificar a presença de amido nas células parenquimáticas e nas células da bainha de esclerênquima que envolve o feixe vascular no pecíolo (Figura 12A), em *P. subsessilifolia* o amido encontra-se nas células do parênquima presente no pecíolo, no mesofilo tanto no parênquima paliçádico como no parênquima esponjoso além de ser possível verificar a presença de amido nos laticíferos (Figura 12B). Com a floroglucina acidificada foi possível evidenciar a presença de lignina no xilema e na bainha esclerenquimática que envolve o sistema vascular em ambas as espécies tanto no pecíolo, no feixe vascular principal na lâmina foliar e nos feixes vasculares presentes1 no mesofilo (Figura 12C; D).

Através do reagente cloreto férrico foi possível identificar a presença de compostos fenólicos na epiderme, colênquima e parênquima do pecíolo em ambas as espécies (Figura 12E; F). Para identificação de lipídios foram usados dois reagentes: sudan III e sudan IV, e ambos obtiveram resultado positivo para as duas espécies, na epiderme, colênquima, esclerênquima e parênquima no pecíolo e na lâmina foliar (Figura 13A-D). No teste Fehling, foi possível identificar açúcares redutores no parênquima e no colênquima em ambas as espécies na região do pecíolo e do mesofilo (Figura 13E; F).



Figura 12: Análises histoquímicas. A-C-E = *Pouteria andarahiensis* T. D. Penn. B-D-F = *Pouteria subsessilifolia* Cronq. **A-B** – Reação positiva para presença de amido no pecíolo e no mesofilo. **C-D** – Reação positiva pela presença de lignina no pecíolo e no mesofilo. **E-F** – Reação positiva para a presença de compostos fenólicos no pecíolo. Barra: A-B-C = 200 μ m; D-E-F = 500 μ m



Figura 13: Análises histoquímicas. A-C-E = *Pouteria andarahiensis* T. D. Penn. B-D-F = *Pouteria subsessilifolia* Cronq. **A-B** – Reação positiva para a presença de lipídios no pecíolo utilizando Sudan III. C-D – Reação positiva para a presença de lipídios no pecíolo utilizando Sudan IV. **E-F** – Reação positiva para a presença de açucares redutores no pecíolo e no mesofilo. Barra: A-D-F = 200 μ m; B-C-E = 500 μ m

4. DISCUSSÃO

Atualmente o método mais utilizado para identificação de uma espécie vegetal continua sendo os caracteres reprodutivos. Embora esse método seja efetivo, saber identificar uma espécie corretamente apenas com base em seus caracteres vegetativos é de suma importância, pois nem sempre é possível visualizar os caracteres reprodutivos.

Roth-Nelbelsick (2001) afirma que usar aspectos topológicos para caracterizar os padrões de venação foliar é benéfico, pois as definições das características arquitetônicas são inequívocas. Segundo ele, dois padrões de venação podem ser distinguidos, os sem ciclos e os com ciclos, a presença de ciclos seriam equivalentes a presença de anastomoses ou malhas na estrutura ramificada, enquanto o padrão sem ciclos, seguiriam um padrão "árvore", ou seja, ramificado e sem malhas. Schulz e Hilgenfeldt (1994) usaram o termo "estrutura dendrítica" para definir esse tipo de geometria.

Segundo a classificação de Melville (1976), as espécies tratadas no presente trabalho apresentam nervura principal única, sendo assim, classificadas como pinadas, as veias secundárias que formam arcos em direção a margem seriam classificadas como curvipinadas, as nervuras secundárias conectadas por arcos próximos a margem, formando uma veia inframarginal, são classificadas como co-arqueadas, as nervuras terciárias e de maior ordem fixadas as veias secundárias, ocupando uma aréola, regular ou irregularmente, são classificadas como dendríticas.

Segundo a padronização de classificação de venação foliar de Hickey (1974; 1979) *P. andarahiensis* possui nervuras de até cinco ordens e *P. subsessilifolia* possui nervuras de até quatro ordens, pois as venações mais simples formam retículos que não permitem a diferenciação de calibre.

Apesar de macroscopicamente as folhas de *Diploon* apresentarem grandes diferenças das espécies *Pouteria andarahiensis* e *Pouteria subsessilifolia*, tanto no formato da folha, quanto no espaçamento entre as nervuras secundárias e intersecundárias, que são estreitas em *Diploon*, quando consideramos o padrão microscópico das nervuras, é possível perceber muitas similaridades. Os caracteres da arquitetura foliar descritos no estudo realizado por Lima et al. (2019) para as espécies de *Diploon* apresentou o mesmo tipo de venação que as espécies desse estudo, o tipo broquidódroma. Uma única veia primária, nervuras secundárias que partem da nervura primária, sem atingir a margem da folha, apresentando veias

intersecundárias que podem ser visualizadas em uma ou mais, na região intercostal, são características compartilhadas entre elas, assim como as nervuras terciárias externamente aos arcos formados pelas nervuras secundárias.

Apesar das diferenças nas folhas de *Manilkara* que incluem o padrão de venação, os resultados encontrados no presente trabalho para as nervuras terciárias, também foram encontradas por Almeida Jr. (2012) para as espécies de *Manilkara* da região nordeste.

Os caracteres diagnósticos para a família Sapotaceae descritos por Solereder (1908) e por Metcalfe e Chalk (1957), que permitem o reconhecimento de seus táxons mesmo em estágio vegetativo (laticíferos e tricomas malphiguiáceos) estão presentes em ambas as espécies tratadas no presente estudo.

O presente trabalho apresentou evidências em *Pouteria andarahiensis* de uma cutícula extremamente estriada, com plaquetas recobrindo essas estrias, enquanto, a cutícula de *Pouteria subsessilifolia* se mostrou menos complexa do que o verificado em *Pouteria andarahiensis* com relação a ornamentação cuticular, apresentando uma cutícula espessa ondulada e com pequenas plaquetas em toda a sua superfície. Os resultados encontrados para *Pouteria andarahiensis*, se assemelham ao encontrado por Monteiro et al. (2007) para *Pouteria ramiflora*, que apresentou uma cutícula espessa fortemente estriada, enquanto as outras espécies estudadas apresentaram um padrão mais semelhante ao de *Pouteria subsessilifolia* com uma cutícula espessada, ondulada e sem destaques na ornamentação. O padrão da cutícula de *Pouteria andarahiensis* pode ser também, considerado semelhante ao padrão encontrado por Popovkin et al. (2016) para *Pouteria synsepala*, que apresentou uma cutícula formando labirintos ao redor dos estômatos que se encontram no mesmo nível da cutícula, no entanto, foi possível verificar que em *Pouteria andarahiensis* a formação das estrias encontram-se mais evidenciados em relação a *P. synsepala*.

Segundo Barthlott et al. (1998), estas plaquetas têm formato de cristais achatados, com margem inteira e de formato regular, geralmente, semicirculares e as vezes organizadas em padrões de orientação característicos. Esses padrões são importantes para caracterizar uma superfície, na maioria dos casos essas plaquetas não apresentam uma orientação especial, o que se verifica em *Pouteria subsessilifolia*, que apresenta disposição aleatória. No entanto, em *Pouteria andarahiensis* verificou-se um padrão onde estas plaquetas, sobre as células guarda do estômato dispõem-se perpendiculares ao ostíolo, diferenciando a

orientação das plaquetas que ocorrem sobre as estrias que se dispõem no sentido do comprimento das mesmas. Devido a essa disposição longitudinal sobre as estrias, estas plaquetas podem ser classificadas como paralelas e as plaquetas sobre as células guarda podem ser classificadas como tendo padrões de orientação localmente restritos.

Segundo Figueredo et al. (2012) e Gutschick (1999), a cera epicuticular auxilia os estômatos contra a perda de água em períodos de seca e plantas com caráter xeromórfico geralmente apresentam uma cutícula espessa.

Metcalfe e Chalk (1957) afirmam que os tricomas maphiguiáceos com dois braços podem apresentar formatos variados, podendo inclusive, ter um dos seus braços reduzidos ou suprimidos. A constância desse tipo de tricoma para as espécies de Sapotaceae o tornam um caractere diagnóstico para as espécies pertencentes a família. Tanto *Pouteria andarahiensis* quanto *Pouteria subsessilifolia* apresentam os tricomas malphiguiáceos, no entanto, em *Pouteria subsessilifolia* foi possível visualizar uma variação para estes tricomas, onde estes apresentam os dois braços torcidos, sendo esta, uma variação ainda não relatada em outras espécies de Sapotaceae. Press (1999) afirma que em ambientes quentes e áridos, o papel principal dos tricomas é diminuir a temperatura foliar e diminuir a perda de água através da menor absorção da radiação solar.

Além disso, apesar de apresentar o estômato anisocítico comum a família Sapotaceae, *Pouteria subsessilifolia* apresenta também estômatos tetracíticos, estando de acordo com Solereder (1908) que descreve estômatos anisocíticos e tetracíticos para Sapotaceae e diferindo do citado para outras espécies da família (SANTOS, 2019; ALMEIDA, 2019; LEITE et al., 2017), que descrevem a presença de estômatos anisocíticos e paracíticos e de outras literaturas clássicas para Sapotaceae (METCALFE e CHALK, 1957; PENNINGTON 2004) que descrevem os estômatos como anomocíticos ou paracíticos. Ambas as espécies são hipoestomáticas o que está de acordo com o trabalho de Monteiro et al. (2007) para *Pouteria* do Rio de Janeiro e como relatado para a família por Metcalfe e Chalk (1957) e Solereder (1908). Em relação a posição dos estômatos Solereder (1908) afirma que geralmente apresenta estômatos no mesmo nível da epiderme, o que se verifica em ambas as espécies. Além disso, a alta frequência estomática segundo Wilkinson (1979), está relacionada a espécies xerófitas. A sinuosidade das paredes anticlinais das células epidérmicas é reta em ambas as espécies o que corrobora com Santiago et al. (2001) que correlacionaram folhas expostas ao sol à presença de células epidérmicas com paredes anticlinais retas, já que ambas as espécies estão expostas a incidência solar frequente.

A disposição dorsiventral do mesofilo corrobora com a descrição de Metcalfe e Chalk (1957) para a família e com os dados encontrados por Monteiro et al. (2007), Almeida Jr. (2012); Leite et al. (2017) e Lima et al. (2019), para outras espécies de Sapotaceae. *Pouteria andarahiensis* apresentou duas camadas de parênquima paliçádico o que está de acordo com o descrito por Lima et al. (2019), porém *Pouteria subsessilifolia* apresentou três camadas de parênquima paliçádico. Segundo Fahn (1990), o número de camadas de parênquima paliçádico está relacionado a sua eficiência fotossintética, e Gutschick (1999) afirma que folhas com alta frequência de exposição solar, tende a aumentar o número de camadas do parênquima paliçádico, além disso a organização das células do parênquima paliçádico e lacunoso poderiam ser adaptações das espécies para reduzir o custo do indumento na interceptação de luz, otimizando assim, o aproveitamento da radiação solar.

Além disso, colunas de esclerênquima podem ser visualizados no mesofilo de ambas as espécies. Essas colunas juntamente com a cutícula espessa, podem estar relacionadas a grandes períodos de seca, forte luminosidade e solo pobre em nutrientes (DICKISON, 2000; CUTLER et al., 2011), o que condiz com o ambiente de ocorrência de ambas as espécies, que são expostas durante longos períodos em pleno sol e estão em solo arenoso ou rochoso.

O feixe vascular do mesofilo e do pecíolo encontram-se de acordo com Metcalfe e Chalk (1957) que define o feixe vascular de *Pouteria* como fechado, achatado adaxialmente, sinônimo do que foi descrito no presente estudo como plano-convexo. Ainda neste trabalho, eles reconhecem a presença de dois feixes acessórios no pecíolo, o que está de acordo com o encontrado nos trabalhos de Monteiro et al. (2007), Almeida-Jr et al. (2012) e Lima et al. (2019), corroborando com os resultados encontrados para *P. subsessilifolia*. No entanto, nesse estudo foi possível verificar a presença de um a três feixes acessórios em *P. andarahiensis*.

Solereder (1908) afirma que os feixes vasculares presentes no mesofilo podem se conectar verticalmente através de uma camada de células que podem ser esclerenquimáticas ou parenquimáticas, e no presente estudo verificou-se que em *P. andarahiensis* apresenta essa conexão entre as nervuras por uma camada de células esclerenquimáticas que surgem ao

redor dos feixes vasculares e formam uma camada abaixo da epiderme, se conectando ao feixe vascular mais próximo. Em *Pouteria subsessifolia* foi possível verificar a ausência dessa conexão entre os feixes vasculares.

A presença de laticíferos para as duas espécies estão de acordo com Metcalfe e Chalk (1957) e com Solereder (1908) que afirmam que os laticíferos estão geralmente associados aos feixes vasculares, mas podem aparecer no mesofilo, ou ainda nas regiões corticais e medulares da lâmina foliar. Segundo Solereder (1908) o conteúdo dos laticíferos tem aspecto refratário, que pode ser compostos por substâncias resinosas, muitas vezes acompanhadas por areia de oxalato de cálcio e amido. A presença de amido no látex de *Pouteria andarahiensis* e *Pouteria subsessilifolia* foi verificado através dos testes histoquímicos realizados no presente estudo.

Os estudos histoquímicos realizados demonstraram que as duas espécies estudadas apresentam amido, lignina, compostos fenólicos, lipídios e açucares redutores, na região do mesofilo, córtex e nos feixes vasculares. Para identificação mais precisa destes compostos um estudo fitoquímico se faz necessário, porém, com base em estudos realizados para outras espécies do gênero, é possível verificar um grande potencial antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório e fungicida, para o gênero como um todo (SILVA et al., 2009).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo trouxe dados inéditos sobre duas espécies endêmicas da Chapada Diamantina tal como a presença de tricomas unicelulares em forma de "T" que possuem torções em seus braços em *Pouteria subsessilifolia*, que podem ser usados para identificação destas, em estado vegetativo. Pode-se verificar que ambas as espécies apresentam mecanismos de adaptação a ambientes xeromórficos, como a presença de cutícula ornamentada, alta densidade estomática, alto número de tricomas por área, aumento no número de camadas do parênquima paliçádico e colunas de esclerênquima no mesofilo. Foi possível também determinar através das análises histoquímicas, que assim como outras espécies do gênero, *Pouteria andarahiensis e Pouteria subsessifolia* apresentam potencial para exploração dos compostos encontrados em suas folhas.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Elisama da Silva. *Pradosia* Liais (Sapotaceae) do Nordeste: uma abordagem micromorfológica. 2019. 77 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais)- Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2019.

ALMEIDA-JR, E. B. de et al. Leaf morphology and anatomy of *Manilkara* Adans. (Sapotaceae) from northeastern Brazil. Plant systematics and evolution, v. 299, n. 1, p. 1-9, 2012.

ALVES-ARAÚJO, A.; SWENSON, U.; ALVES, M. A taxonomic survey of *Pouteria* (Sapotaceae) from the northern portion of the Atlantic Rainforest of Brazil. Systematic Botany, v.39, n. 3, p. 915-938, 2014.

ANDERBERG, A. A.; SWENSON, U. Evolutionary lineages in Sapotaceae (Ericales): a cladistic analysis based on ndhF sequence data. International Journal of Plant Sciences, v. 164, p. 763-773, 2003.

ARNOTT, H. J. Leaf clearings. Turtox News, v. 37, n. 8, p. 192-194, 1959.

BARBOSA, A. C. F. et al. A new method to obtain good anatomical slides of heterogeneous plant parts. IAWA Journal, v. 31, n. 4, p. 373-383, 2010.

BARTHLOTT, W. et al. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. Botanical journal of the Linnean society, v. 126, n. 3, p. 237-260, 1998.

BARTISH, I. V.; SWENSON, U.; MUNZINGER, J.; ANDERBERG, A. A. Phylogenetic relationships among New Caledonian Sapotaceae (Ericales): molecular evidence for generic polyphyly and repeated dispersal. American Journal of Botany, v. 92, n. 4, p. 667-673, 2005.

BELTRÃO, A.E.S.; TOMAZ, A.C. De A.; BELTRÃO, F.A.S.; MARINHO, P. In vitro biomass production of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem & Schult). Revista Brasileira de Farmacognosia. v. 18, Supl., p.696-698. 2008.

BUKATSCH, F. Azul de Astra e Safranina. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Edur, Seropédia, Rio de Janeiro, p. 26, 1972.

CNCFLORA. *Pouteria andarahiensis* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 **Centro Nacional de Conservação da Flora.** Disponível em

http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pouteria and analysis Acesso em 3 junho 2019.

CNCFLORA. *Pouteria subsessilifolia* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 **Centro** Nacional de Conservação da Flora. Disponível em

<http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pouteria subsessilifolia>. Acesso em 5 junho 2019.

COSTA, A. D. C. Anatomia da madeira em Sapotaceae. Tese de Doutorado. USP, São Paulo, SP. 2007.

CRONQUIST, A. **Studies in the Sapotaceae-VI.** Miscellaneous Notes. Bulletin of the Torrey Botanical Club, p. 465-471, 1946.

CUTLER, D. F.; BOTHA. T.; STEVENSON, D. W. Anatomia vegetal - uma abordagem aplicada. Porto Alegre: Artmed, 2011. 304p.

DICKISON, W.C. Integrative plant anatomy. San Diego: Harcourt Academic Press, 2000. 533p.

ELSAYED, Aly M. et al. Chemical composition and biological activities of Pouteria campechiana (Kunth) Baehni. Journal of Medicinal Plants Research, v. 10, n. 16, p. 209-215, 2016.

FAHN, A. Plant Anatomy. 4th ed. Oxford: Pergamon Press, 1990. 588p

FIGUEIREDO, K.V. et al. Epicuticular-wax removal influences gas exchange and water relations in the leaves of an exotic and native species from a Brazilian semiarid region under induced drought stress. Australian Journal of Botany, v. 60, n. 8, p. 685-692, 2012.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ >. Acesso em 10 dezembro 2019.

FRANÇA, C. V. et al. **Potential radical-scavenging activity of** *Pouteria caimito* **leaves extracts**. Journal of Applied Pharmaceutical Sciences, v. 6, n. 07, p. 184-188, 2016.

FUCHS, C. H. Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. Stain technology, v. 38, n. 3, p. 141-144, 1963.

GENTRY, A.H. A Field Guilde to the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru). Washington, DC. 1993.

GOUVEIA, N.M.; ALBUQUERQUE, C.L.; ESPINDOLA, L.S.; ESPINDOLA, F.S. *Pouteria ramiflora* extract inhibits salivary amylolytic activity and decreases glycemic level in mice. Anais da Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, v.85, n.3, p.1141-1148, 2013.

GOVAERTS, R., FRODIN, D.G., PENNINGTON, T.D. World Checklist and Bibliography of Sapotaceae. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 2001.

GUTSCHICK, V.P. Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. The New Phytologist, v. 143, n. 1, p. 3-18, 1999.

HARLEY, M. M. The pollen morphology of the Sapotaceae. Kew Bulletin, p. 379-491, 1991.

HICKEY, L.J. **Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledoneas.** Boletin de la Sociedad Argentina de Botánica, v. 16, n. 1-2, p.1-26, 1974.

HICKEY, L.J. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. Pp. 25-39. In: C.R. Metcalfe & L. Chalk. Anatomy of the Dicotyledons – systematic anatomy of the leaf and stem. v. I., 2 ed. London, Oxford University Press, 1979.

HOWARD R.A. **The petiole.** In: Metcalfe CR, Chalk L (eds), Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem, vol 1, 2 ed. Oxford Claredon, Oxford, pp 88–96, 1979.

JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. New York: Mc Graw Hill Book, 1940. 194p

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Rio de Janeiro, EDUR. 1997.

LEITE, M. S., SILVA, F. G., ASSIS, E. S., RUBIO NETO, A., MENDES, G. C., & ROSA, M. Morphoanatomy and physiology of *Pouteria gardneriana* Radlk plantlets grown in vitro at

varied photosynthetic photon flux densities. Acta Scientiarum. Agronomy, v.39, n. 2, 217-224, 2017.

LIMA, R.G. V. N.; LIMA, L.F.; FERREIRA, A. C.; ARAÚJO, J. S.; ZICKEL, C. S. Leaf Morphoanatomy of *Diploon* Cronquist (Sapotaceae Juss.). Biota Neotropica, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2019.

LUQUE, R.; SOUSA, H. C. de; KRAUS, J. E. Métodos de coloração de Roeser (1972): modificado - e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. Acta Botanica Brasilica. v. 10, n. 2, p. 199-212, 1996.

MA, J.; YANG, H.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three Pouteria species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of agricultural and food chemistry, v.52, n. 19, 5873-5878, 2004.

MACÊDO, N.A. **Manual de Técnicas em Histologia Vegetal**. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana. 1997.

MARTINS, C.T.V.D. Florística e estrutura de vegetações ciliares no alto da bacia hidrográfica no rio Paraguaçu, Mucugê, Bahia, Brasil. 2015. 88 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais)- Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

MELVILLE, R. The terminology of leaf architecture. Taxon, v. 25, n. 5-6, p. 549-561, 1976.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses, v. 2. Oxford: Claredon Press, 1500p. 1950.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons. Vol II. Oxford: Claredon Press. 557 p. 1957.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons. Vol I. Oxford: Claredon Press. 1500 p.il. 1972.

MONTEIRO, M. H. D. A. **Taxonomia e Anatomia das espécies de** *Pouteria* **Aublet** (Sapotaceae) do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tese de Doutorado. UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. 2007.

MONTENEGRO, L. H. M., OLIVEIRA, P. E. S., CONSERVA, L. M., ROCHA, E. M. M., BRITO, A. C., ARAÚJO, R. M., ... & LEMOS, R. P. L. **Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de** *Pouteria venosa* (Sapotaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 611-617, 2006.

MORZELLE, M. C., BACHIEGA, P., SOUZA, E. C. D., BOAS, V., DE BARROS, E. V., & LAMOUNIER, M. L. Caracterização química e física de frutos de curriola, gabiroba e murici provenientes do cerrado brasileiro. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 37, n. 1, 96-103, 2015.

NASCIMENTO, F. H. F. do; GIULIETTI, A. M.; QUEIROZ, L. P. **Diversidade arbórea das florestas alto montanas no Sul da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil.** Acta Botanica Brasilica v.24, n.3, p.674-685, 2010.

PENNINGTON, T.D. 1990. Sapotaceae. Flora Neotropica, Monograph 52: 1 – 770.

PENNINGTON, T.D. 1991. The genera of Sapotaceae. London, Royal Botanic Gardens Kew, 307p.

PENNINGTON, T.D. **Sapotaceae (Sapodilla family)**. In: N. Smith; S.A. Mori; A. Henderson; D.W. Stevenson; S.V. Heald (eds.). Flowering plants of the Neotropics. Princeton: Princeton University Press, p. 342-344, 2004.

PENNINGTON, T.D. **Sapotaceae.** In: Barbosa, M.R.V.; Sothers, C.; Mayo, S.; Gamarra-Rojas, C.F.L. & Mesquita, A.C. (eds.). Checklist das plantas do Nordeste brasileiro: angiospermas e gymnospermas. Ministério de Ciência e Tecnologia, Brasília, p. 143-144, 2006.

O'BRIEN, J.P. 1998a. *Pouteria andarahiensis*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 1998:<u>http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T35801A9957420.en</u>. Downloaded on 28 May 2019.

O'BRIEN, J.P. 1998b. *Pouteria subsessilifolia*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 1998:<u>http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T35904A9964645.en</u>. Downloaded on 28 May 2019.

PRESS, M. C. The functional significance of leaf structure: a search for generalizations. The New Phytologist, v. 143, n. 1, p. 213-219, 1999.

QUINET, A., E ANDREATA, R. H. P. Lauraceae Jussieu na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Município de Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. Rodriguésia, v. 53, n.82, 59-121, 2002.

RIBEIRO, J. E. L. S.; PENNINGTON, T. D. Sapotaceae. Pp: 312–331. In: Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. J. E. L. S. Ribeiro, M. J. G. Hopkins, A. 1999.

REIS, C. dos; PROENÇA, S. L.; SAJO, M. das G. Vascularização foliar e anatomia do pecíolo de Melastomataceae do cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 18, n. 4, p. 987-999, 2004.

RODRIGUES, P. M. Estudo químico de folhas de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae): biomonitoramento por inibição da alfa-amilase. 2015.r

ROTH-NEBELSICK, A. et al. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. Annals of Botany, v. 87, n. 5, p. 553-566, 2001.

SAHU, N.P.; MANDAL, N.B.; BANERJEE, S.; SIDDIQUI, K.A.I. **Chemistry and Biology of the Triterpenes and Saponins from Seeds of** *Mimusops elengi*, ournal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, v.8, n.4, p. 29-37, 2001.

SANTOS, Rísia Cean Silva de Lima. **Anatomia, histoquímica e arquitetura foliar de** *Chrysophyllum rufum* **Mart. (sapotaceae) ocorrente no semiárido baiano.** 2019. 53 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais)- Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2019.

SANTIAGO, E. J. A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) sob diferentes condições de luminosidade. Ciência e Agrotecnologia, v. 25, n. 05, p. 1035-1042, 2001.

SCHULZ H-C, HILGENFELDT S. 1994. Experimente zum Chaos. Spektrum der Wissenschaft 1: 72±81.

SILVA, C.A.M.; SIMEONI, L.A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: Chemistry and biological activity. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 19, n. 2A, p. 501-509, 2009.

SHOBE, W. R.; LERSTEN, N. R. A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. Botanical Gazette, v. 128, n. 2, p. 150-152, 1967.

SOLEREDER, H. Systematic anatomy of the dicotyledons. Oxford, Clarendom Press. 1908, 1182p.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2005.

SOUZA, P.M., SALES, P.M., SIMEONI, L.A., SILVA, E.C., SILVEIRA, D., MAGALHÃES, P. Inhibitory activity of α-amylase and α-glucosidase by plant extracts from the Brazilian cerrado. Planta Med. v. 78, n.4, p.393-9, 2012.

SPECIESLINK. (2019): Rede SpeciesLink. **Centro de Referência em Informação Ambiental** (CRIA), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Available at: http://www.splink.org.br/. Acessado em 28 de Agosto 2019.

SWENSON, U.; ANDERBERG, A. A. **Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales)**. Cladistics, v. 21, n. 2, p. 101-130, 2005.

SWENSON, U., NYLINDER, S., & MUNZINGER, J. Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in Oceania and Southeast Asia based on nuclear sequence data. Taxon, v. 62, n. 4, p.746-770, 2013.

SZTUTMAN, M.; RODRIGUES, R. R. **O mosaico vegetacional numa área de floresta contínua da planície litorânea, Parque Estadual da Campina do Encantado, Pariquera-Açu, SP**. Revista Brasileira de Botânica, v. 25, n.2, p.161-176, 2002.

THEOBALD, W.L., KRAHULIK, J.L., ROLLINS, R.C. (1979) **Trichome description and classification**. In: Metcalfe CR, Chalk L (eds) Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf, stem, vol 1, 2nd edn. Oxford Claredon, Oxford, pp 40–53

THOMAS, W. W.; JARDIM, J. G.; FIASCHI, P.; AMORIM, A. M. Lista preliminar das angiospermas localmente endêmicas do sul da bahia e norte do espírito santo, brasil. Instituto de Estudos Sócio-Ambientais do Sul da Bahia e Conservation International do Brasil. 2003.

TRIONO, T.; BROWN, A.H.D.; WEST, J.D.; CRISP, M.D. A phylogeny of Pouteria (Sapotaceae) from Malesia and Australasia. Australian Systematic Botany - aust systematic botany. 20. 10.1071/SB06011. 2007.

VASCONCELOS, C.C., TERRA-ARAUJO, M.H., LIRA-GUEDES, A.C., GUEDES, M.C., COSTA, J.B.P. (2020) First record of *Pouteria franciscana* Baehni (Chrysophylloideae, Sapotaceae) in Amapá state, eastern Brazilian Amazonia. Check List 16 (1): 27–35. https://doi.org/10.15560/16.1.27

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E), 2010.

WILKINSON H P. 1979. The plant surface (Mainly leaf) part 1: stomata in the anatomy of the dicotyledons. Vol. 1. Metcalfe C R, Chalk L. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press. 97-117.

ZHANG, J.; KURITA, M.; SHINOZAKI, T.; UKIYA, M.; YASUKAWA, K.; SHIMIZU, N.; TOKUDA, H. MASTERS, E.T.; AKIHISA, T. **Triterpene glycosides and other polar constituents of shea (***Vitellaria paradoxa***) kernels and their bioactivities**. Phytochemistry, v.108, p.157-170, 2014.

APÊNDICE A – MATERIAL EXAMINADO

- *Pouteria andarahiensis* **T.D. Penn.** BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, estrada para Barra dos Morenos, 19/03/2019, Carvalho, M.L. 30 (HUEFS 250390). BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, cachoeira do Ferro Doido, 20/03/2019, Carvalho, M.L. 32 (HUEFS 250392)^{2,3}. BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, Fenda do Rio Ferro Doido, 20/03/2019, Carvalho, M.L. 34 (HUEFS 250394)^{1,3}. BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, cachoeira do Ferro Doido, 20/03/2019, Carvalho, M.L. 36 (HUEFS 250396)^{1,3}. BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, cachoeira do Ferro Doido, 20/03/2019, Carvalho, M.L. 38 (HUEFS 250398). BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, estrada para Barra dos Morenos, 19/03/2019, Carvalho, M.L. 39 (HUEFS 250399)³. BRASIL, BAHIA, Rio de Contas, Fazenda Brumadinho, 04/10/2003, Serrão Neto, A.C. 24 (HUEFS 76810)^{1,2}. BRASIL, BAHIA, Morro do Chapéu, Fazenda Ouro Branco, 13/10/2006, Melo, E. 4522 (HUEFS 114858)¹.

-*Pouteria subsessilifolia* Cronq. BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 7 (HUEFS 250367). BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 8 (HUEFS 250368)³. BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 14 (HUEFS 250374)¹. BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 17 (HUEFS 250377)^{2,3}. BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 18 (HUEFS 250378). BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 18 (HUEFS 250378). BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 20 (HUEFS 250380)¹. BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 24 (HUEFS 250384)^{1,2,3}. BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 26 (HUEFS 250386). BRASIL, BAHIA, Mucugê, Projeto Sempre Viva, 18/03/2019, Carvalho, M.L. 27 (HUEFS 250387)³.

¹ espécime utilizado para arquitetura foliar

² espécime utilizado para MEV

³ espécime utilizado para histoquímica

Todos os espécimes foram utilizados para a anatomia foliar.