

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO GÊNERO *Manihot* Mill.

Lucimara Reis de Oliveira Silva

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
2016**

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO GENÉRO *Manihot* Mill.

Lucimara Reis de Oliveira Silva

Bióloga

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), 2014

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Machado Martins

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Lacerda Lopes
Martins

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA

S586a Silva, Lucimara Reis de Oliveira.
Anatomia e histoquímica do gênero *Manihot* Mill. /
Lucimara Reis de Oliveira Silva._ Cruz das Almas, BA,
2016.
102f.; il.

Orientador: Fabiano Machado Martins.
Coorientador: Márcio Lacerda Lopes Martins.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais
e Biológicas.

1.Mandioca – Conservação. 2.Mandioca – Anatomia foliar.
3.Histoquímica – Avaliação. I.Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais
e Biológicas. II.Título.

CDD: 633.682

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO GÊNERO *Manihot* Mill.

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Lucimara Reis de Oliveira Silva

Aprovada em: 14 de Novembro de 2016

Prof^o. Dr. Fabiano Machado Martins
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, BA
(Orientador)

Prof^a. Dr.^a Daniela Santos Carneiro-Torres
Universidade Estadual de Feira de Santana
(Examinador externo)

Prof. Dr. Weliton Antônio Bastos de Almeida
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, BA
(Examinador interno)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ana Lúcia e Gerson meu porto seguro.

Aos meus irmãos em especial Patrícia Reis, pelo exemplo, meu maior incentivo, por sempre está ao meu lado ajudando em tudo, por todas as palavras de carinho e conselhos.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre esteve e está comigo em todas as horas da minha vida.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV) pela oportunidade de realização deste curso;

Aos meus pais e irmãos pelo amor e carinho que me deram durante toda essa jornada; Em especial à Patrícia que sempre esteve por perto, ajudando em tudo, você é muito mais que uma irmã, é uma grande amiga, pois sempre dividiu comigo os melhores e os piores momentos da vida.

Ao meu orientador, Dr. Fabiano Machado Martins. Agradeço pelos ensinamentos, orientações, incentivo e todos os ensinamentos transmitidos conselhos e por não medir esforços para que o laboratório de Anatomia e Histoquímica Vegetal da UFRB funcione.

Ao meu coorientador, Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins pela orientação, realização das coletas e identificação das plantas.

A companheira de república Carol, por todo carinho, paciência e por me socorrer com essa tecnologia rrsrs e suportar durante esses anos.!

Aos companheiros de coleta Prof^o Márcio, Paulo Cezar, Carlos Ledo.

Às minhas amigas do mestrado, pelos momentos que divididos juntas, especialmente à Lorena, Alda e Julianna. Obrigada por dividir comigo as angústias e alegrias e ouvirem minhas bobagens. Foi bom poder contar com vocês! Torço pela realização profissional de cada um;

Agradeço a todos os colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal e Histoquímica Vegetal da UFRB pelo companheirismo no dia a dia de trabalho pelas risadas, em especial (Shirley, Paulinho, Ariana e Leo, obrigada por todo apoio e “quebrar-o-galho” nas horas de dificuldade). E também a Israel pelas sugestões e ensinamentos sobre *Manihot*.

Ao professor Rogerio pela colaboração nos testes de germinação incentivo e sobre tudo pela amizade.

Aos meus amigos em especial Angélica, Juliana, Jayane, Silvana, Willian, Edinaldo, Alda, Lorena e Elaine que sempre estiveram ao meu lado, compartilhando os bons e maus momentos, ajudando e confortando.

Aos funcionários da URFB (principalmente do prédio da biologia) pela gentileza;

Aos membros da banca avaliadora, Prof^a. Dr^a Daniela Torres e Prof^o. Dr. Weliton Antônio Bastos de Almeida pela presença e sugestões.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Ao Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) pelo serviço de microscopia eletrônica.

E a todos que de alguma forma cooperaram com a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO GENÊRO *Manihot* Mill.

RESUMO GERAL- O gênero *Manihot*, pertence à família Euphorbiaceae, subfamília Crotonoidea, tribo Manihotae, e apresenta 98 espécies, distribuídas em 19 seções. Exclusivamente Neotropical, e tem cerca de 80% das espécies distribuídas em território brasileiro, com 70 delas no Brasil. Estudos taxonômicos com espécies silvestres de *Manihot* no Brasil são escassos apesar do país abrigar seu maior centro de diversidade, com diferentes espécies incluídas na lista de espécies ameaçadas da International Union of Conservation of Nature. O objetivo deste estudo foi descrever a anatomia foliar de *M. caerulescens* Pohl, *M. carthaginesis* Müll.Arg, *M. dimantinensis* Allem, *M. dichotoma* Ule, *M. elongata* P. Carvalho & M. Martins, *M. glaziovvi*, *M. maracasensis* Ule, *M. pseudoglaziovii* Pax & K. Hoffm, *M. quinquefolia* Pohl, *M. reniformis* Pohl, *M. zehntneri* Ule ocorrentes na caatinga da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, analisando suas semelhanças e diferenças. Anatomicamente, a análise revelou diferenças que indicam a importância da anatomia da folha na taxonomia das espécies: como a conformação do sistema vascular do pecíolo, contorno da nervura, presença de tricomas e idioblastos, tipo de mesofilo. Os testes histoquímicos revelaram diferentes classes de substâncias químicas tanto para idioblastos como para os laticíferos. Nos idioblastos foi detectada reação positiva para os compostos fenólicos gerais, proteínas, polissacarídeos totais e taninos. Já os laticíferos reagiram positivamente para lipídios totais e ácidos, essências, polissacarídeos totais e borracha. Em *Manihot carthagenensis* Müll.Arg de Caatinga e Mata Atlântica os resultados anatômicos mostraram-se parecidos: os indivíduos de ambos ambientes apresentam mesofilo dorsiventral, estômatos do tipo paracítico, pecíolo cilíndrico. Mas características estruturais evidenciaram a interação dos diversos fatores ambientais em cada ambiente como o contorno da nervura central, o número do feixe vascular e espessamento da cutícula. De acordo com os resultados obtidos os caracteres anatômicos são considerados úteis para a distinção das espécies de *Manihot*.

Palavras-chave: Anatomia foliar; Laticíferos, Histoquímica; Idioblasto; Nervura central, Pecíolo

ANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF THE GENUS *Manihot* Mill.

ABSTRACT GENERAL - The genus *Manihot* belongs to the family Euphorbiaceae, subfamily Crotonoidea and tribe Manihotae, has 98 species that are distributed into 19 sections. It is exclusively Neotropical and about 80% of *Manihot* species are in Brazilian territory. Taxonomic studies concerning wild species of *Manihot* are rare in Brazil, although the country is the center of diversity, with several species included in list of species threatened of International Union of Conservation of Nature. This study purpose was to describe the leaf anatomy of *M. caerulescens* Pohl, *M. carthaginesis* Müll.Arg, *M. dimantinensis* Allem, *M. dichotoma* Ule, *M. elongata* P. Carvalho & M. Martins, sp. nov, *M. glaziovvi*, *M. maracasensis* Ule, *M. pseudoglaziovii* Pax & K. Hoffm, *M. quinquefolia* Pohl, *M. reniformis* Pohl, *M. zehntneri* Ule that occur in caatinga of Chapada Diamantina, Bahia, Brazil, analyzing their similarities and differences. Anatomically the analysis showed differences that indicate the importance of leaf anatomy in the taxonomy of species as: the vascular system conformation of petiole, contour of midrib, mesophyll type, trichomes and idioblasts presence. Histochemical tests have revealed different classes of chemical substances for both idioblasts and laticifers. It was detected positive reaction in the idioblasts to general phenolic compounds, proteins, polysaccharides and total tannins. Already laticifers reacted positively to total lipids and acids, essences, total polysaccharides and rubber. For *Manihot carthaginensis* Müll.Arg from Caatinga and Atlantic Forest anatomical results were similar for both environments and the individuals presented dorsiventral mesophyll, parasitic stomata and cylindrical petiole. However structural characteristics evidenced interactions between several environmental factors in each environment as the contour of midrib, the vascular bundle number and thickness of cuticle. According to obtained results the anatomical features are considered helpful for differentiation of species of *Manihot*.

Keywords: Leaf anatomy; Lactiferous; Histochemistry; Idioblast; Midrib; Petiole

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1-10: Vista geral do pecíolo de espécies de <i>Manihot</i> em secção transversal.....	26
Figura 11-14: Aspectos anatômicos do pecíolo de <i>Manihot</i> .	27
Figura 21-30: Laticíferos articulado anastomosado no pecíolo de <i>Manihot</i>	28
Figura 15-18: Secção transversal da lâmina foliar de espécies de <i>Manihot</i>	29
Figura 19-28: Laticíferos no mesofilo de <i>M. dichotoma</i> . Cristal (drusa) nas células da epiderme de <i>M. diamantinensis</i> .	30
Figura 31-39: Eletromicrografias de varredura da epiderme das espécies.....	31
Figura 31-39: Nervura mediana de espécies de <i>Manihot</i>	32

Capítulo II

Figura 1-4: Ontogênese dos laticíferos de <i>Manihot caerulescens</i>	53
Figura 5-11: <i>Manihot caerulescens</i> 5. Secção transversal do pecíolo mostrando o contorno cilíndrico. 6. Detalhe do pecíolo evidenciando feixe vascular em forma de arco tênue. 7. Detalhe da imagem anterior mostrando camadas de idioblastos na região subepidérmica. 8. Secção transversal da lâmina foliar. 9. Face abaxial em microscopia eletrônica de varredura evidenciando as papilas e os estômatos. 10. Nervura central biconvexa. 11. Detalhe da figura anterior mostrando feixe vascular.....	54
Figura 12-17: Caracterização histoquímica dos Laticíferos em <i>Manihot caerulescens</i>	55
Figura 18-23: Caracterização histoquímica dos Idioblastos em <i>Manihot caerulescens</i>	56

Capítulo III

Figura 1-4: Morfologia de <i>Manihot carthagenensis</i>	77
Figura 5-8: Pecíolo em secção transversal.....	78
Figura 9-12 Detalhes do pecíolo. <i>Manihot carthagenensis</i> de Caatinga com epiderme unisseriada, aproximadamente retangulares e três camadas de células colenquimáticas. <i>Manihot carthagenensis</i> de Mata Atlântica com epiderme unisseriada, células levemente arredondadas e quatro camadas de células colenquimáticas. Laticíferos articulado anastomosado.....	79
Figura 13-14: Secção transversal da lâmina foliar de <i>Manihot carthagenensis</i>	80
Figura 15-18: Detalhe da epiderme de <i>Manihot carthagenensis</i>	81
Figura 19-22: Secção transversal da nervura de <i>Manihot carthagenensis</i>	82

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1- Lista de espécies de <i>Manihot</i> Mill. que ocorrem na caatinga da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, analisados em relação à anatomia da lâmina foliar e do pecíolo.....	19
Tabela 2- Principais características anatômicas distintivas entre as espécies de <i>Manihot</i> Mill. estudadas.....	23

Capítulo II

Tabela 1- Testes histoquímicos realizados para identificar metabólitos secretados pelos Laticíferos e Idioblastos das folhas de <i>Manihot caerulescens</i> Pohl.	47
Tabela 2- Caracterização histoquímica dos Idioblastos e Laticíferos de <i>Manihot caerulescens</i> Pohl	51

Capítulo III

Tabela 1- Principais características anatômicas distintivas entre a espécie de ambientes de Caatinga e Mata Atlântica da <i>Manihot carthagenensis</i> Müll.Arg.....	74
--	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	3
OBJETIVOS.....	8
Objetivo geral.....	8
Objetivos específicos	8
REFERÊNCIAS.....	8
CAPÍTULO I.....	14
ANATOMIA FOLIAR COMO SUBSÍDIO À TAXONOMIA DO GÊNERO <i>Manihot</i> Mill. (EUPHORBIACEAE) NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA-BRASIL.....	14
INTRODUÇÃO	17
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS	19
DISCUSSÃO.....	33
CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	37
CAPÍTULO II.....	41
ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE <i>Manihot caerulescens</i> Pohl (EUPHORBIACEAE).41	
INTRODUÇÃO	44
MATERIAIS E MÉTODOS	45
RESULTADOS.....	47
DISCUSSÃO.....	57
CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	61
CAPÍTULO III.....	66
PLASTICIDADE FOLIAR DE <i>Manihot carthagenensis</i> Müll.Arg (EUPHORBIACEAE) 66	
INTRODUÇÃO	69
MATERIAL E MÉTODOS	70

RESULTADOS.....	71
DISCUSSÃO.....	83
CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS.....	86
CONSIDERAÇÕES FINAIS	91

INTRODUÇÃO GERAL

Família Euphorbiaceae

As Euphorbiaceae são uma das maiores famílias das Angiospermas, possuindo cerca de 218 gêneros e aproximadamente 6.800 espécies, distribuídas em todo o mundo principalmente nos trópicos e subtropicais (Webster, 1994; Berry et al. 2005).

Segundo Webster (1994), as Euphorbiaceae estão agrupadas em 49 tribos e cinco subfamílias (Acalyphoideae, Crotonoidea, Euphorbioideae, Oldfieldioideae e Phyllanthoideae). Esta família destaca-se pela complexidade taxonômica e é considerada uma das famílias mais ricas em número de espécies. No Brasil ocorre cerca de 1.000 (Cordeiro, 1992) e apresenta aproximadamente 70 gêneros (Barroso et al. 1991; Souza & Lorenzi 2006). Os principais gêneros em número de espécies são: *Euphorbia* L. (1.500), *Croton* L. (1200), *Acalypha* L. (400), *Jatropha* L. (150), *Manihot* Miller (150) e *Tragia* Plumier (150) (Webster, 1994). Apesar do elevado número de espécies seus representantes podem ser reconhecidos por um conjunto de caracteres como hábito bastante variados, desde ervas, subarbustos, árvores, até trepadeiras, algumas vezes suculentas, com folhas inteiras ou partidas, em geral com estipulas, latescentes ou não com ovário súpero, tricarpelar e trilocular com um óvulo por lóculo (Judd et al. 1999, Berry, 2005, APG III).

As Euphorbiaceae incluem várias espécies de interesse econômico, principalmente pela extração de látex para a produção de borracha natural, responsável por um de nossos ciclos econômicos e por espécies de *Manihot* Miller, que durante algum tempo, foram responsáveis por manter a economia da região da nordestina (Allem & Irgang, 1975). Diversas espécies de Euphorbiaceae movimentam grandes somas de dinheiro no mercado de plantas ornamentais pela beleza de suas brácteas ou folhas (Souza & Lorenzi, 2006).

Segundo Lorenzi & Souza (2005) muitas espécies da família Euphorbiaceae são nocivas e vêm causando muitos casos de intoxicações em

humanos em várias partes do mundo. Algumas espécies como, *Jatropha curcas* L. possuem propriedades purgativas letais que levam a óbito caso ocorra à ingestão de suas sementes.

Gênero *Manihot* Mill.

O gênero *Manihot* Mill. pertencente à Euphorbiaceae, subfamília Crotonoideae, tribo Manihotae, apresenta cerca de 100 espécies (Rogers & Appan, 1973). No Brasil são registradas cerca de 86 espécies em 13 seções (Nassar 2000; Allem 2002; Cordeiro et al. 2016). Sua distribuição é exclusivamente Neotropical, com quatro centros de diversidade sendo Brasil e México considerados os dois principais (Nassar et al. 2008). De acordo com Nassar (2000), na região central do Brasil (sul de Goiás e oeste de Minas Gerais) encontra-se a maior diversidade de *Manihot* com cerca de 38 espécies, seguido do sudeste do México (17), nordeste do Brasil (16) e o sudeste do Mato Grosso e Bolívia (6). Estudos taxonômicos com espécies silvestres de *Manihot* no Brasil são escassos, mesmo com 65 táxons incluídas na Lista de Espécies Ameaçadas da International Union of Conservation Nature (IUCN 1997). A extensa gama de característica variáveis dentro de uma mesma espécie dificulta a delimitação exata de vários táxons (Martins 2013). O gênero segundo Rogers & Appan, (1973) é considerado complexo do ponto de vista taxonômico devido sua plasticidade morfológica foliar, homogeneidade floral e frequente hibridização natural (Rogers & Appan, 1973; Duputié et al. 2011).

Manihot foi descrito por Miller (1754) e sua taxonomia foi revisada por Rogers & Appan (1973), os quais reconheceram 19 seções. Apesar do monofiletismo do gênero a maioria destas seções não se mostraram monofiléticas (Chacón et al. 2008; Duputié et al. 2011). Alguns táxons foram descritos para *Manihot* (Nassar 1985; Allem 1989, 1999, 2001; Martins et al. 2011; Nassar et al. 2011; Silva et al 2016), depois da revisão feita por Rogers & Appan (1973). Mesmo com as constantes revisões que estão sendo efetuadas o conhecimento sobre *Manihot* na flora brasileira ainda é limitado e encontra-se desatualizado (Secco et al. 2012). Alguns estudos foram realizados para determinadas floras regionais, como a de Santa Catarina (Smith et al. 1988), do Distrito Federal (Rodrigues, 2007) e do Rio Grande do Sul (Allem, 1997) e,

também têm sido citados em trabalhos florístico-taxonômicos pontuais (Cordeiro 1992; Santos-Filho 2000; Sátiro & Roque 2008).

A maior parte das espécies ocorre em regiões secas, apesar de algumas serem encontradas em florestas tropicais, mas nunca dominantes na vegetação (Rogers & Appan, 1973; Allem, 1999).

O Cerrado é o segundo maior bioma do país. No entanto, a agricultura em larga escala, pastagens e urbanização vêm substituindo com rapidez sua vegetação (Myers et al., 2000). Grande parte das espécies silvestres de *Manihot* ocorre naturalmente nesse bioma (Carmo-Junior et al. 2013). Como consequência, várias espécies podem encontrar-se ameaçadas, o que demonstra a urgência em coletas e conservação dessas espécies. Muitas populações de espécies silvestres estão restritas às faixas de domínio das rodovias (Oliveira, 2011).

Apesar de outros tipos de ambientes como a caatinga, florestas ombrófilas e restinga apresentarem um menor número de espécies de *Manihot*, estudos revelam novos registros para esses ambientes e até mesmo para ambientes inundáveis (Allem 1989; Martins et al. 2011; Martins 2013).

O Brasil possui a maior diversidade do gênero *Manihot*, com cerca de 80% do total de espécies conhecidas, apresentando uma grande variação genética de relevante interesse para uso em programas de melhoramento da mandioca (Rogers & Appan, 1973; Ledo et al. 2010).

Embora pouco estudadas, espécies silvestres de *Manihot* apresentam genes desejáveis a serem transferidos para espécies cultivadas, visando o desenvolvimento de variedades melhoradas de mandioca que sejam mais resistentes a doenças e pragas levando a expressar maior produtividade (Nassar, 2006). Apesar do seu grande potencial genético, o gênero encontra-se ameaçado pela constante devastação do meio ambiente, resultado do desmatamento para a formação de pastagens e ocupação de novas áreas com monoculturas extensivas (Oliveira, 2011).

Popularmente as espécies de *Manihot* são conhecidas como mandioca, mandioca-braba, mandioca-brava, aipim ou macaxeira e são bastante utilizadas na alimentação, principalmente *M. esculenta* Crantz, por possuir órgão subterrâneo rico em carboidratos. No Brasil, esta espécie é utilizada como base de alimentação em boa parte do Nordeste brasileiro, e sua farinha é

consumida em larga escala em todo o país (Corrêa et al. 2002). Além disso, o pó de suas folhas vem sendo utilizado como ingrediente de multimisturas ou adicionado à refeição no combate à desnutrição de crianças (Rodrigues, 2007).

Características morfológicas

O gênero *Manihot* é composto por plantas perenes, com folhas simples e não-lobadas, ou simples e lobadas (palmatilobadas). As espécies apresentam estípulas, a maioria das quais são caducas, porém algumas são persistentes (Rogers & Appan, 1973).

A inflorescência é do tipo racemo ou panícula terminal, com flores unissexuadas e monoperiantadas (Rogers & Appan, 1973). De acordo com Halsey et al. (2008) *M. esculenta* apresenta flores estaminadas e pistiladas suportadas na mesma panícula ramificada, sendo as flores pistiladas na base e as estaminadas na região superior. O fruto é uma cápsula, com deiscência septicida e usualmente loculicida e sementes com carúncula, típicas da família Euphorbiaceae (Rogers & Appan, 1973).

Em *Manihot* a variação intraespecífica na forma da folha contrasta com uma morfologia floral e de frutos melhor conservada (Rogers & Appan, 1973). Esta característica e a frequente produção de formas híbridas dificultam a diferenciação entre as espécies com base em sua morfologia. Segundo Nassar et al. (2008), espécies de *Manihot* têm fraco isolamento por barreiras reprodutivas, permitindo hibridações naturais interespecíficas entre *M. esculenta* e espécies silvestres, seguida de especiação. A hibridação tem desempenhado um grande papel no desenvolvimento das variações encontradas (Rogers & Appan, 1973).

A morfologia vegetativa é a característica mais significativa na distinção das espécies sendo os caracteres foliares os de maior importância taxonômica no gênero (Rogers & Appan, 1973). De acordo com esses autores, vinte e três caracteres descrevem as folhas do gênero; e como critérios para classificação de Euphorbiaceae, flor e morfologia de frutos são primordialmente importantes para distinguir as subfamílias dentro das famílias e a morfologia vegetativa a característica mais significativa na diferenciação das espécies dentro do gênero.

Características anatômicas

A família Euphorbiaceae apresenta uma extensa variação na estrutura anatômica da folha devido a diversidade no hábito das plantas. As folhas apresentam, de modo geral, estruturas internas com modificações, tricomas glandulares e não glandulares de forma e densidades variáveis. A epiderme é formada por células retas de paredes anticlinais sinuosas, com presença ou não de células mucilaginosas e salicificadas (Metcalfe & Chalk, 1950).

Estudos sobre aspectos anatômicos e morfológicos das espécies silvestres do gênero *Manihot* são escassos. Apenas 23 espécies tiveram a anatomia foliar estudada (Vannucci 1982; Allem 1984; Mendonça 1992; Silva 2010; Cunha-Neto et al. 2014). Esses estudos, ao compararem a anatomia foliar de espécies silvestres de *Manihot* observaram que todas as espécies analisadas apresentam algumas características em comum, tais como: epiderme unisseriada, pecíolo com contorno cilíndrico, estômatos restritos à face abaxial, feixes colaterais, bainha esclerenquimática no pecíolo, presença de laticíferos e de idioblastos cristalíferos.

Dentre as características observadas por esses autores, as que apresentam maior grau de variação e potencial como caráter diagnóstico das espécies são: número de feixes vasculares no pecíolo, tipo de mesofilo, presença de tricomas e presença de papilas na superfície abaxial. Segundo Allem (1984), o padrão de deposição da cera cuticular na superfície abaxial da lâmina foliar representa um dos caracteres mais importantes para a diferenciação das espécies.

Algumas espécies do gênero *Manihot* apresentam idioblastos secretores, que podem ser encontrados no mesofilo ou ocorrem dispersos entre o parênquima lacunoso e paliçádico ou ainda associados à bainha parenquimática do feixe (Cunha Neto et al. 2014).

OBJETIVOS

Objetivo geral

Descrever a anatomia foliar de espécies de *Manihot* (Euphorbiaceae) da caatinga e avaliar seus caracteres anatômicos, visando fornecer subsídios para a taxonomia do grupo.

Objetivos específicos

- Descrever a anatomia foliar de 10 espécies que ocorrem na Caatinga da Chapada Diamantina;
- Avaliar a anatomia foliar como subsidio para taxonomia do gênero;
- Descrever as estruturas secretoras de *Manihot caerulescens* Pohl;
- Descrever a ontogênese dos laticíferos de *Manihot caerulescens* Pohl;
- Comparar anatomia foliar de indivíduos de *Manihot carthagenensis* da vegetação de Caatinga e de Mata Atlântica;

REFERÊNCIAS

Allem, A.C.; Irgang, B.E. 1975. Flora Ilustrada do Rio Grande do Sul: Euphorbiaceae. Boletim do Intituto Centarl de Biociências, Série Botânica.34, 1-97.

Allem, A.C. 1984. A Revision of *Manihot* section *Quinquelobae* (Euphorbiaceae). PhD. Tesis. Department of Botany. University of reading. 1-2, 399.

Allem, A.C. 1989. A revision of *Manihot* section *Quinquelobae* (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Biologia*. 49.1-26.

Allem, A.C. 1997. Notas taxonômicas sobre as tribos Phyllanthaeae, Dalechamptaeae e Manihoteae (Euphorbiaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Botânica*, 22. 3-15.

Allem, A.C. 1999. A new species of *Manihot* (Euphorbiaceae) from the Brazilian Amazon. *International Journal of Plant Sciences*. 160. 181–187.

Allem, A.C. 2001. Three Intraspecific Taxa of *Manihot* (Euphorbiaceae) from the Brazilian Neotropics. *Novon*.11(2).157-165.

Allem, A.C. 2002. Cassava: biology, product and utilization. *In* Hillocks, R.J.; Thresh, J.M. & Bellotti, A.C. (Eds.). *The origins and taxonomy of Cassava*. University of Greenwich, UK: Natural Resources Institute.1-16.

Barroso, G.M. Guimarães, E.F.; Ichaso, C.L.F. 1991. Sistemática de angiospermas do Brasil. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2.

Carmo-Júnior, J. E.; Sodré, R.C.; Silva, M.J.; Sales, M.F. 2013. *Manihot* (Euphorbiaceae s.s.) no Parque Estadual da Serra Dourada, Goiás, Brasil. *Rodriguésia*. 64(4). 727-746.

Chacón, J. Madriñan, S.; Debouck, D. 2008. Phylogenetic patterns in the genus *Manihot* (Euphorbiaceae) inferred from analyses of nuclear and chloroplast DNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 49. 260-267.

Cordeiro, I. 1992. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Euphorbiaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 13. 169-217.

Cordeiro, I.; Secco, R.; Silva, M. J.; Sodré, R. C.; Martins, M. L. L. 2016. *Manihot*. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB017591>. Accessed 04.10.2016.

Corrêa, A.D.; Santos, D.C.; Natividade, M.A.E.; Abreu, C.M.P.; Xisto, A.L.R.R.; Carvalho, V.D. 2002. Farinha de folhas de mandioca – efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. *Ciênc. Agrotec.* 26, 368-374.

Cunha Neto, I.L.; Martins, F. M.; Caiafa, A. N.; Martins, M. L. L. 2014. Leaf anatomy as subsidy to the taxonomy of wild *Manihot* species in *Quinquelobae* section (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Botany.* 37. 481-494.

Duputié, A.; Salick, J.; McKey, D. 2011. Evolutionary biogeography of *Manihot* (Euphorbiaceae), a rapidly radiating Neotropical genus restricted to dry environments. *Journal of Biogeography.* 1. 1–11.

Halsey, M. E. et al. 2008. Reproductive Biology of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and Isolation of Experimental Field Trials. *Crop Science.* 48, 49-58.

IUCN. 1997. *Red List of Threatened Plants. Magnoliopsida.* Compiled by the World Conservation Monitoring Center. IUCN - The World Conservation Union, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.862.

Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P.F. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach.* Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. 464.

Ledo, C.A.S.; Silveira, T.C.; Carvalho, P.C.L., Martins, M.L.L.; Tavares-Filho, L.F.Q. 2010. Coleta e conservação de germoplasma de espécies silvestres de *Manihot* no estado da Bahia para ampliação da coleção de trabalho da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Embrapa Mandioca e Fruticultura. *Comunicado Técnico.*146. 5.

Lorenzi, H.; Souza, V. C. 2005. *Botânica Sistemática.* Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum.

Martins, M. L. L.; Carvalho, P. C. L.; Amorim, A. M. 2011. A remarkable new *Manihot* (Euphorbiaceae) from the coastal sand plains of Sergipe, Brazil. *Phytotaxa*, 32. 57-60.

Martins, M.L.L.; Carvalho, P.C.L.; Ledo, C.A.S.; Amorim, A.M.A. 2013. What's New in *Manihot* Mill. (Euphorbiaceae)? *Systematic Botany*.

Mendonça, M. S. 1992. Estudo de plantas laticíferas. II. Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot glaziovii* Muller Arg. *Acta Amazônica*, 22,. 21-309

Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon Press.

Miller, P. 1754. *The Gardeners Dictionary*, 4th Ed., Vol. II. London. (without pagination).

Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Fonseca, G. A. B.; Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403. 853-858.

Nassar, N.M.A. 1985. *Manihot neusana* a new species native to Paraná, Brazil. *Canadian Journal of Plant Science*, 65: 1097-1100.

Nassar, N. M. A. 2000. Wild Cassava: *Manihot spp.* Biology and potentialities for genetic improvement. *Genetics and Molecular Biology*, 23. 201-212.

Nassar, N.M.A. 2006. Chromosome doubling induces apomixis in cassava x *Manihot anomala* hybrid. *Hereditas*. 143: 246-248.

Nassar, N.M.A.; Hashimoto, D.Y.C.; Fernandes, S.D.C. 2008. Wild *Manihot* species: botanical aspects, geographic distribution and economic value. *Genetics and Molecular Research*. 7 (1): 16-28.

Nassar, N.M.A.; Ribeiro, D.G.; Bomfim, N.N.; Gomes, P.T.C. 2011. *Manihot fortalezensis* Nassar, Ribeiro, Bomfim et Gomes a new species of *Manihot* from Ceará, Brazil. Genetic Resources and Crop Evolution 58:831-835.

Oliveira, M M. 2011. Diversidade genética em espécies silvestres e híbridos interespecíficos de *Manihot* (Euphorbiaceae – Magnoliophyta Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Brasil. 86.

Rodrigues, A.S. 2007. As tribos Dalechampieae Müll. Arg. e Manihotae Melchior (Euphorbiaceae) no Distrito Federal, Brasil. Dissertação (Mestrado em Botânica) Universidade de Brasília.104.

Rogers, D.; Appan, C. 1973. *Manihot* and *Manihotoides* (Euphorbiaceae): a computed assisted study. Flora Neotropica. (Monograph nº 13) Hafner Press, New York, NY, USA.

Santos-Filho, F.S. 2000. A família Euphorbiaceae Juss. no Parque Estadual Zoobotânico na cidade de Teresina, Piauí-Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 104.

Sátiro, L.N. & Roque, N. 2008. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. Acta Botânica Brasília 22: 99-118.

Secco, R.S.; Cordeiro, I.; Senna-Vale, L.; Sales, M.F.; Lima, L.R.; Medeiros, D.; Sá Haiad, B.; Oliveira, A.S.; Caruzo, M.B.R.; Carneiro-Torres, D.; Bigio, N.C. 2012. An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae s.l. in Brazil. Rodriguésia 63: 227.

Silva, J. C. Anatomia foliar de seis espécies de *Manihot* Mill. (Euphorbiaceae) do Estado da Bahia. 2010. 48 f. Monografia – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010.

Silva, M.J.; Inocencio, L.S.; Alonso, A.A. 2016. *Manihot allemii* sp. nov. (Euphorbiaceae s.s.) with entire and unlobed leaves from northern Brazil, with notes about foliar anatomy. *Nordic Journal of Botany* 34(2), 134–140.

Smith, L.B.; Downs, R.J.; Klein, R.M. 1988. Euphorbiaceae – *Croton* L. *Flora Illustrada Catarinense*. Fasc. EUFO. 62-137.

Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2006. *Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. Instituto Plantarum, Nova Odessa

Vannucci, A. L. 1982. *Anatomia Comparada de Duas Espécies Nativas de Manihot Mill. (Euphorbiaceae)*. 1982. 151 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Webster, G.L. 1994. Classification of the Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 81. 3-32,

CAPÍTULO I

ANATOMIA FOLIAR COMO SUBSÍDIO À TAXONOMIA DO GÊNERO *Manihot* Mill. (EUPHORBIACEAE) EM CAATINGA NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA-BRASIL

ANATOMIA FOLIAR COMO SUBSÍDIO À TAXONOMIA DO GÊNERO *Manihot* Mill. (EUPHORBIACEAE) NA CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA-BRASIL

Autor: Lucimara Reis de Oliveira Silva

Orientador: Dr. Fabiano Machado Martins

Coorientador: Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins

RESUMO- Foi analisada a anatomia foliar de 10 espécies de *Manihot* Mill. ocorrentes na caatinga da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, visando à seleção de caracteres anatômicos para subsidiar a taxonomia do gênero. Técnicas usuais em anatomia vegetal foram empregadas, incluindo análises em microscopia de luz e eletrônica de varredura. As espécies estudadas foram: *M. caeruleascens* Pohl, *M. carthaginesis* Müll.Arg, *M. dimantinensis* Allem, *M. dichotoma* Ule, *M. elongata* P. Carvalho & M. Martins, sp. nov, *M. maracasensis* Ule, *M. pseudoglaziovii* Pax & K. Hoffm, *M. quinquefolia* Pohl, *M. reniformis* Pohl., *M. zehntneri* Ule. Os caracteres anatômicos selecionados como diagnósticos para a taxonomia dos diferentes gêneros e espécies foram: o tipo de estômato, a conformação do sistema vascular do pecíolo, contorno da nervura, a ocorrência de laticíferos, dentre outros. Os resultados mostraram que os caracteres de anatomia foliar são úteis para a delimitação das espécies de *Manihot*.

Palavras-chave: Anatomia vegetal; Caatinga; Laticíferos; Pecíolo

LEAF ANATOMY AS A SUBSIDY TO THE TAXONOMY OF GENUS *Manihot* Mill. (EUPHORBIACEAE) FROM CHAPADA DIAMANTINA, BAHIA, BRAZIL

Author: Lucimara Reis de Oliveira Silva
Advisor: Dr. Fabiano Machado Martins
Coadvisor: Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins

ABSTRACT - It was analyzed leaf anatomy of 10 species of *Manihot* Mill. that occur in caatinga of Chapada Diamantina, Bahia, Brazil order to select anatomical characters to support the taxonomy of the genus. Usual techniques in plant anatomy were used, including analysis by light microscopy and scanning electron. The species studied were: *M. caerulescens* Pohl, *M. carthaginesis* Müll.Arg, *M. dimantinensis* Allem, *M. dichotoma* Ule, *M. elongata* P. Carvalho & M. Martins, sp. nov, *M. maracasensis* Ule, *M. pseudoglaziovii* Pax & K. Hoffm, *M. quinquefolia* Pohl, *M. reniformis* Pohl., *M. zehntneri* Ule. The anatomical characters selected such as diagnostics for taxonomy of different genus and species were stomata type, vascular system conformation of the petiole, midrib contour, latex occurrence, among others. Results showed that the leaf anatomy of characters are helpful for delimiting species of *Manihot*.

Keywords: Plant anatomy; Caatinga; Laticifers; Petiole

INTRODUÇÃO

Manihot Mill. é um gênero neotropical, com 100 espécies, distribuídas em 19 seções sendo que 13 englobam espécies com ocorrência em território brasileiro. São considerados quatro centros de diversidade para as espécies de *Manihot*, três deles no Brasil, no qual a região Nordeste configura-se como o segundo maior, com quase 20 espécies (Nassar et al. 2008). A maior parte das espécies dessa região ocorre no cerrado e na caatinga, com apenas três espécies em ecossistemas costeiros (Allem, 1989; Allem, 2001; Martins et al. 2011).

O gênero *Manihot* pode ser reconhecido pelas folhas normalmente lobadas, com tonalidades purpúreas e inflorescências racemosas ou paniculadas com duas flores pistiladas basais, acompanhadas por brácteas e bractéolas normalmente evidentes (Rogers & Appan, 1973).

Estudos anatômicos com *Manihot* de caatinga são escassos. Dados dessa natureza estão voltados em geral para o estudo de *M. esculenta* (Reich et al. 2004; Rós et al. 2011) ou, quando em espécies silvestres, para caracteres vegetativos, como a perda das folhas em ambientes de caatinga, com poucos dados sobre a formação de flores e frutos (Machado & Barros et al. 1997; Tannus et al. 2006).

Dentre os poucos estudos desse tipo sobre espécies selvagens destacam-se aqueles realizados por Vannucci (1982) em *M. caerulescens* Pohl e *M. pilosa* Pohl, Mendonça (1992), em *M. glaziovii*, e Cunha Neto et al. (2014) sobre o complexo *M. violacea* Pohl. Em geral, estes estudos concluíram que a anatomia da folha constitui uma ferramenta importante para distinguir as espécies no gênero.

Considerando a importância dos caracteres de anatomia foliar na taxonomia do gênero *Manihot* Mill. este trabalho tem como objetivo selecionar dados anatômicos que possam subsidiar a taxonomia do gênero, além de contribuir com possíveis características para a identificação das espécies da caatinga.

MATERIAL E MÉTODOS

Microscopia de luz

Este estudo foi realizado com três indivíduos de 10 espécies de caatinga do gênero *Manihot*: *M. caerulescens* Pohl, *M. diamantinensis* Allem, *M. dichotoma* Ule, *M. elongata* P. Carvalho & M. Martins, sp. nov, *M. glaziovii*, *M. maracasensis* Ule, *M. pseudoglaziovii* Pax & K. Hoffm, *Manihot quinquefolia* Pohl, *M. reniformis* Pohl. e *M. zehntneri* Ule (Tabela 1). Todas as espécies foram coletadas em ambientes naturais e na Coleção de Espécies Silvestres da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, Mandioca e Fruticultura), em Cruz das Almas, Bahia. Material testemunho de todas as espécies foi depositado no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (HURB).

As folhas foram fixadas em FAA50 (formalina, ácido acético, álcool etílico 50%, 1:1:18 v/v) (Johansen, 1940), submetidas a vácuo por 24h e posteriormente transferidas para álcool etílico 70%. As amostras foram isoladas e transferidas para álcool butílico terciário 70, onde permaneceram por aproximadamente sete dias, desidratadas em série butílica e incluídas em parafina histológica (Histosec/Merck; Johansen, 1940). Os cortes transversais e longitudinais com espessura variando entre 12 e 16 μm foram realizados com uso de micrótomo rotativo (Leica RM2245), as lâminas foram coradas com safranina alcoólica 1,5% e azul de Astra aquoso 1% (Gerlarch, 1969) e montadas em resina sintética (Permount/Fisher).

As fotomicrografias digitais foram realizadas em microscópio Olympus BX51 equipado com câmera digital Olympus E330. As escalas das figuras foram obtidas através da projeção de uma lâmina micrométrica fotografada/digitalizada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Tabela 1- Lista de espécies de *Manihot* Mill. que ocorrem na caatinga da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, analisados em relação à anatomia da lâmina foliar e do pecíolo

Seção	Espécies	Número/Coletor	Herbário
<i>Caerulescentes</i>	<i>M. caerulescens</i> Pohl	ML1807	HURB
<i>Carthagenensis</i>	<i>M. carthagenensis</i> Müll.Arg	ML8857	HURB
<i>Glaziovianae</i>	<i>M. diamantinensis</i> Allem	CD003	HURB
<i>Glaziovianae</i>	<i>M. dichotoma</i> Ule	M056	HURB
<i>Glaziovianae</i>	<i>M. elongata</i> sp. nov. ined.	ML1837	HURB
<i>Glaziovianae</i>	<i>M. maracacensis</i> Ule	ML2038	HURB
<i>Glaziovianae</i>	<i>M. pseudoglaziovii</i> Pax & K. Hoffm	M039	HURB
<i>Heterophyllae</i>	<i>M. quinquefolia</i> Pohl	ML1847	HURB
<i>Peltatae</i>	<i>M. reniformis</i> Pohl	ML1707	HURB
<i>Heterophyllae</i>	<i>M. zehntneri</i> Ule	M161	HURB

Microscopia eletrônica de varredura

As análises da superfície foliar foram realizadas no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Fragmentos de folhas de aproximadamente 5 mm² foram analisados ao microscópio eletrônico de varredura. As amostras foram desidratadas em série elítica até etanol 100%, secas ao ponto crítico (modelo LEICA EM CPD 030) utilizando dióxido de carbono líquido, montadas em portas-espécimes e recobertas com uma camada de ouro pelo processo de pulverização catódica (DENTON VACCUM DESSK IV). A documentação fotográfica foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6390 LV), (Bozzola & Russel, 1991).

RESULTADOS

Pecíolo

O pecíolo (Figs 1-10) em secção transversal, em todas as espécies estudadas, apresentaram contorno cilíndrico, à exceção de *Manihot reniformis* (Fig. 9), que possui pecíolo achatado dorsiventralmente. Todas as espécies têm epiderme unisseriada, apresentando forma irregular ou levemente arredondada com predominância de cutículas finas, quando comparada com outras espécies que apresentam cutícula mais espessa.

O córtex de todas as espécies é constituído por células parenquimáticas com formato arredondado e composto por até seis camadas de células colenquimáticas. Logo abaixo da epiderme ocorre três a cinco camadas de células do colênquima em *M. carthaginensis*, *M. diamantinensis*, *M. elongata* (Fig. 11), *M. pseudoglaziovii* (Fig. 12) e *M. zehntneri*. Em *M. caerulescens*, *M. dichotoma* (Fig. 13), *M. maracasensis*, *M. quinquefolia* (Fig. 14) e *M. reniformis* essa mesma região é ocupada por idioblastos que formam até três camadas de células descontínuas.

Os idioblastos encontrados foram de dois tipos: secretores, com conteúdo denso, fortemente corados pela safranina e os cristalíferos, com cristais do tipo drusas. Os idioblastos secretores ocorrem em quase todas as espécies exceto em *M. diamantinensis* (Fig. 3), *M. elongata* (Fig. 5) e *M. pseudoglaziovii* (Fig. 7). Normalmente estas células formam uma hipoderme praticamente contínua em toda a circunferência do pecíolo, como observado em *M. caerulescens* (Fig. 1), *M. dichotoma* (Fig. 4) e *M. reniformis* (Fig. 9). Além da região subepidérmica os idioblastos podem ocorrer no córtex, próximo aos feixes vasculares e às vezes na medula (Fig.1) como ocorre em *M. caerulescens*.

Células esclerenquimáticas são encontradas no córtex de todas as espécies formando um anel em toda a circunferência do pecíolo, variando entre duas e quatro camadas de células (Figs. 1-10).

O sistema vascular é constituído por feixes colaterais em forma de arco rodeado por uma bainha de fibras, formando um anel contínuo ao longo do pecíolo. Os elementos condutores do xilema foram em uma série radial, separados por células do parênquima. Existe uma variação entre o número de feixes vasculares quando se comparam as espécies. *Manihot quinquefolia* apresenta um cilíndrico com estelo peciolar oco (Fig. 8), *M. diamantinensis* apresentou cinco grupos de feixes vasculares (Fig. 3), *M. elongata* e *M. pseudoglaziovii* mostrou seis (Figs. 5,7), *M. caerulescens* e *M. dichotoma*, *M. maracasensis* e *M. zehntneri*, sete (Figs. 1,4,6 e 10), *M. carthaginensis* com oito (Fig. 2) e *M. reniformis* (Fig. 9), apresentou nove grupos de feixes vasculares.

A medula do pecíolo de todas as espécies é formada por células parenquimáticas arredondadas e de tamanho variado (Figs. 1-10). Os espaços celulares são de fácil observação, mas de tamanho reduzido.

Laticíferos articulados foram observados distribuídos na região subepidérmica e associados aos feixes vasculares, podendo ser diferenciados pelas características do seu conteúdo (látex) (Figs.15-18).

Lâmina foliar

Em seção transversal, observa-se que a epiderme da lâmina foliar é unisseriada, constituída por células de formato retangulares ou arredondada (Figs 19-28) em ambas as faces da lâmina foliar e recoberta por uma cutícula que varia em espessura. Nas espécies *M. diamantinensis*, (Fig 21), *M. elongata* (Fig 23), *M. maracasensis* (Fig 24), *M. pseudoglaziovii* (Fig 25) e *M. zehntneri* (Fig 28) a cutícula é fina, quando comparado com as espécies *M. caerulescens*, (Fig. 19) *M. carthagenensis*, (Fig. 20) *M. dichotoma* (Fig.22), *M. quinquefolia* (Fig. 26), *M. reniformis* (Fig. 27). As paredes periclinais externas de células epidérmicas são retas ou levemente convexas no lado adaxial, enquanto que na face abaxial as paredes têm projeções que são seguidas por protoplasma originando uma epiderme papilosa na maior parte das espécies estudadas, exceto em *M. carthagenensis* (Fig. 20). Em algumas espécies as papilas são muito longas como em *M. caerulescens* (Fig. 19), *M. dichotoma* (Fig.22) e *M. reniformis* (Fig.27) quando comparado com outras espécies como *Manihot quinquefolia* (Fig.26), *M. elongata* (Fig.23) e *M. zehntneri* (Fig. 28). Em vista frontal não foi possível observar as paredes anticlinais, ficando impossibilitado de descrever a forma das células, isso ocorre pela presença das papilas (Figs. 31-34, 36, 38 e 39). Tricomas tectores foram observados apenas em *M. elongata* (Fig. 35) e *M. maracasensis* (Fig. 37).

Na superfície abaxial as células são papilosas distribuídas no entorno dos estômatos, estes são paracíticos. E os estômatos se encontram no mesmo nível das demais células da epiderme. As folhas são hipostomáticas em *M. dictotoma*, *M. elongata*, *M. quinquefolia*, *M. reniformis* e *M. zehntneri* e anfiestomáticas em *M. caerulescens*, *M. carthagenensis*, *M. diamantinensis*, *M. maracasensis* e *M. pseudoglaziovii*.

O mesofilo é dorsiventral na maioria das espécies, exceto para *M. caerulescens* (Fig. 19) e *M. reniformis* (Fig. 27), em que apresenta mesofilo isobilateral. O mesofilo é formado por duas a três camadas de parênquima

paliçádico e número variável de camadas de parênquima lacunoso. Já as espécies que apresentam mesofilo isobilateral possui um maior número de células do parênquima paliçádico na face adaxial.

No mesofilo, idioblastos secretores foram observados na maioria das espécies, exceto em *M. elongata* (Fig. 23) e *M. pseudoglaziovii* (Fig. 25). Cristais, comumente drusas, foram observados no mesofilo e em células epidérmicas (Fig. 30) em todas as espécies.

Laticíferos são observados no mesofilo de todas as espécies. Eles são articulados e anastomosados e geralmente ocorrem na região central, se ramificando em direção à face adaxial (Fig. 29).

Nervura central

A nervura mediana (Figs. 40-49) em secção transversal para todas as espécies possui semelhança no padrão anatômico. A nervura central é proeminente na maioria das espécies, com exceção de *M. elongata* (Fig.44) *M. pseudoglaziovii* (Fig. 46) e *M. reniformis*, (Fig. 48) que apresentam nervura central biconvexa. Em todas as espécies, a epiderme é unisseriada composto de células com formato redondo coberto e por cutícula espessa na maioria das espécies. Tricomas foram observados apenas em *M. elongata* (Fig. 35) e *M. maracasensis* (Fig. 37). O córtex é composto de células parenquimáticas de aspecto redondo e de tamanhos variados. Ao longo da nervura, quatro a cinco camadas de colênquima ocorrem na região mais externa do córtex em ambas as faces da lâmina foliar, em todas as espécies. Idioblastos secretores foram evidenciados na maioria das espécies, exceto em *M. pseudoglaziovii* (Fig. 46).

Em *M. caerulea*, (Fig. 40), *M. dichotoma*, (Fig.43) *M. maracasensis* (Fig.45) e *M. reniformis*, (Fig. 48) há uma grande concentração de idioblastos na região subepidérmica e distribuídos entre as células corticais ou associados ao feixe vascular. Células contendo drusas ocorrem na nervura central de todas as espécies.

O feixe vascular é colateral (Figs 40-49) em todas as espécies, constituindo um arco único disposto em uma forma côncavo-convexa em direção ao lado adaxial. Além do feixe primário, de um a três feixes acessórios estão presentes em *M. carthaginensis*, *M. maracasensis* e *M. zehntneri*. Em *M.*

reniformis as células esclerenquimáticas são observadas formando uma bainha interrompida externamente para as células do floema do feixe vascular principal e acima dos feixes acessórios.

A presença de esclerênquima na nervura foi observada apenas em *M. reniformis* (Fig. 48).

Alguns caracteres anatômicos observados nas espécies estudadas apresentam valor taxonômico e podem ser usados como diagnósticos (Tabela 2).

Tabela 2- Principais características anatômicas distintivas entre as espécies de *Manihot* Mill. estudadas.

Caracteres	Espécies									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anatomia do pecíolo										
Tricomas não-glandulares no pecíolo	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Pecíolo com contorno cilíndrico	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Pecíolo achatado dorsiventralmente	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Cilíndrico vascular	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
5 grupos de feixes vasculares no pecíolo	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
6 grupos de feixes vasculares no pecíolo	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
7 grupos de feixes vasculares no pecíolo	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
8 grupos de feixes vasculares no pecíolo	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
9 grupos de feixes vasculares no pecíolo	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Anel de fibras	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Idioblastos	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
Nervura Central										
Contorno biconvexo	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+
Contorno proeminente	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
Idioblastos secretores	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Tricomas não-glandulares	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Cristais (Drusas)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Esclerênquima	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Lâmina foliar										
Folhas hipoestomáticas	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Folhas anfiestomáticas	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Mesofilo dorsiventral	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Mesofilo isobiltateral	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Papilas na epiderme abaxial	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Tricomas não glandulares	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Cristais na epiderme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Idioblastos	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Cutícula	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1. *M. caerulescens* Pohl; 2. *M. carthigenensis* Müll.Arg; 3. *M. dimantinensis* Allem; 4. *M. dichotoma* Ule 5. *M. elongata* P. Carvalho & M. Martins, sp. nova; 6. *M. maracasensis* Ule; 7. *M. pseudoglaziovii* Pax & K. Hoffm, 8. *M. quinquefolia* Pohl; 9. *M. reniformis* Pohl., 10. *M. zehntneri* Ule. + = presente; - = ausente.

Legendas

FIGURAS 1-10. Vista geral do pecíolo de espécies de *Manihot* em secção transversal. Notar a variação no número de feixes vasculares entre as espécies. 1-8,10. Pecíolo com contorno circular. 1. *M. caeruleascens*; 2. *M. carthigenensis*; 3. *M. dimantinensis*; 4. *M. dichotoma*, 5. *M. elongata*; 6. *M. maracasensis*; 7. *M. pseudoglaziovii*, 8. *M. quinquefolia*; 10. *M. zehntneri*, 9. Pecíolo com contorno achatado: *M. reniformis*. Seta- tricoma, Cv- cilíndrico vascular, Esc – esclerênquima, Fv – feixe vascular, M – medula. Barras: 1-10=150.

FIGURAS 11-14. Aspectos anatômicos do pecíolo de *Manihot*. 11: *M. elongata* com epiderme unisseriada, células levemente arredondadas e seis camadas de células colenquimáticas. 12. Epiderme unisseriada, células aproximadamente retangulares e três camadas de células colenquimáticas em *M. pseudoglaziovii*. 13-14. *M. dichotoma* e *M. quinquefolia* apresentando células colenquimáticas abaixo das camadas de células do parênquima clorofiliano e idioblastos. Asterisco (*) - Idioblastos, Co- colênquima, Ep – epiderme. Barras:11-14=60 µm

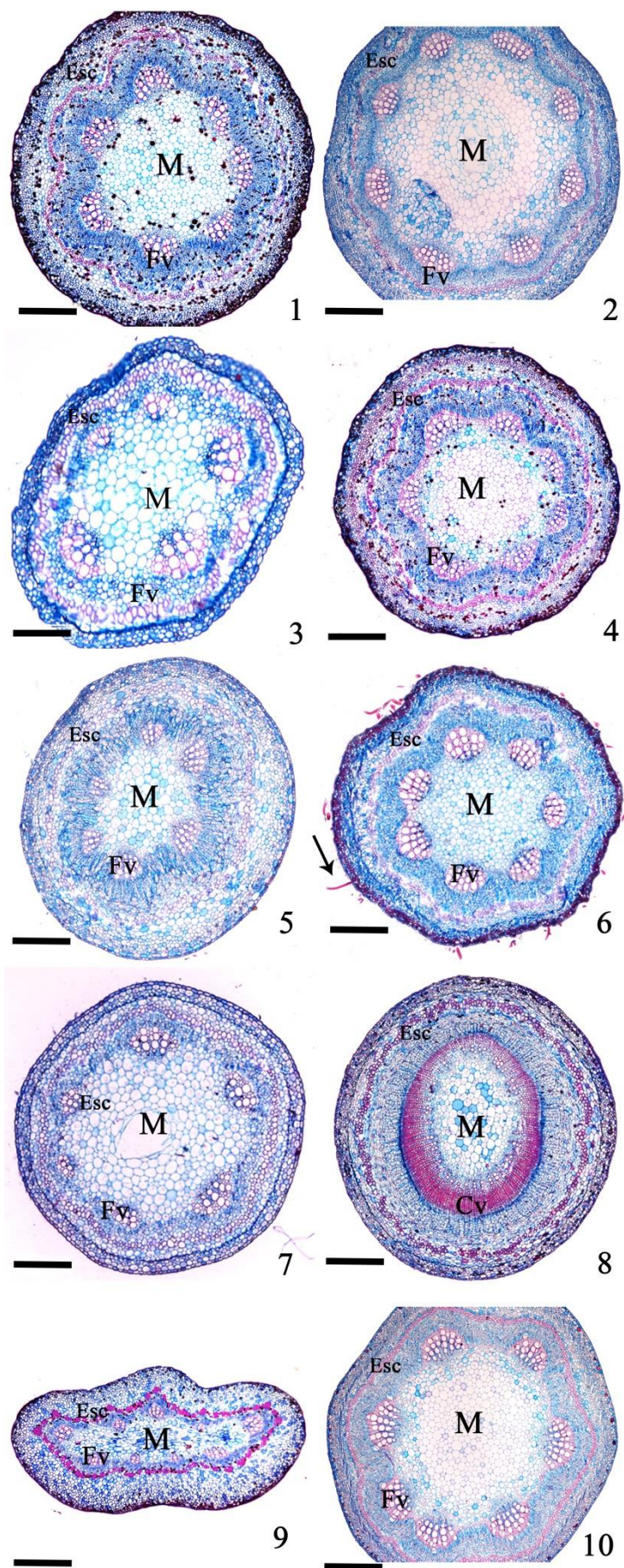
FIGURAS 15-18. Laticíferos articulado anastomosado no pecíolo de *Manihot*. 15. *M. caeruleascens*, 16. *M. carthigenensis*, 17. *M. dichotoma*, 18. *M. quinquefolia*. Asterisco (*) – anastomose, Seta – parede dissolvendo. Barras: 15=30 µm; 16-18= 15 µm.

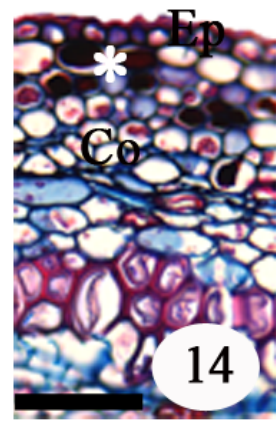
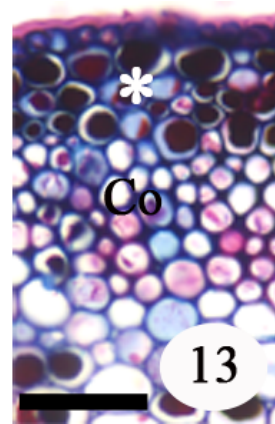
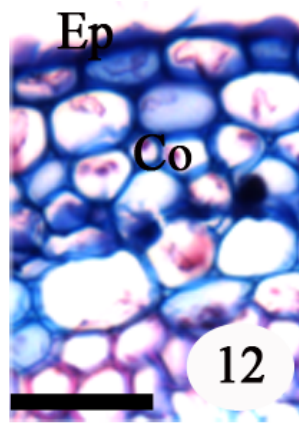
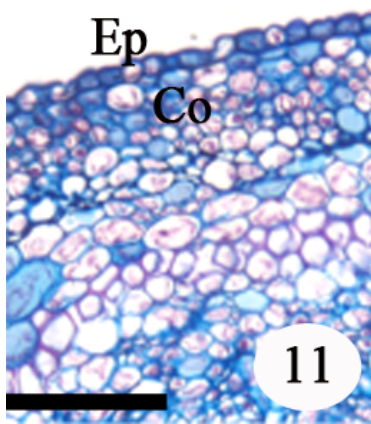
FIGURAS 19-28. Secção transversal da lâmina foliar de espécies de *Manihot*. 19. *M. caeruleascens*; 20. *M. carthigenensis*; 21. *M. dimantinensis*; 22. *M. dichotoma*, 23. *M. elongata*; 24. *M. maracasensis*; 25. *M. pseudoglaziovii*, 26. *M. quinquefolia*; 27. *M. reniformis*; 28. *M. zehntneri*. Asterisco (*)- tricomas, Seta- papilas, Est – estômato, PI – parênquima lacunoso, Pp – parênquima paliçádico. Barra: 19-28=15 µm

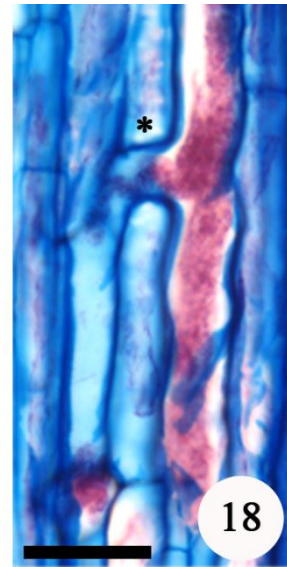
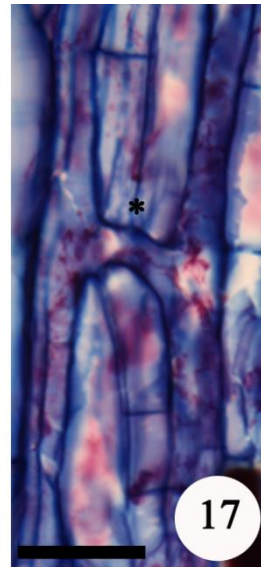
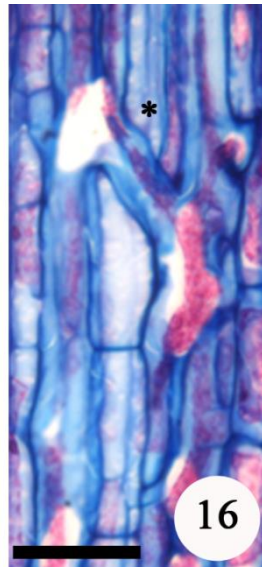
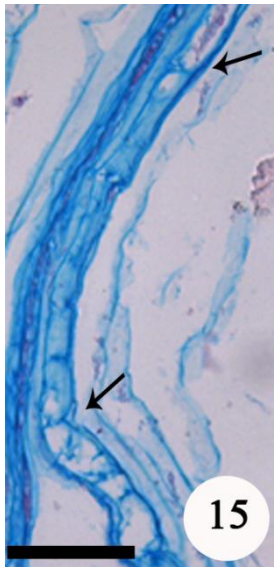
FIGURAS 29-30. Laticíferos no mesofilo de *M. dichotoma*. 40. Cristal (drusa) nas células da epiderme de *M. diamantinensis*. Lat - laticíferos, Seta-cristal (drusa). Barras: 29-30=15 µm.

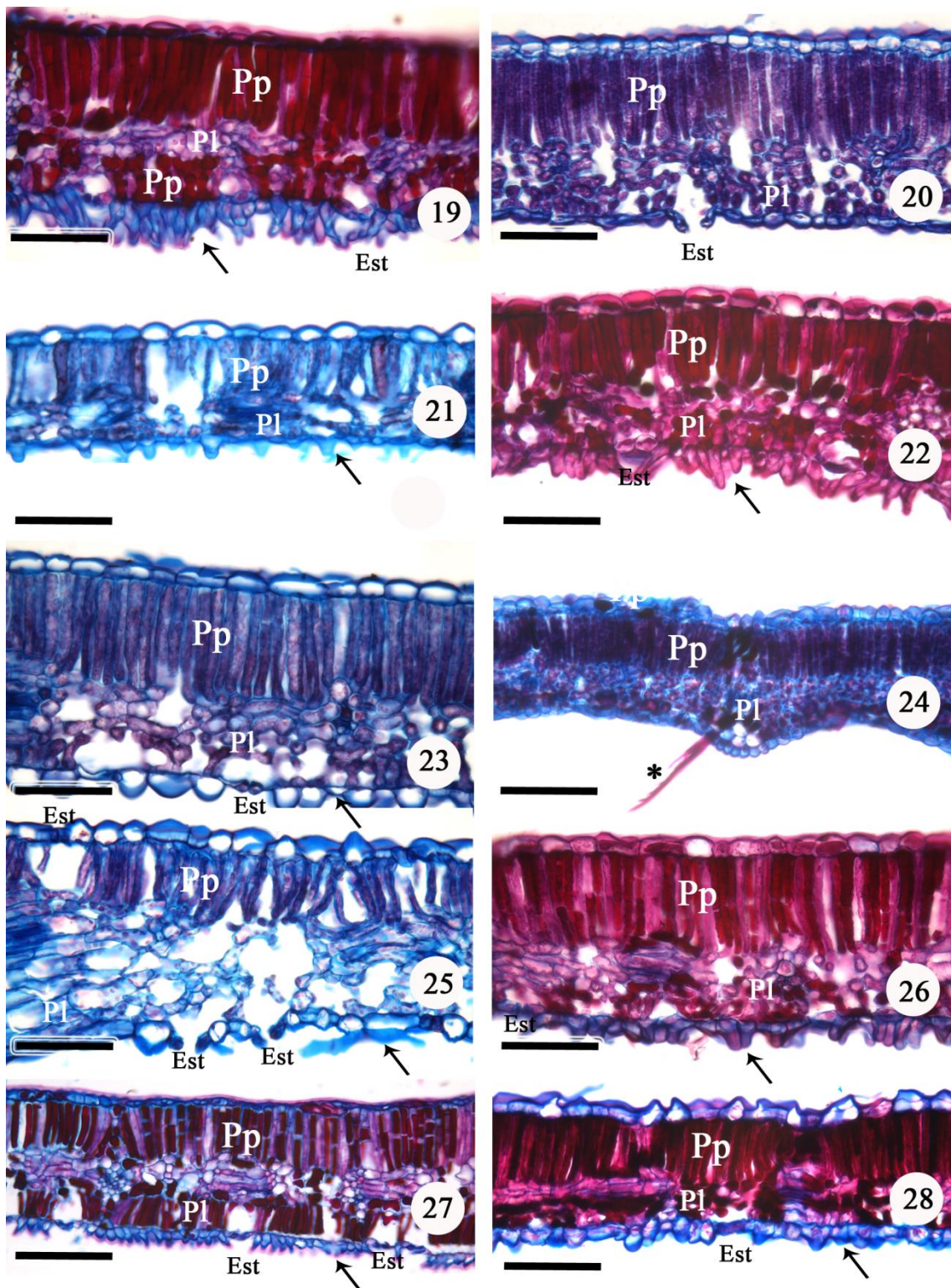
FIGURAS 31-39. Eletromicrografias de varredura da epiderme das espécies 31. *M. quinquefolia*, 32. *M. caerulescens*. 33. *M. diamantinensis*, 34. *M. dichotoma*, 36. *M. elongata*, 38. *M. reniformis*, 39. *M. pseudoglaziovii*. Face abaxial em microscopia eletrônica de varredura evidenciando as papilas e os estômatos. 35 e 37. Epiderme adaxial. 46. *M. elongata*, 48. *M. maracasensis*, evidenciando a presença de tricomas. Asterisco (*) - Papilas, Est - Estômatos, Seta - Tricomas.

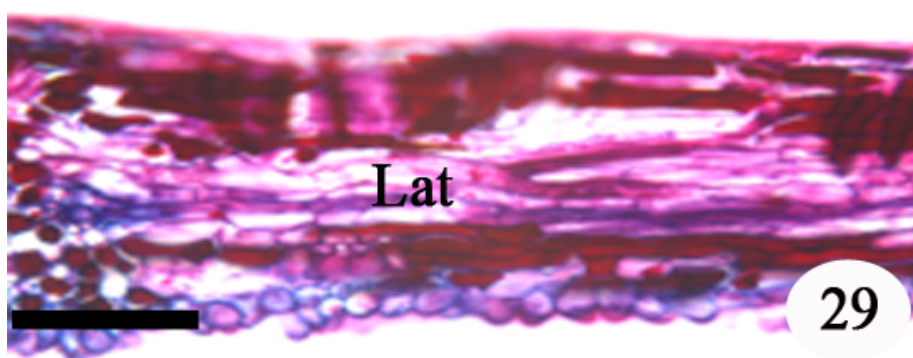
FIGURAS 40-49. Nervura mediana de espécies de *Manihot*. Nervura proeminente: 40. *M. caerulescens*, 42. *M. diamantinensis*, 43. *M. dichotoma*, 45. *M. maracasensis*, 47. *M. quinquefolia*; Nervura biconvexa: 41. *M. carthagenensis*; 44. *M. elongata*, 46. *M. pseudoglaziovii*, 48. *M. reniformis*, 49. *M. zehntneri*. Asterisco (*) - tricomas, Cabeça de seta – feixe acessório, Cc - cutícula, Fv - feixe vascular, Seta - idioblastos. Barras:40-30=49 µm.



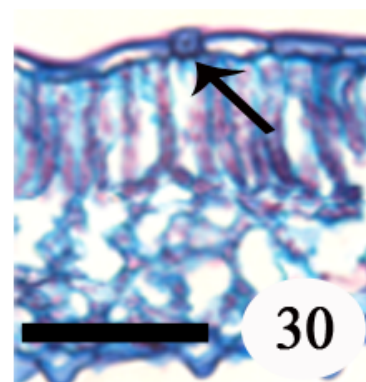




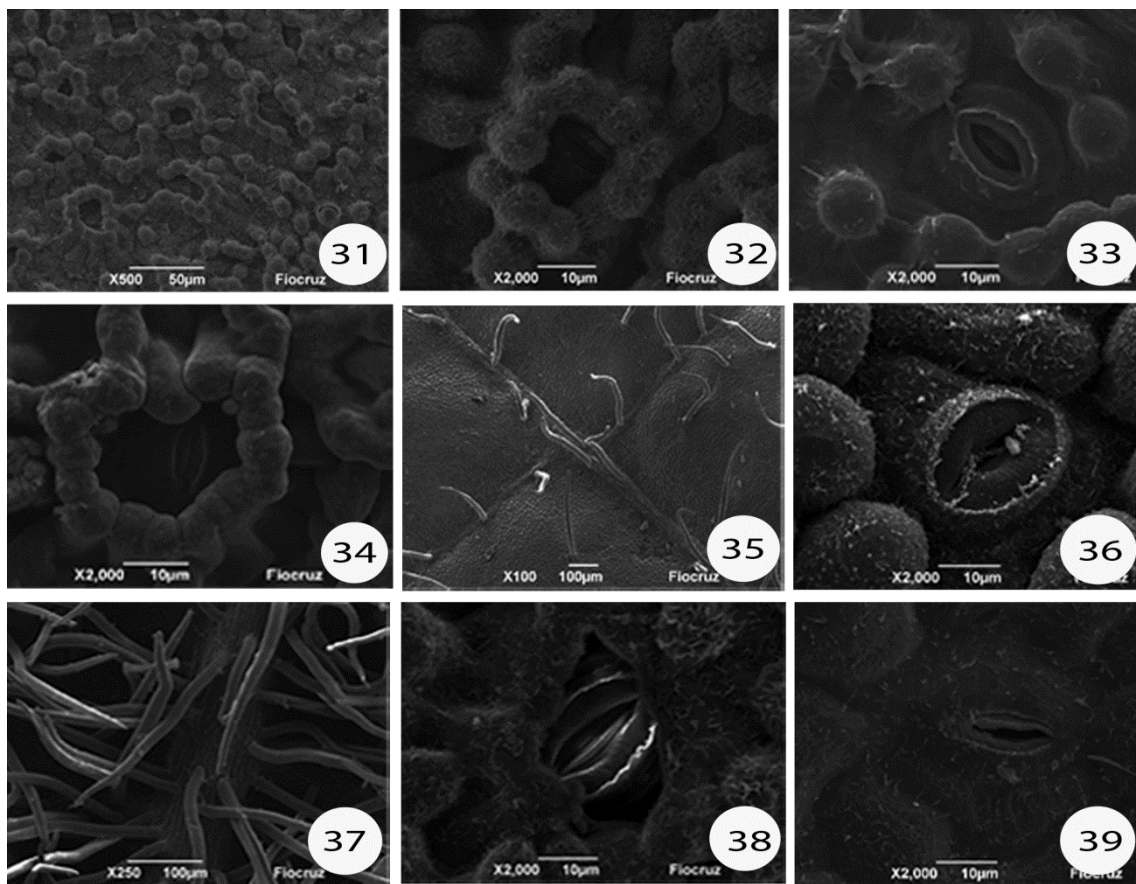


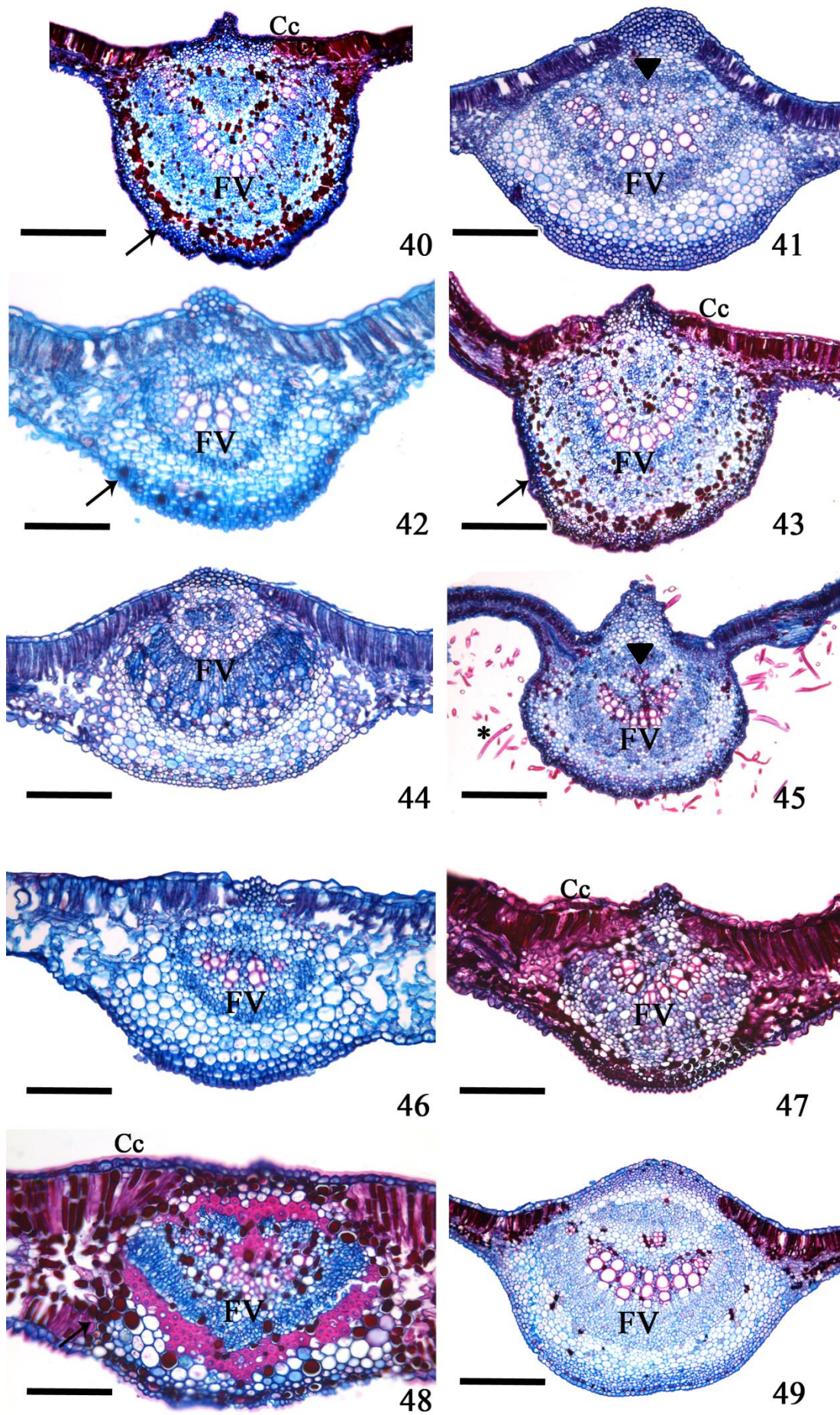


29



30





DISCUSSÃO

Alguns caracteres da anatomia foliar são potencialmente promissores para a taxonomia do grupo, tais como: forma do pecíolo e da nervura central, a presença de papilas epidérmicas, a organização dos feixes vasculares, a presença de tricomas, a posição dos estômatos a ocorrência de laticíferos, a presença de idioblastos e o tipo do mesofilo.

Os caracteres anatômicos descritos para o pecíolo, lâmina foliar, e nervura central de espécies do gênero *Manihot* estão de acordo com as descrições existentes em Metcalfe & Chalk (1979), para a família Euphorbiaceae permitindo a identificação dos indivíduos utilizados neste estudo.

A estrutura anatômica do pecíolo é bastante significativa para diferenciar as espécies do gênero *Manihot*, pois essa característica pode ser considerada menos afetada por alterações ambientais (Metcalfe & Chalk, 1950) e também foi relatado como tendo grande importância taxonômica para outros gêneros.

Das 10 espécies analisadas, apenas *M. reniformis* Pohl apresentou pecíolo com contorno achatado dorsiventralmente sendo que as demais apresentaram contorno cilíndrico. Esse padrão é comum para as espécies do gênero *Manihot*. Vannucci (1982); Allem (1984); Mendonça (1992); Silva et al. (2016) encontraram apenas pecíolos cilíndricos em espécies de *Manihot*. Cunha-Neto et al. (2014) encontrou dois formatos de pecíolo em seis espécies de *Manihot* da região Nordeste do Brasil, sendo que quatro apresentaram contorno cilíndrico e apenas duas espécies contorno achatado dorsiventralmente.

Em relação aos números de feixes vasculares no pecíolo, as espécies avaliadas apresentaram de cinco a nove feixes, com exceção de *M. quinquefolia* que apresentou um cilíndrico com estelo peciolar oco. Para Metcalfe (1983), as características anatômicas estruturais exibem uma grande gama de variações em relação a diversidade do habitat. Já Esau (1965) afirma que o número e o arranjo de feixes vasculares em eudicotiledôneas podem variar em diferentes níveis no pecíolo.

Um anel de células esclerenquimáticas foi encontrado no pecíolo de todas as espécies aqui descritas. De acordo com Allem (1984) essa é uma característica comum em grupos de vegetais que se desenvolvem em solos tropicais. Entretanto, o autor não atribui qualquer relação entre a ocorrência e sua funcionalidade.

As espécies avaliadas apresentaram epiderme uniestratificada e revestida por cutícula evidente nas diversas regiões observadas. Estudos realizados por Allem (1984) a partir de informações do espessamento da cutícula apresentou cinco tipos-padrão de deposição de cera epicuticular em *Manihot*. O espessamento da cutícula apresenta uma resposta variável em relação ao ambiente, sendo que plantas de regiões áridas mostram geralmente folhas fortemente cutinizadas (Wilkinson, 1979). Solereder (1908) assegura que apenas em casos extremos, esta característica pode ser utilizada para fins taxonômicos.

Das espécies avaliadas, nove apresentaram papilas exceto em *M. carthagenensis*. Alguns autores consideram que a presença ou proeminência das papilas possa ser determinada pelo ambiente (Wilkinson, 1979) e que epiderme papilosa é uma característica muito comum e largamente distribuída (Solereder, 1908). Segundo Judd et al. (2008), a ocorrência de papilas é um caráter taxonômico relevante. Estudos de Cunha-Neto et al. (2014), revelaram que a presença de papilas foi considerada uma característica significativa para distinguir as espécies de *Manihot*.

Em *M. esculenta*, as células papiladas estão presentes apenas na superfície abaxial e ocorrem em todas as áreas do limbo onde há venação. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Oliveira & Miglioranza (2013), que observaram a presença de papilas circundando parcialmente os estômatos.

À exceção de *M. caerulescens* Pohl e *M. reniformis* Pohl que possuem mesofilo isobilateral, a maioria das espécies avaliadas apresentou o tipo dorsiventral. Esse tipo de mesofilo está de acordo com as características já descritas para o gênero e para a família Euphorbiaceae (Metcalf & Chalk, 1950; Allem, 1984; Mendonça, 1992; Cunha-Neto et al. 2014). Para Vannucci (1982), Allem (1984) e Mendonça (1992), seis espécies silvestres de *Manihot* apresentaram mesofilo dorsiventral.

O mesofilo do tipo isobilateral de *Manihot caerulescens* Pohl é divergente dos resultados obtidos por Vannucci (1982). Para o autor, a espécie tem mesofilo dorsiventral. Esta divergência pode ser devido à resposta variável em relação ao ambiente.

Uma característica bastante comum e evidente em todas as espécies foi à presença de cristais distribuídos em vários tecidos, como no parênquima cortical, no parênquima associado ao floema, na medula e na epiderme de algumas espécies, ocorrendo sempre na forma de drusas. Metcalfe (1983), afirma que esse tipo de célula pode ocorrer em um mesmo táxon ou em tecidos diferentes, e podem estar presentes em maior ou menor quantidade, de acordo com a composição do solo onde a planta se encontra, não possuindo valor taxonômico.

Nas folhas de plantas da caatinga os cristais mais comumente observados são as drusas, distribuídas predominantemente na bainha dos feixes vasculares ou entre as células do parênquima clorofiliano paliçádico (Barros, 2010).

Devido à grande quantidade de papilas presentes, não foi possível observar o tipo de estômato das folhas de *M. caerulescens*, *M. dimantinensis*, *M. dichotoma*, *M. pseudoglaziovii*, *M. reniformis*, *M. zehntneri*. Os tricomas também dificultaram a visualização adequada dos estômatos em *M. elongata*, e *M. maracasensis*. Mas os estômatos do tipo paracíticos são registrados para *Manihot segundo* Vannucci, (1982); Allem, (1984); Cunha-Neto et al. (2014).

A exceção de *M. elongata* e *M. maracasensis*, todas as espécies estudadas não apresentaram tricomas, o que permitiu fazer distinção entre as espécies avaliadas. Tricomas são muito comuns entre as Euphorbiaceae, com grande diversidade de densidade e forma, incluindo os glandulares, não-glandulares e tricomas portadores de cristais (Metcalf & Chalk, 1950). Para o gênero *Manihot*, tricomas foram mencionados apenas para as espécies *M. xavantinensis* D.J. Rogers & Appan, *M. mossamedensis* Taub. (Allem 1984) e *M. pilosa* (Vannucci, 1982). Porém diversos tipos de indumento são citados para espécies de *Manihot* em diferentes ambientes (Rogers & Appan, 1973; Martins et al. 2013).

A nervura mediana das espécies analisadas apresentou duas formas. Este resultado é muito semelhante com os estudos realizados para outras

espécies do gênero (Vannucci, 1982; Allem, 1984; Cunha-Neto et al, 2014). A presença de feixes acessórios acima do feixe vascular central foi observada apenas em *M. carthaginensis*, *M. maracasensis* e *M. zehntneri*. Esta característica pode ser utilizada para fazer distinção entre as espécies analisadas. Em geral, são observados dois ou três pequenos feixes acessórios, distribuídos em direção à face superior da folha, formados por dois a cinco elementos de vaso agrupados, ou como células isoladas.

A presença de idioblastos foi verificada na maioria das espécies, distribuídos em quase todas as estruturas analisadas, exceto em *M. pseudoglaziovii*. Essas células são bastante frequentes na região subepidérmica, formando uma camada de células secretoras no pecíolo. De acordo com Allem (1984), além da presença de idioblastos, a presença de laticíferos também é frequente nessa região. *Manihot caerulescens*, *M. dichotoma* e *M. reniformis* apresentaram idioblastos na medula. De acordo com Metcalfe & Chalk (1950) a presença de células taníferas, isoladas ou em grupos, são largamente distribuídas na família Euphorbiaceae. O padrão de distribuição dos idioblastos contribuiu para a distinção das espécies aqui avaliadas.

A presença de esclerênquima na nervura foi observada apenas em *M. reniformis*. As fibras na nervura também foram relatadas por Vannucci (1982) em *M. pilosa*, enquanto que nenhuma das 14 espécies estudadas por Allem (1984) apresentou este tipo de célula na nervura. Sendo assim, pode-se dizer que essa é uma característica relevante para auxiliar estudos taxonômicos da espécie já que poucas espécies do gênero apresentam este anel de fibras.

Nas espécies avaliadas, os laticíferos são do tipo articulados e anastomosados, com ocorrência em todas as regiões avaliadas. Esse tipo de célula também foi referido por Mendonça (1983, 1992) e Rudall (1987). Na família Euphorbiaceae, laticíferos ocorrem normalmente nas subfamílias Crotonoideae e Euphorbioideae (Thakur & Patil, 2012), sendo analisados em diversos gêneros da família (Rudall, 1987). Os laticíferos podem aparecer na medula, no córtex, na nervura e às vezes livres no mesofilo (Metcalf & Chalk, 1950). Para *Manihot*, Vannucci (1982) e Allem (1984) relataram a presença de laticíferos não-articulados que seguem normalmente o curso das nervuras foliares.

As espécies estudadas pertencem a cinco seções distintas de *Manihot* segundo a classificação de Rogers & Appan (1973), sendo predominantemente a seção *Glaziovianae* (tabela 1).

Os resultados mostraram que os caracteres anatômicos não são suficientes para separar ou agrupar as espécies em suas respectivas seções, indicando que são necessários estudos anatômicos associados com caracteres morfológicos para delimitação das seções de *Manihot*.

CONCLUSÃO

As características mais relevantes analisadas ao pecíolo para a distinção entre as espécies são o número de feixes vasculares e o formato do pecíolo. Em relação às características anatômicas da lâmina foliar destacam-se ocorrência de tricomas, tipo de mesofilo e distribuição dos estômatos entre as faces da folha.

A presença de tricomas é o principal carácter que separa *M. elongata* e *M. maracacensis* das demais espécies.

O pecíolo achatado-dorsiventralmente e a ocorrência de fibras na nervura mediana são características exclusivas de *M. reniformis*.

As espécies estudadas apresentaram diferenças que indicam a importância da anatomia como subsídio à taxonomia. Para *Manihot*, a análise conjunta de características anatômica e morfológica é uma ferramenta útil para diferenciar as espécies.

REFERÊNCIAS

- Allem, A.C. 1984. A revision of *Manihot* section *Quinquelobae* (Euphorbiaceae). Dissertation, Department of Botany, University of Reading.
- Allem, A.C. 1989. A revision of *Manihot* section *Quinquelobae* (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Biologia*. 49: 1-26.

Allem, A.C. 2001. The primary gene pool of cassava (*Manihot esculenta* Crantz subspecies *esculenta*, Euphorbiaceae). *Euphytica* 120 (1), 127–132.

Barros, I.O.; Soares, A.A. 2010. Anatomia ecológica foliar de espécies da caatinga. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Depto. de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Fortaleza. Universidade Federal do Ceará – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1991. Electron microscopy. Jones and Bartlett Publishers. Boston. 542p.

Cunha-Neto, I.L.; Martins, F.M.; Caiafa, A.N.; Martins, M.L.L. 2014. Leaf anatomy as subsidy to the taxonomy of wild *Manihot* species in *Quinquelobae* section (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Botany* v.37, 481 - 494.

Esau, K. 1964. Structure and development of the bark in dicotyledons. In *The formation of wood in forest trees* (M. H. Zimmerman, ed.) Academic Press, New York.

Gerlach, D. 1969. *Botanische Mikrotechnik: eine Einführung*. Stuttgart: Georg Thieme.

Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw–Hill, New York.

Judd, W.S.; Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J., 2008. *Plant systematics*. Sunderland: Sinauer.

Machado, I. C.; Barros, L. M. 1997. Phenology of caatinga species at Serra Talhada, PE, Northeastern Brazil. *Biotropica*, v. 29, n. 1, p. 57-68.

Martins, M.L.L. 2013. *Avanços taxonômicos em Manihot Mill. para o Brasil*. Dissertation. Universidade Estadual de Feira de Santana.

Martins, M.L.L.; Carvalho, P.C.L.; Amorim, A.M.A. 2011. A remarkable *Manihot* (Euphorbiaceae) from the coastal sand plains of Sergipe, Brazil. *Phytotaxa*. 32: 57-60.

Mendonça, M. S. 1983. Estudo de plantas laticíferas. I. Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot caerulea* Pohl. *Acta Amazônica*, Manaus, v.13, p. 17-501.

Mendonça, M.S., 1992. Estudo de plantas laticíferas II. Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot glaziovii* Muller Arg. *Acta Amazônica* 22(3): 21-309.

Metcalf, C.R.; Chalk, L., 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*, first ed. Clarendon Press, Oxford.

Metcalf, C.R.; Chalk, L., 1979. *Anatomy of the dicotyledons. Vol. I. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject*, first ed. Clarendon Press, Oxford.

Metcalf, C.R.; Chalk L. 1983. *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, VI, 2nd.

Nassar, N.M.A.; Hashimoto, D.Y.; Fernandes, S.D. 2008. Wild *Manihot* species: botanical aspects, geographic distribution and economic value. *Genetics and molecular research* 7(1), 16-28.

Oliveira, E. C.; Miglioranza, E. 2013. Dimensões e densidade estomática em diferentes variedades de mandioca. *Revista Cultivando o Saber*, v. 6, p. 201-213.

Reich, P.B.; Uhl, C.; Walters, M. B.; Prugh, L.; Ellsworth, D.S. 2004. Leaf demography and phenology in Amazonian rain forest: A census of 40000 leaves of 23 tree species *Ecology Monograph*. 74: 3–23.

Rogers, D.J.; Appan, S.G. 1973. *Manihot* and Manihotoides (Euphorbiaceae): A Computer Assisted Study. Flora Neotropica. Dissertation nº 13, Hafner Press, New York.

Rós, A. B.; Hirata, A. C. S.; Araújo, H. S.; Narita, N. 2011. Crescimento, fenologia e produtividade de cultivares de mandioca. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 41(4): 552- 558.

Rudall, P. 1987. Laticifers in Euphorbiaceae – a conspectus. *Bot. J. Linn. Soc.* 94: 143-163.

Silva, M.J.; Inocêncio, L.S.; Alonso, A.A. 2016. *Manihot allemii* sp. nov. (Euphorbiaceae s.s.) with entire and unlobed leaves from northern Brazil, with notes about foliar anatomy. *Nordic Journal of Botany* 34(2),_134–140.

Solereeder, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons: a handbook for laboratories of pure and applied Botany. Vol. 2. Clarendon Press, Oxford.

Tannus, J. L.S.; Assis, M.A.; Morellato, L.P.C. 2006. Fenologia reprodutiva em campo sujo e campo úmido numa área de Cerrado no sudeste do Brasil, Itirapina -SP. *Biota Neotropica*, 6(3).

Thakur, H. A.; Patil, D. A. (2012). The family Euphorbiaceae: Anatomical conspectus. *World J. Sci. Techn.* 2(6): 51-57.

Vannucci, A.L. 1982. Anatomia Comparada de Duas Espécies Nativas de *Manihot* Mill. (Euphorbiaceae). Dissertation, Universidade Estadual de Campinas.

Wilkinson, H. P. 1979. The plant surface (mainly leaf) In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. *Anatomy of the Dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject*. Vol I. Oxford: Clarendon Press.

CAPÍTULO II

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE *Manihot caeruleans* Pohl (EUPHORBIACEAE)

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE *Manihot caerulescens* Pohl (EUPHORBIACEAE)

Autor: Lucimara Reis de Oliveira Silva

Orientador: Dr. Fabiano Machado Martins

Coorientador: Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins

RESUMO- *Manihot caerulescens* Pohl (Euphorbiaceae) é uma espécie nativa de ampla distribuição no Brasil, apresenta, de forma geral, porte arbóreo, pecíolos purpúreos, lobos foliares obovados com ápice cuspidado, frutos bacáceos costelados e látex amarelado. Nas Euphorbiaceae os laticíferos vêm sendo objeto de estudos devido à sua importância medicinal, ornamental, taxonômica e econômica, tendo sido inclusive fonte de extração de borracha. Este estudo teve como objetivo descrever a anatomia foliar e caracterizar a secreção dos laticíferos e idioblastos de *M. caerulescens*. Amostras de folhas foram submetidas às técnicas usuais em anatomia vegetal e a testes histoquímicos para identificação das principais classes de metabolitos secundários. A observação foi realizada em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. As folhas têm uma epiderme unistratificada compostas de células bastante alongadas, revestidas externamente por cutícula espessa e uniforme. A epiderme apresenta células papilosas na superfície abaxial, geralmente alongadas. O mesofilo é isobilateral e o feixe vascular da nervura central tem formato biconvexo. Dois tipos de idioblastos foram encontrados: os secretores, com conteúdo denso e os cristalíferos, sob a forma de drusas. Os testes histoquímicos revelaram diferentes classes de substâncias químicas tanto para idioblastos como para os laticíferos. Nos idioblastos foi detectada reação positiva para os compostos fenólicos gerais, proteínas, polissacarídeos totais e taninos. Já os laticíferos reagiram positivamente para lipídios totais e ácidos, essências, polissacarídeos totais e borracha. Estes resultados são similares a trabalhos encontrados na literatura com diferentes espécies da família Euphorbiaceae. Para os demais testes, os resultados foram negativos. Os testes histoquímicos que se revelaram positivos forneceram informações importantes sobre a existência de classes de metabólitos nos laticíferos e idioblastos, demonstrando o potencial da espécie estudada como uma fonte de compostos a serem explorados.

Palavras-chave: Euphorbiaceae; Idioblasto; Laticífero; Metabolismo secundário

ANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF *Manihot caerulescens* Pohl (EUPHORBIACEAE)

Author: Lucimara Reis de Oliveira Silva
Advisor: Dr. Fabiano Machado Martins
Coadvisor: Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins

ABSTRACT - *Manihot caerulescens* Pohl (Euphorbiaceae) is a native species with wide distribution in Brazil has generally sized arboreal, purpuracens petiole, leaf lobes like obovate with cuspidate apex, fruit bacáceos costelados and yellow latex. In Euphorbiaceae the laticifers have been studies object because of his medicinal, ornamental, taxonomic and economic importance, have been including as a rubber extraction source. This study aimed to describe the leaf anatomy and characterize the secretion of latex and idioblasts *M. caerulescens*. Leaf samples were submitted to usual techniques in plant anatomy and histochemical analysis to identify the major classes of secondary metabolites. Observations was performed by light microscopy and scanning electron microscopy. The leaves have a unistratificada epidermal composed with very elongated cells externally coated by a cuticle thick and uniform. Epidermis presents papillary cells on the abaxial surface usually elongated. The mesophyll is isobilateral and vascular midrib has a biconvex shape. Two kinds of idioblasts was found: secreting with dense cytoplasm and cristals as a drusen. Histochemical testing has revealed different classes of chemicals for both idioblasts as for latex. In idioblasts was detected positive reaction to the general phenolic compounds, proteins, polysaccharides and total tannins. Already lactiferous responded positively to total lipids and acids, essences, total polysaccharides and rubber. The results are similar to studies in the literature with different species of the Euphorbiaceae family. For other tests, the results were negative. The histochemical analysis revealed positive provided important informations about the existence of metabolites classes in lactiferous and idioblasts demonstrated the potential of this studied species as a source of compounds to be explored.

Keywords: Euphorbiaceae; Idioblast; Laticifer; Secondary metabolism

INTRODUÇÃO

A família Euphorbiaceae é uma das maiores do grupo das Angiospermas, possui cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, distribuídas em todo o mundo principalmente nos trópicos e subtropicais (Lorenzi & Souza, 2005). Sendo considerada uma das famílias de maior importância econômica, especialmente pela extração de látex para a produção de borracha natural, fortalecendo economicamente a região amazônica. Além disso, espécies de *Manihot esculenta* Miller, foram responsáveis por manter, durante algum tempo, a economia da região da Caatinga nordestina (Allem & Irgang, 1975). As Euphorbiaceae movimentam grandes somas de dinheiro no mercado de plantas ornamentais pela beleza de suas brácteas ou folhas. (Lorenzi & Souza, 2005).

O gênero *Manihot*, pertencente à Euphorbiaceae, subfamília Crotonoideae, tribo Manihotae apresenta cerca de 100 espécies (Rogers & Appan, 1973). No Brasil são registradas cerca de 70 espécies em 13 seções (Nassar, 2000; Allem, 2002). Sua distribuição é exclusivamente Neotropical, com quatro centros de diversidade sendo Brasil e México considerados os dois principais (NASSAR et al. 2008). As espécies de *Manihot* são popularmente conhecidas como mandioca, mandioca-braba, mandioca-brava, manioca, aipim ou macaxeira e são bastante utilizadas na alimentação, principalmente *M. esculenta* Crantz, por possuir órgão subterrâneo ricos em carboidratos.

Os laticíferos vêm sendo constantemente estudados, em Euphorbiaceae principalmente nos gêneros *Euphorbia*, *Hevea*, *Jatropha*, e *Manihot*, devido à sua importância medicinal, ornamental, ou econômica (RUDALL, 1987, 1994). Os laticíferos são estruturas secretoras de onde é produzido o que possuem um fluido denominado látex que normalmente é mantido sob pressão em células vegetais (Evert, 2006; Agrawal & Konno, 2009). O látex pode conter diversos compostos como: triterpenos, hidrocarbonetos poliisoprenicos (borracha), aminas, ácidos graxos, fitoesteróis e alcaloides (Matile, 1987; Mauseth, 1978). O sucesso das plantas laticíferas em diferentes ambientes foi devido às funções atribuídas ao látex como para proteção contra micro-

organismos, defesa contra herbivoria e selante de ferimentos (Fahn, 1979; Farrell et al. 1991; Evert, 2006).

Algumas espécies do gênero *Manihot* apresentam idioblastos secretores que são células individualizadas de composição química diferenciada, que podem ser encontrados no mesofilo, dispersos entre o parênquima lacunoso e paliçádico ou associados à bainha parenquimática do feixe (Cunha Neto et al. 2014).

Este estudo teve como objetivo descrever a anatomia foliar com ênfase nas estruturas secretoras e identificar os principais componentes da secreção dos laticíferos e idioblastos de *M. caerulescens* Pohl. Além de disponibilizar informações que venham a agregar conhecimento a serem utilizados em diversas áreas de estudos como, por exemplo, taxonômicos e filogenéticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O material foi coletado no Banco de Germoplasma de mandioca da UFRB município de Cruz das Almas, no estado da Bahia, Brasil. As amostras foram depositadas no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (HURB). Folhas desenvolvidas foram fixadas em 50% FAA (37% de formaldeído, ácido acético glacial, 50% de etanol) durante 24 h (Johansen, 1940) e sulfato ferroso em formalina (37% de formaldeído, sulfato ferroso hepta-hidratado III, água destilada) durante 48 h (Johansen 1940). O material foi, em seguida, armazenado em etanol a 70%. As amostras foram desidratadas em série butílicas e incluídas em parafina, para estudos histológicos (Johansen, 1940). Os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo (Modelo RM2245, Leica Microsystems), produzindo em série secções transversais e longitudinais de 12-15 μm de espessura.

Para caracterização estrutural, as secções foram coradas com safranina e azul de Astra (Gerlarch, 1969) e montadas em resina sintética (Permout; Fisher). Testes histoquímicos foram realizados com secções retiradas de amostras frescas e amostras fixadas em FAA50 e FNT. Os cortes foram realizados em criomicrotomo (modelo CM1850; Leica Microsystems), utilizando

o fluido de congelamento (Cryo Glue, Slee Mainz) com espessura aproximada de 50 μm a uma temperatura de -25°C . Os cortes foram submetidos aos testes histoquímicos descritos na (Tabela 1). Os controles seguem o determinado nos protocolos dos testes.

As observações e a documentação foram realizadas com um microscópio de luz (modelo BX51; Olympus Optical) equipado com câmera digital Olympus A330. As escalas dos números foram obtidas projetando um micrômetro de slides fotografados / digitalizados sob as mesmas condições.

Microscopia eletrônica de varredura

As análises da superfície foliar foram realizadas no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Fragmentos de folhas de aproximadamente 5 mm^2 foram analisados ao microscópio eletrônico de varredura. As amostras foram desidratadas em série elítica até etanol 100%, secas ao ponto crítico (modelo LEICA EM CPD 030) utilizando dióxido de carbono líquido, montadas em portas-espécimes e recobertas com uma camada de ouro pelo processo de pulverização catódica (DENTON VACCUM DESSK IV). A documentação fotográfica foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6390 LV), (Bozzola & Russel 1991).

Tabela 1- Testes histoquímicos realizados para identificar metabólitos secretados pelos Laticíferos e Idioblastos das folhas de *Manihot caerulescens* Pohl.

	Grupo de Metabólitos	Reagentes	Referências
Lipídios	Lipídios totais	Sudão vermelho	(Pearse, 1980)
		Sudão negro B	(Pearse, 1980)
	Lipídios ácidos e neutros	Azul do Nilo	(Cain, 1947)
Terpenóides	Óleos essenciais e óleo-resinas	Reagente de Nadi	(David & Carde 1964)
	Lactonas sesquiterpénicas	Ácido sulfúrico	(Geissman & Griffin 1971)
Compostos fenólicos	Compostos fenólicos gerais	Dicromato de potássio	(Gabe 1968)
		Cloreto férrico	(Johansen, 1940)
	Taninos	Vanilina clorídrica	(Mace & Howell 1974)
	Lignina	Floroglucinol	(Johansen, 1940)
Alcalóides		Reagente de Wagner	(Furr & Mahlberg 1981)
		Reagente de Dragendorff	(Furr & Mahlberg, 1981)
		Reagente de Dittmar	(Furr & Mahlberg, 1981)
		Reagente de Ellram	(Furr & Mahlberg, 1981)
Glicídios	Mucilagens	Ácido Tânico/Cloreto de Ferro III	(Pizzolato e Lillie, 1973)
Polissacarídeos	Polissacarídeos neutros	PAS	(Maia 1979)
	Amido	Lugol	(Jensen 1962)
Proteínas	Proteínas Totais	Xilidine ponceau	(O'Brien e McCully, 1981)
		Azul de anilina	(Fisher, 1968)
Borracha		Óleo vermelho	(Pearse, 1985)

RESULTADOS

Ontogenia dos laticíferos

Os laticíferos de *Manihot caerulescens* se desenvolvem mais rápido na ontogênese dos órgãos, enquanto a maior parte dos tecidos ainda é

meristemática ou encontra-se em processo de diferenciação. Na espécie estudada, os laticíferos são do tipo articulados anastomosados (Figs. 1- 4), formados pela adição de células, cujas paredes transversais dissolvem-se rapidamente. Apenas um pequeno número de células podem ser vistas com estas paredes (Fig. 3), pois as células se unem completamente sem deixar vestígios dessas paredes formando um laticífero contínuo. Os laticíferos de *Manihot caerulescens* foram observados na região do floema interligando-se através de anastomose lateral gerando um sistema ramificado. Estas ramificações ocorrem no início do desenvolvimento dos laticíferos. Alguns laticíferos possuem forma de “H” (Fig. 4) evidenciando a existência de anastomose entre dois laticíferos próximos. Depois da anastomose das paredes de contato, os protoplastos das células unem-se formando um único protoplasto em toda a extensão do laticífero, dando um caráter multinucleado.

Pecíolo

No pecíolo (Fig. 5) de *Manihot caerulescens*, em secção transversal foi possível observar a epiderme uniestratificada com células de formato arredondadas e formato cilíndrico e uma cutícula espessa (Fig. 6). A medula é formada por células parenquimáticas arredondadas e de tamanho variado, (Fig. 5).

O córtex é composto por células parenquimáticas com formato arredondado (Fig. 7). Na porção mais externa, quatro a cinco camadas de células colenquimáticas. Foram encontrados dois tipos de idioblastos: os secretores com conteúdo denso, fortemente corado pela safranina (Fig. 7) e os cristalíferos, sob a forma de drusas. Os idioblastos podem ser encontrados no córtex, próximo aos feixes vasculares e na medula (Fig. 5). Os Idioblastos cristalíferos podem ocorrer individualizados ou aos pares, com ocorrência nas células epidérmicas na região cortical, próximos aos feixes vasculares ou na medula.

Em *M. caerulescens* ocorrem sete grupos de feixes vasculares (Fig. 5) distribuídos de forma organizada delimitando uma região medular aproximadamente circular.

Manihot caerulescens apresenta floema e xilema dispostos em forma de arco tênue (Figs. 5- 6). Células esclerenquimáticas (Fig. 6) são encontradas na periferia do floema formando um anel em toda a circunferência do pecíolo, com 2 camadas de células.

Lâmina Foliar

Na epiderme da lamina foliar, em secção transversal, as células são uniestratificadas e apresentam cutícula espessa (Fig. 8), com células papilosas na superfície abaxial (Figs. 8-9), geralmente alongadas e com formato retangular ou arredondado na superfície adaxial. Em vista frontal, não foi possível observar as paredes anticlinais devido à presença das papilas impossibilitando descrever o formato das células (Fig. 9).

O mesofilo apresenta organização isobilateral (Fig. 8), sendo que a face adaxial sempre apresenta um maior número de células do parênquima paliçádico, em relação à face abaxial. As células são alongadas na face adaxial, com apenas uma ou no máximo três camadas de células, com arranjo compacto. O parênquima lacunoso apresenta poucos espaços intercelulares.

Nervura Central

A nervura central, em secção transversal, tem formato proeminente com a epiderme uniestratificada constituída de células arredondadas, revestidas por cutícula espessa (Fig.10). Na epiderme é comum a ocorrência de drusas. O feixe vascular é colateral formando um único arco (Figs. 10-11).

Histoquímica

Na caracterização histoquímica dos idioblastos e laticíferos verificou-se reação positiva para uma secreção de natureza mista, composta por substâncias lipofílicas e hidrofílicas. A presença dos compostos químicos nos laticíferos (Figs. 12-17) e idioblastos (Figs. 18-24) foram evidenciados através

da diferenciação da cor natural do secretado e a coloração obtida por meio dos testes. Nos idioblastos, observou-se reação ao Dicromato de potássio (Fig. 20) e do Cloreto férrico III, (Fig. 19) evidenciando a presença de compostos fenólicos. O teste com a Vanilina Clorídrica (Fig. 23) evidenciou reação positiva com coloração vermelha para a secreção dos idioblastos, comprovando a presença de taninos. Proteínas totais foram evidenciadas pela reação positiva aos testes com Azul de Anilina (Fig 21) e Xilidine Ponceau (Fig. 22), apresentando coloração azul e vermelha respectivamente.

Os laticíferos apresentaram reação positiva para lipídios totais apenas com o reagente Sudão negro (Fig. 14). O Reagente de NADI usado para detectar terpenóides, (Fig. 13) obteve resultado positivo para laticíferos, apresentando uma coloração azul característica de óleos essenciais.

Com a utilização de Azul de Alciano (Fig. 17) pode-se confirmar a presença de proteínas nos laticíferos. A detecção da presença de polissacarídeos totais nos laticíferos foi verificada por meio da Reação PAS (Fig. 15).

O teste com o reagente Óleo vermelho reagiu positivamente nos laticíferos, evidenciando a presença de borracha no látex (Fig. 16).

Tabela 2- Caracterização histoquímica dos Idioblastos e Laticíferos de *Manihot caerulea* Pohl

Grupo metabólico	Reagentes	Laticíferos	Idioblastos
Lipídio	Sudão negro	+ (Fig. 14)	-
	Sudão vermelho	-	-
	Sulfato Azul de Nilo	-	-
Terpenóide	Reagente de NADI	+ (Fig. 13)	-
Compostos fenólicos	Dicromato de potássio	-	+ (Fig. 20)
	Cloreto férrico III	-	+ (Fig. 19)
Taninos	Vanilina Clorídrica	-	+ (Fig. 23)
Ligninas	Floroglucinol	-	-
Alcalóides	Dragendoff	-	-
	Wagner	-	-
	Dittmar	-	-
	Ellram	-	-
Borracha	Óleo vermelho	+ (Fig. 16)	-
Amido	Lugol	-	-
Mucilagens	Ácido tânico/ Cloreto férrico III	-	-
Proteínas totais	Azul Brilhante Comassie	-	-
	Azul de Anilina	-	+ (Fig. 21)
	Azul de Alciano	+ (Fig. 17)	-
	Xilidine Ponceau	-	+ (Fig. 22)
Lactonas sesquiterpénicas	Ácido Sulfúrico	-	-
Polissacarídeos	PAS	+ (Fig. 15)	-

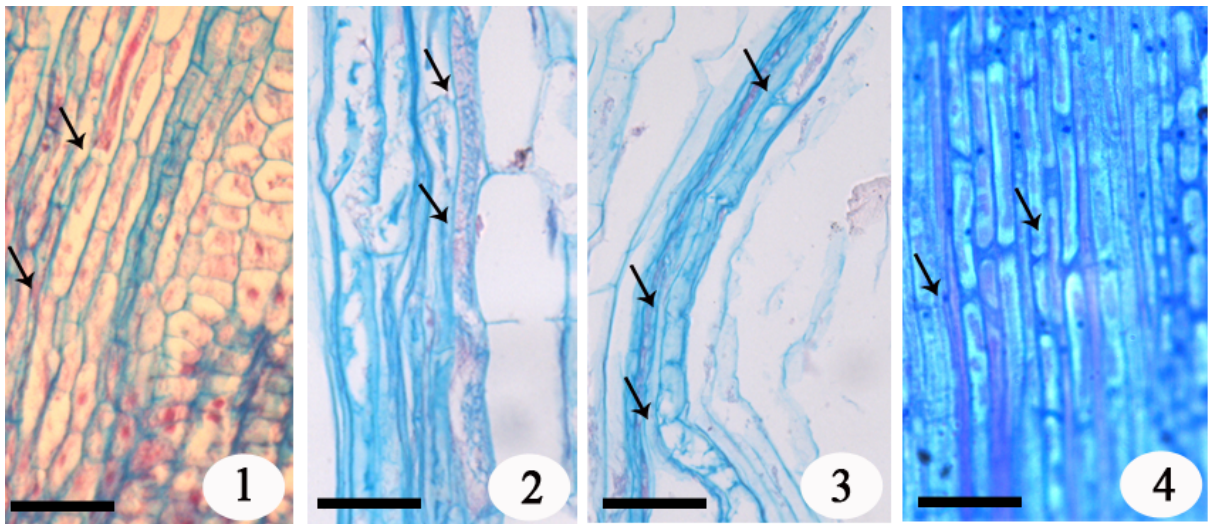
Legendas

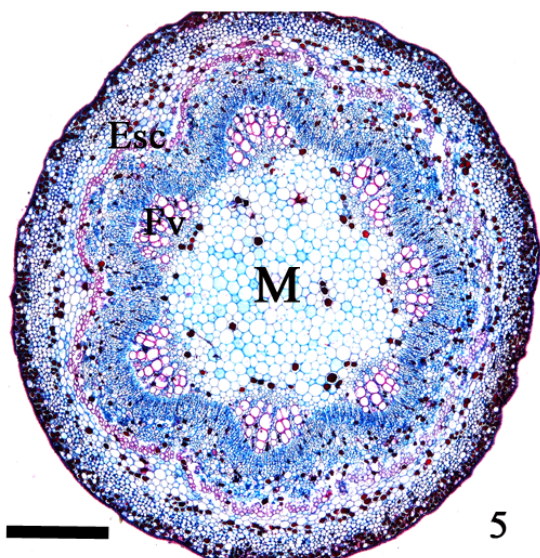
FIGURAS 1-4: Ontogênese dos laticíferos de *Manihot caerulescens*. 1. Células meristemáticas no início da formação dos laticíferos. 2-3. Laticífero com parede transversal. 4. Ramificações dos laticíferos. Seta - parede transversal. Barra: 1-4=15 µm

FIGURAS 5-11 *Manihot caerulescens* POHL. 5. Secção transversal do pecíolo mostrando o contorno cilíndrico. 6. Detalhe do pecíolo evidenciando feixe vascular em forma de arco tênue. 7. Detalhe da imagem anterior mostrando camadas de idioblastos na região subepidérmica. 8. Secção transversal da lâmina foliar. 9. Face abaxial em microscopia eletrônica de varredura evidenciando as papilas e os estômatos. 10. Nervura central biconvexa. 11. Detalhe da figura anterior mostrando feixe vascular. Asterisco (*) - Papilas, C - córtex, Cc - cutícula, Co - colênquima, Est - Estômatos, Esc - Esclerênquima, FV - Feixe vascular, M - Medula, Pp - Parênquima paliçádico, Pl - Parênquima lacunoso, X - Xilema, Seta - Idioblastos. Barra: 5=150 µm; 5=30; 7,8,11=15 µm; 10=60 µm

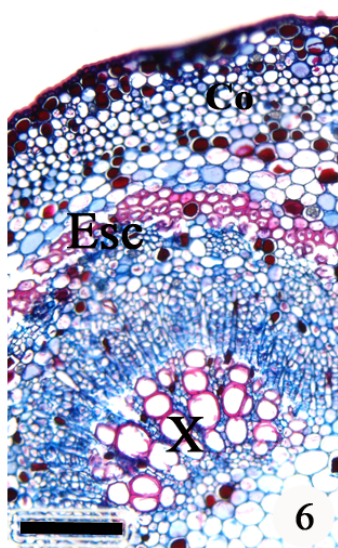
FIGURAS 12-17: Caracterização histoquímica dos Laticíferos em *Manihot caerulescens*. Secção longitudinal. 12. Branco. 13. reação de NADI 14. Reação sudão negro. 15. Reação com o PAS. 16. Reação com óleo vermelho. 17. Reação com azul de Alciano. Barra: 12-17=15 µm

FIGURAS 18-23: Caracterização histoquímica dos Idioblastos em *Manihot caerulescens*. Secção transversal (18 e 23). 18. Branco. Secção longitudinal (19 a 22). 19. Reação com o cloreto férrico. 20. Reação com o dicromato de potássio. 21. Reação azul de Anilina. 22. Reação com Xilidine ponceu. 23. Reação Vanilina Clorídrica. Barra: 18-23=15 µm

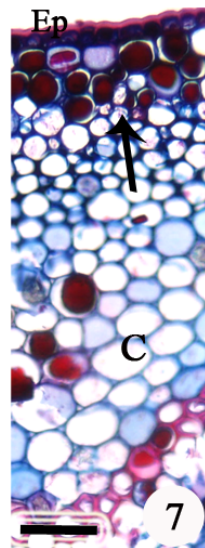




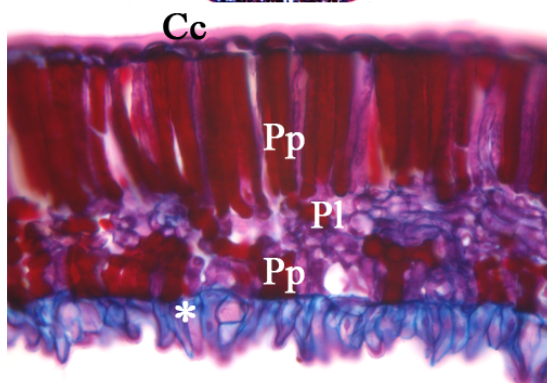
5



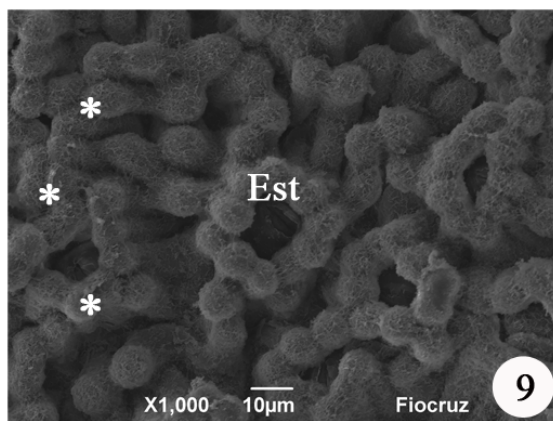
6



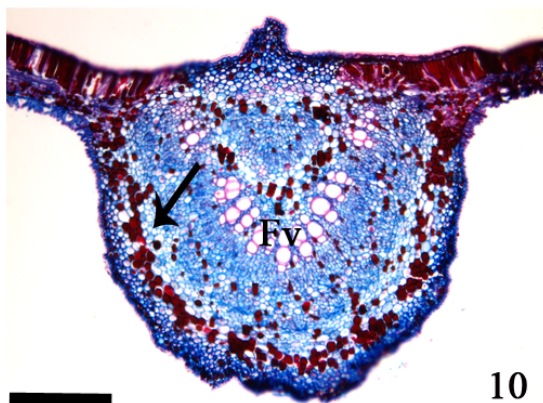
7



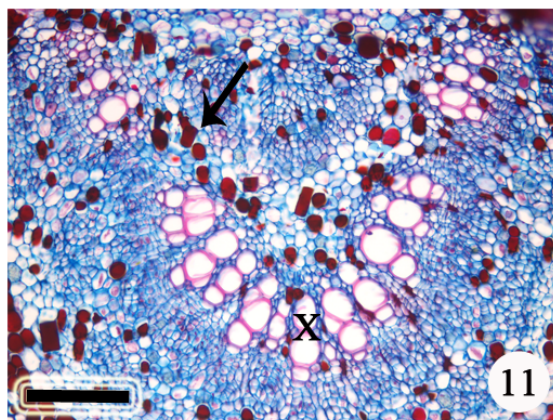
8



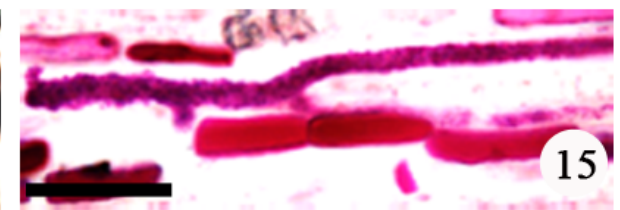
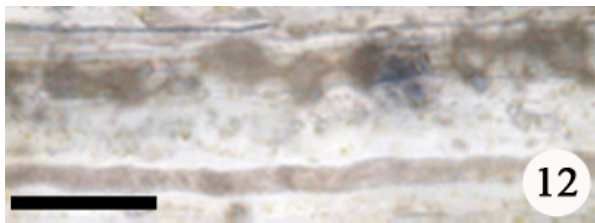
9

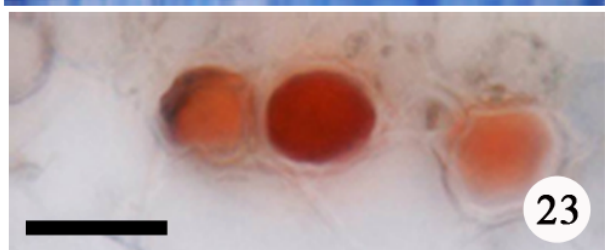
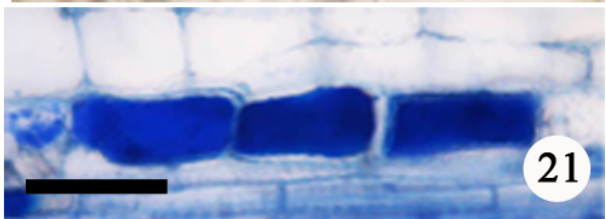


10



11





DISCUSSÃO

Os laticíferos das espécies de Euphorbiaceae são considerados em sua maioria não articulados, formados através de células iniciais laticíferas que se alongam por crescimento apical autônomo através de todo o corpo vegetal (Solereeder, 1908; Mahlberg, 1993).

Na família Euphorbiaceae, os laticíferos normalmente são encontrados nas subfamílias Crotonoideae e Euphorbioideae (Thakur & Patil, 2012), sendo observados em diversos gêneros (Rudall, 1987). No gênero *Manihot* são relatados a presença de laticíferos articulados e não-articulados, sendo que os articulados seguem, normalmente, o curso das nervuras das folhas (Rudall 1987). Esses laticíferos podem aparecer em várias regiões como na medula, no córtex, na nervura e às vezes livres no mesofilo (Metcalf & Chalk, 1950).

A presença de laticíferos articulados anastomosados nos órgãos vegetativos de *M. caerulescens* está de acordo com Mendonça (1983) que também relataram a ocorrência desse tipo de célula para a mesma espécie em estudo, entretanto, esse autor não disponibilizou fotomicrografias em seus estudos.

Os laticíferos só crescem em regiões meristemáticas por adição de novas células. A célula adicionada pode estar em posição apical ou lateral, formando as ramificações e o sistema laticífero como um todo. Este fato também foi observado em flores de outras espécies de Euphorbiaceae (Demarco et al. 2006).

As características anatômicas encontradas nas folhas de *M. caerulescens* Pohl estão de acordo com as descrições de Vannucci (1982), exceto pela organização do mesofilo, já que o autor descreveu um mesofilo dorsiventral e neste estudo foi encontrado isobilateral. No entanto, este tipo de mesofilo já havia sido descrito para o gênero e para a família Euphorbiaceae (Metcalf & Chalk, 1950).

Os feixes vasculares no pecíolo de *M. caerulescens* possuem a forma de arco tênue. Esse tipo de feixe é comum na maioria das espécies do gênero. Metcalfe (1983) relata que as características anatômicas estruturais exibem uma grande gama de variações em correlação com a diversidade do habitat,

enquanto Esau (1965) afirma que o número e o arranjo de feixes vasculares em Eudicotiledôneas podem variar em diferentes níveis no pecíolo.

A epiderme de *M. caerulescens* é uniestratificada e revestida por cutícula evidente e lisa nas diversas regiões observadas, característica que lhes confere proteção contra ataques de fitopatógenos, e principalmente, perda excessiva de água. Este resultado é confirmado nos trabalhos de Allem (1984), que realizou um estudo com o gênero a partir de informações do espessamento da cutícula e identificou cinco tipos-padrão de deposição de cera epicuticular em *Manihot*. Wilkinson (1979) justifica que o espessamento da cutícula apresenta uma resposta variável em relação ao ambiente, no qual as plantas de regiões áridas geralmente apresentam folhas fortemente cutinizadas. Embora a presença e variação no espessamento da cutícula possam ser utilizadas para caracterizar as espécies, Solereder (1908) afirma que apenas em casos extremos esta característica pode ser utilizada para fins taxonômicos.

A espécie analisada apresentou um anel de células esclerenquimáticas no pecíolo. Essa característica é esperada para algumas espécies que habitam ambientes mais secos, pois reduz os danos causados pelo processo de murcha das folhas ocasionada pela falta de água. Para Allem (1984) & Vannucci (1982) essa característica foi observada em espécies do cerrado, ressaltando que o anel de esclerênquima circundando os feixes vasculares, como ocorre em espécies de *Manihot*, é uma característica comum de grupos vegetais que se desenvolvem em solos tropicais.

As folhas da *M. caerulescens* são anfiestomáticas, com os estômatos dispostos em quantidade reduzida próximos à nervura da face adaxial, confirmando os relatos de Vannucci, (1984) para essa mesma espécie. Estas observações para folhas anfiestomáticas no gênero *Manihot* também foram relatadas para outras espécies (Allem, 1984; Cunha Neto et al 2014) e para cultivares de *M. esculenta* (Vannucci, 1982; Cerqueira, 1992).

Os idioblastos parecem ser características comuns em Euphorbiaceae e registrados para vários órgãos da planta (Metcalf & Chalk, 1950, 1983). A presença de idioblastos foi constatada distribuindo-se em todas as estruturas da *M. caerulescens*. Essas células são frequentes na região subepidérmica, formando uma camada de células secretoras no pecíolo. De acordo com Allem

(1984), além da presença de idioblastos, a presença de laticíferos também é frequente nessa região.

A presença de cristais na epiderme foi verificada em *M. caerulenscens*. É importante salientar que esta estrutura não é comum para o gênero em estudo. No entanto, este resultado corrobora com os achados de Metcalfe & Chalk, (1950), para vários membros de Euphorbiaceae, incluindo o gênero *Manihot*. Esses cristais possuem função de defesa contra ataques de animais, sendo úteis como suportes estruturais, manutenção do equilíbrio iônico e armazenamento de cálcio e oxalato em idioblastos (Larrosa & Duarte, 2005).

Os cristais de oxalato de cálcio encontrados nos tecidos parenquimáticos do pecíolo e da lâmina foliar podem estar na forma de drusas e ocorrer em quase todas as regiões da folha, até mesmo nas células epidérmicas. A frequência e distribuição dos cristais são bastante variáveis, dessa forma, não pode ser considerada uma característica diagnóstica importante devido à variação em diferentes ambientes (Metcalfe, 1983).

A estrutura da nervura é muito semelhante com descrições realizadas para outras espécies do gênero (Vannucci, 1982; Allem, 1984; Cunha Neto et al. 2014). Exceto pela presença de esclerênquima na nervura encontrado por Vannucci, (1982); Cunha Neto et al. (2014).

Provavelmente o laticífero provém à planta de uma proteção contra ataques de herbívoros e microrganismos (Fahn, 1979). Por estas razões a presença de látex pode conferir uma vantagem em relação a outras espécies competidoras que carecem de laticíferos.

A natureza lipídica da secreção de látex pode ser considerada tóxica, inibindo a proliferação de micro-organismos. Os lipídios também têm a capacidade de coagular, selar feridas e fornece uma defesa física, pois, as mandíbulas de insetos podem ficar presas à própria planta (Dussourd, 1990).

O teste histoquímico revelou a presença de lipídeos neutros, terpenóides, compostos fenólicos, proteínas e polissacáridos e borracha em *M. caerulescens*. Estes componentes são considerados comuns a látex em espécies de Euphorbiaceae (Fahn, 1979; Biesboer & Mahlberg, 1981; Bruni et al. 1982; Mahlberg et al. 1987; Rizk, 1987; Castro & Demarco, 2008; Hagel et al. 2008).

Os terpenóides e compostos fenólicos no látex de algumas espécies de Euphorbiaceae podem ser tóxicos e, portanto, um impedimento para os herbívoros, podendo também inibir a proliferação de micro-organismos (Damarco, 2013). De acordo com Harborne (1988), compostos fenólicos ajudam na prevenção de infecções em plantas provocadas por fungos e bactérias.

A espécie *M. caerulescens* geralmente apresenta grande quantidade de células com alto conteúdo tanóide distribuídas pelos tecidos do pecíolo (Vinnucci, 1982). Segundo Metcalfe & Chalk, (1950) a presença de células taníferas, isoladas ou em grupos, são largamente distribuídas na família Euphorbiaceae. Analisando as afirmações de Farn (1979), de que os taninos estariam ligados a proteção da planta contra a desidratação, putrefação e destruição por animais, podemos considerar que *M. caerulescens* encontra-se bem adaptada ao tipo de vegetação de caatinga.

CONCLUSÃO

A *Manihot caerulescens* apresenta características que são comuns ao gênero como: estruturas secretoras, tipo de mesofilo, presença de cristais na epiderme, organização dos feixes vasculares no pecíolo, anel de células esclerenquimáticas no pecíolo e laticíferos articulados.

A caracterização histoquímica do secretado mostrou que os laticíferos e idioblastos de *Manihot caerulescens* produzem uma secreção complexa, constituída por proteínas, lipídios (óleos essenciais), polissacarídeos, borracha e compostos fenólicos.

REFERÊNCIAS

Agrawal, A.A.; Konno, K. 2009. Latex: a model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40: 311-331.

Allem, A.C. 1984. *A Revision of Manihot section Quinquelobae (Euphorbiaceae)*. PhD. Tesis. Department of Botany. University of reading. Vols. 1-2. 399p.

Allem, A.C. 2002. The origins and taxonomy of cassava. In *Cassava: Biology, Production and Utilization*, eds Hillocks, R.J., Thresh, J.M. and Bellotti, A.C., CAB International, pp. 1-16.

Allem, A. C.; Irgang, B. E. 1975. Flora Ilustrada do Rio Grande do Sul: Euphorbiaceae. *Boletim do Instituto Centarl de Biociências, Série Botânica*, v.34, n 4, p. 1-97.

Biesboer, D.D.; Mahlberg, P.G. 1981. Laticifer starch grain morphology and laticifer evolution in Euphorbia (Euphorbiaceae). *Genetics and Molecular. Nord. J. Bot.* 1: 447–457. Doi: 10.1111/j.1756-1051.1981.tb00710.x.botanical aspects, geographic distribution and economic value.

Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1991. *Electron microscopy*. Jones and Bartlett Publishers. Boston. 542p.

Bruni, A.; Fasulo, M.P.; Vannini, G.L. 1982. Histochemical and ultrastructural analysis of latex vessels in the dormant embryo of Euphorbia marginata. *Bot. Helv.* 92: 1–11.

Castro, M.de M.; Demarco, D. 2008. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. *Nat. Prod. Commun.* 3: 1273–1284.

Cerqueira, Y. M. 1992. Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot* esculenta Crantz. I- densidade estomática. *Sitientibus* 10: 103-115.

Cunha Neto, I.L; Martins, F. M; Caiafa, A. N; Martins, M. L. L. 2014. Leaf anatomy as subsidy to the taxonomy of wild *Manihot* species in Quinquelobae section (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Botany*. V.37, n. 4, p 481-494.

Demarco D.; Kinoshita L, S.; Castro M de M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 29, 133-144.

Demarco D.; Castro M de M.; Ascensão, I.L. 2006. Two laticifer systems in *Sapium haemospermum* — new records for Euphorbiaceae. *Botany* 91: 545–554.[dx.doi.org/10.1139/cjb-2012-0277](https://doi.org/10.1139/cjb-2012-0277)

Dussourd, D. E. 1990. The vein drain; or, how insects outsmart plants. *Nat Hist* 90:44-49.

Evert, R.F. 2006. *Esau's plant anatomy*, 3ed. Wiley-Interscience: New York.

Esau, K. 1965. *Plant anatomy*. 2 edition. New York: John Wiley & Sons.

Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press Inc., London.

Farrell, B.D.; Dussourd, D.E.; Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? *American Naturalist* 138(4): 881-900.

Gerlach, D. 1969. *Botanische Mikrotechnik: eine Einführung*. Stuttgart: Georg Thieme.

Hagel, J.M.; Yeung, E.C.; Facchini, P.J. 2008. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends Plant Sci.* 13: 631–639. Doi:10.1016/j.tplants.2008.09.005.

Harborne, J.B. 1988. *The Flavonoids: advances in research since*, Ed. Chapman and Hall, Ed. 6, New York.

Johansen, D.A. 1994. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.

Larrosa, C.R.R.; Duarte M.R. 2005. Contribuição ao estudo anatômico do caule de *Himatanthus sukuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae. *Ver Bras Farmacogn* 15: 110-114.

Lorenzi, H.; Souza, V. C. 2005. *Botânica Sistemática*. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum.

Mahlberg, P.G.; Davis, D.G.; Galitz, D.S.; Manners, G.D. 1987. Laticifers and the classification of *Euphorbia*: the chemotaxonomy of *Euphorbia esula* L. *Botanical Journal of the Linnean Society* 94:165-180.

Mahlberg, P.G. 1993. Laticifers: an historical perspective. *Botanical Review* 59(1): 1-23.

Matile, P. 1987. The sap of the plant cells. *New Phytologist* 105: 1-26.

Mauseth, J.D. 1978. Further studies of the unusual type of laticiferous canals in *Mammillaria* (Cactaceae): structure and development of the semi-milky type. *American Journal of Botany* 65(10): 1098-1102.

Mendonça, M. S. 1983. Estudo de plantas laticíferas. I. Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Maniot caerulencens* Pohl. *Acta Amazônica*, Manaus, v.13, p. 17-501.

Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford.

Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1983. *Anatomy of the dicotyledons. Wood structure and conclusion of the general introduction*. Oxford, Clarendon Press.

Nassar, N.M.A. 2000. Wild cassava, *Manihot* spp.: Biology and potentialities for genetic improvement. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 1, 201-212.

Nassar, N.M.A.; Hashimoto, D.Y.C.; Fernandes, S.D.C. 2008. Wild *Manihot* species.

Rizk, A.F.M. 1987. The chemical constituents and economic plants of the Euphorbiaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 94: 293–326. Doi:10.1111/j.1095-8339.1987.tb01052.x

Rogers, D.J.; Appan, S.G. 1973. *Manihot* and *Manihotoides* (Euphorbiaceae): A Computer Assisted Study. *Flora Neotropica* (Monograph No. 13). Hafner Press, New York.

Rudall, P. 1987. Laticifers in Euphorbiaceae – a conspectus. *Bot. J. Linn. Soc.* 94: 143-163.

Rudall P.J. 1994. Anatomy and systematics of Iridaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 114: 1–21.

Solereder, H. 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons: a handbook for laboratories of pure and applied Botany*. Vol. 2. Oxford: Clarendon Press.

Thakur, H. A.; Patil, D. A. 2012. The family Euphorbiaceae: Anatomical conspectus. *World J. Sci. Techn.* 2(6): 51-57.

Vannucci, A. L. 1982. Anatomia Comparada de Duas Espécies Nativas de *Manihot* Mill. (Euphorbiaceae). MSc thesis (unpublished), Universidade Estadual de Campinas, Brazil.

Wilkinson, H. P. 1979. The plant surface (mainly leaf) In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. Anatomy of the Dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject. Vol I. Oxford: Clarendon Press.

CAPÍTULO III

PLASTICIDADE FOLIAR DE *Manihot carthagenensis* Müll.Arg (EUPHORBIACEAE)

PLASTICIDADE FOLIAR DE *Manihot carthagenensis* Müll.Arg (EUPHORBIACEAE)

Autor: Lucimara Reis de Oliveira Silva

Orientador: Dr. Fabiano Machado Martins

Coorientador: Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins

RESUMO- Anatomia ecológica é uma importante ferramenta para o estudo da plasticidade morfológica das plantas quando as mesmas estão submetidas a diferentes pressões ambientais. O gênero *Manihot* Mill. é nativo da região Neotropical e suas espécies são comuns em ambientes de cerrado, caatinga e florestas ombrófilas. O objetivo desse trabalho foi comparar aspectos anatômicos das folhas de *Manihot carthagenensis* Müll.Arg que ocorrem na Caatinga e Mata Atlântica. Folhas totalmente expandidas foram coletadas na Caatinga no Parque Nacional (Chapada Diamantina, BA) e na Mata Atlântica (Maragogipe, BA). Amostras foram fixadas em FAA50, desidratadas em série butílica, incluídas em parafina, seccionadas em micrótomo, coradas com safranina e azul de astra e as lâminas montadas com resina sintética. Amostras das folhas foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura para visualização da epiderme. Os resultados mostraram que *Manihot carthagenensis* Müll.Arg de Caatinga e Mata Atlântica são parecidas histologicamente, ambas apresentam mesofilo dorsiventral, estômatos do tipo paracítico e pecíolo cilíndrico. Características estruturais evidenciaram a interação dos diversos fatores ambientais em cada ecossistema como o contorno da nervura central, o número de feixes vasculares e o espessamento da cutícula.

Palavras-chave: Anatomia ecológica; Euphorbiaceae; Folha; Nervura central

**LEAF PLASTICITY OF *Manihot carthaginensis* Müll.Arg
(EUPHORBIACEAE)**

Author: Lucimara Reis de Oliveira Silva
Advisor: Dr. Fabiano Machado Martins
Coadvisor: Dr. Márcio Lacerda Lopes Martins

Summary- Ecological anatomy is an important tool for studying morphological plasticity of plants when these are exposed to different environmental pressures. The genus *Manihot* Mill. is native to Neotropical region and their species are common in cerrado, savanna and ombrophilous forests. The purpose of this research was compare anatomical aspects of *Manihot carthaginensis* Müll.Arg leaves that occur in Caatinga and Atlantic Forest. Leaves entirely expanded were collected in Caatinga (Chapada Diamantina National Park, BA) and Atlantic Forest (Maragogipe, BA). Samples were fixed in FAA50, dehydrated in butyl series, embedded in paraffin, sectioned in microtome, stained with safranin and astra blue and slides were mounted with synthetic resin. Leaf samples were submitted to scanning electron microscopy to epidermis visualization. Results showed that *Manihot carthaginensis* Müll.Arg from Caatinga and Atlantic Forest are similar histologically both present dorsiventral mesophyll stomata of paracitic type, cylindrical petiole. However structural characteristics showed interactions between several environmental factors in each ecosystem as the contour of midrib the vascular bundle number and cuticle thickness.

Keywords: Ecological Anatomy; Euphorbiaceae; Leaf; Midrib.

INTRODUÇÃO

O gênero *Manihot* Mill. pertence a família Euphorbiaceae constituindo um gênero nativo da região Neotropical apresentando 98 espécies distribuídas em 19 seções, 13 delas com ocorrência no Brasil. Essas espécies são encontradas em quase todos os estados e nas mais diversas formações vegetacionais (Rogers & Appan, 1973). A maior parte das espécies do gênero *Manihot* são encontradas em regiões relativamente secas, porém existe algumas espécies que podem ser encontradas na floresta tropical (Nassar, 1978).

Estudos sobre os aspectos anatômicos das espécies do gênero *Manihot* Mill. são escassos na literatura e em sua maior parte estão relacionados à espécie cultivada Graciano-Ribeiro et al., (2008, 2009); Nassar et al., (2010); Bonfim et al. (2011). Das 100 espécies reconhecidas, apenas 23 tiveram a anatomia foliar estudada. Em relação às espécies silvestres estudadas destacam-se os estudos de Vannucci (1982), no qual o autor fez uma comparação de características anatômicas foliares para distinção entre as espécies *M. caerulescens* Pohl e *M. pilosa* Pohl. Mendonça (1983, 1992), realizou estudos foliares com *M. caerulescens* e *M. glaziovii*, Cunha-Neto et al. (2014) sobre o complexo *M. violacea* Pohl e Silva et al. (2016) descreveu a anatomia foliar de *Manihot allemi* M. J. Silva sp. nov. Estes estudos concluíram que a anatomia foliar pode ser considerada uma ferramenta relevante para identificar e diferenciar espécies.

Os caracteres anatômicos dos órgãos vegetativos das plantas podem ser utilizados como dados adicionais às características morfológicas externas, podendo ajudar a solucionar problemas taxonômicos. Um dos principais problemas em usar informações anatômicas é decidir quais características são taxonomicamente significantes e quais são adaptativas. Apesar disso, muitos trabalhos têm recorrido a estas características para apoiar a identificação de espécies (Metcalf, 1983).

As folhas se constituem no órgão que apresenta maior grau de variação anatômica. Apesar da influência dos fatores ambientais, muitos caracteres anatômicos são utilizados em estudos taxonômicos (Metcalf & Chalk, 1979;

Dickison, 2000). As estruturas anatômicas e morfológicas das plantas têm relação com as influências do ambiente. Os fatores ambientais, especialmente os climáticos, exercem grande influência sobre a estrutura anatômica e morfológica das plantas. As folhas ainda apresentam plasticidade, revelando variações destas características em relação a diferentes intensidades luminosas (Justo et al. 2005; Rossatto & Kolb, 2010), nutrientes disponível no solo (Feller 1996) e disponibilidade de água (Rôças et al. 1997; Wang et al. 2007).

Os estudos anatômicos foliares tem-se revelado promissor no âmbito ecológico. O uso de caracteres anatômicos que permite distinguir indivíduos até mesmo em nível de espécie tem sido uma prática aplicada nos estudos taxonômicos Anderson & Creech (1975); Prychid & Rudall (1999); Alves et al. (2002); Bieras & Sajo (2004); Kocsis et al. (2004) e Gomes et al. (2009), sendo importante fonte de características para análises filogenéticas.

Diante do exposto este trabalho teve por objetivo comparar a anatomia foliar de *Manihot carthagenensis* Müll.Arg presente em ambientes de Caatinga e Mata Atlântica, visando gerar informações úteis para compreender melhor o valor adaptativo das respostas anatômicas às condições naturais de ocorrência dessa espécie e avaliar os caracteres anatômicos para taxonomia da espécie considerando os dois ambientes.

MATERIAL E MÉTODOS

Microscopia de Luz

As amostras foram coletadas em dois em ambientes. Os indivíduos de Caatinga foram coletados no município Itatim, Bahia e os indivíduos de Mata Atlântica no município de Maragogipe, Bahia. Material testemunho de todas as espécies foi depositado no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (HURB).

Folhas e pecíolo de plantas adultas foram fixados em FAA50 (formalina, ácido acético, álcool etílico 50%, 1:1:18 v/v) (Johansen, 1940), submetidas a vácuo por 24h e posteriormente transferidos para álcool etílico 70%. As

amostras foram isoladas e transferidas para álcool butílico terciário 70, onde permaneceram por aproximadamente sete dias, desidratadas em série butílica e incluídas em parafina histológica (Histosec/Merck; Johansen, 1940). Os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo (Modelo RM2245, Leica Microsystems), produzindo em série secções transversais e longitudinais de 12-15 µm de espessura. Os cortes foram corados com safranina alcoólica 1,5% e azul de astra aquoso 1% (Gerlarch, 1969) e as lâminas permanentes montadas em resina sintética (Permount/Fisher).

As fotomicrografias digitais foram realizadas em microscópio Olympus BX51 equipado com câmera digital Olympus E330. As escalas das figuras foram obtidas através da projeção de uma lâmina micrométrica fotografada/digitalizada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Microscopia eletrônica de varredura

As análises da superfície foliar foram realizadas no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Fragmentos de folhas de aproximadamente 5 mm² foram analisados ao microscópio eletrônica de varredura. As amostras foram desidratadas em série elítica até etanol 100%, secas ao ponto crítico (modelo LEICA EM CPD 030) utilizando dióxido de carbono líquido montadas em portas-espécimes e recobertas com uma camada de ouro pelo processo de pulverização catódica (DENTON VACCUM DESSK IV). A documentação fotográfica foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6390 LV), (Bozzola & Russel, 1991).

RESULTADOS

O espécime *M. carthaginensis* de Mata Atlântica apresenta hábito arbóreo (ca. 8 metros) (Fig. 1), folhas grandes (ca.10 cm) e pentalobadas (Fig. 4) com longos pecíolos (ca. 25 cm), enquanto os indivíduos da Caatinga apresentam hábito arbustivo decumbente (ca. 1,60 metros) (Fig. 2), folhas menores (ca.6 cm) e trilobadas (Fig. 3), com pecíolos mais curtos (8 cm).

As folhas de indivíduos de *Manihot carthagenensis* Müll.Arg dos ecossistemas de Caatinga e de Mata Atlântica apresentam algumas características anatômicas distintas (Tab.1).

O pecíolo em folhas de *M. carthagenensis* é semelhante histologicamente nos indivíduos dos diferentes ambientes. Em secção transversal o pecíolo de *M. carthagenensis* apresenta contorno cilíndrico (Figs. 5,7). A epiderme é unisseriada e apresenta células com formato variado, revestidas externamente por cutícula lisa e uniforme. Abaixo da epiderme ocorre uma camada de células parenquimáticas com diâmetro pouco maior que as demais células do córtex e mais internamente, quatro a cinco camadas de células colenquimáticas formam um anel contínuo ao longo do pecíolo (Figs. 9-10).

Idioblastos secretores com conteúdo denso foram encontrados em pequena quantidade apenas no espécime de Mata Atlântica.

Células esclerenquimáticas são observadas formando um anel com duas camadas nos indivíduos de Caatinga (Fig. 6) e três camadas em indivíduos de Mata Atlântica em toda a circunferência do pecíolo (Fig. 8).

O sistema vascular é formado por feixes vasculares distribuídos de forma organizada delimitando uma medula circular. Os elementos condutores do xilema foram em uma série radial separados por células do parênquima. Existem diferenças no número de feixes vasculares quando se comparam as espécies de Caatinga e Mata Atlântica. Em *M. carthagenensis* de Mata Atlântica apresenta nove grupos de feixes vasculares (Fig. 7). Enquanto *M. carthagenensis* de Caatinga mostrou-se com oito grupos de feixes vasculares (Fig. 5).

A medula é formada por células parenquimáticas arredondadas e de tamanho variado (Figs. 5,7).

Laticíferos foram observados distribuídos na região subepidérmica e associados aos feixes vasculares, podendo ser diferenciados pelas características do seu conteúdo (látex) (Fig. 11-12).

As lâminas foliares de indivíduos de *M. carthagenensis* nos ambientes de Caatinga e Mata Atlântica, apresentam características anatômicas bastante semelhantes. As variações observadas podem estar relacionadas às características ambientais.

Nas folhas de *M. carthagenensis* tanto de Caatinga como de Mata Atlântica apresentam epiderme uniestratificada em ambas as faces constituídas por células com formato retangulares (Fig. 15) ou levemente arredondadas (Fig. 16), tanto na face adaxial quanto na abaxial. Em vista frontal, (Figs. 17-18) as células epidérmicas são irregulares, com tamanhos semelhantes e paredes periclinais levemente onduladas.

Nas folhas de *M. carthagenensis*, os estômatos em ambos ambientes apresentam-se no mesmo nível das células epidérmicas (Fig. 13) e formam pequenas câmaras subestomáticas. Nas folhas de Mata Atlântica estão restritos à face abaxial, enquanto nas folhas de Caatinga, encontram-se em ambas as faces e são mais frequentes na face abaxial.

Os estômatos nas folhas de indivíduos de *M. carthagenensis* de Caatinga e da Mata Atlântica apresentam duas células subsidiárias paralelas às células-guarda, caracterizando estômatos do tipo paracítico (Figs. 17,18).

Em relação à espessura da lâmina foliar de *M. carthagenensis*, mostram variações entre os indivíduos da vegetação de Caatinga e os de Mata Atlântica. Apesar de não terem sido realizadas medidas da espessura das folhas existem uma evidente diferença entre os indivíduos de Caatinga e Mata Atlântica, sendo as folhas de Caatinga mais espessas (Fig. 11) em relação às de Mata Atlântica que se apresentam mais estreitas (Fig. 14). O mesmo ocorre com relação a algumas estruturas constituintes da lâmina foliar que foram avaliadas, como o parênquima paliçádico e por consequência o mesofilo. O parênquima lacunoso é mais desenvolvido em folhas de Caatinga (Fig. 13) do que em folhas de Mata Atlântica (Fig. 14).

M. carthagenensis dos dois ambientes apresenta mesofilo dorsiventral (Figs. 13-14). O parênquima paliçádico apresenta apenas uma camada de células, alongadas, com arranjo compacto, ocupando metade do mesofilo. O parênquima lacunoso é constituído de células pequenas e com formato variado e com muitos espaços intercelulares em *M. carthagenensis* de Caatinga. Já a *M. carthagenensis* de Mata Atlântica, as células do parênquima paliçádico possui uma a duas camadas, enquanto o parênquima lacunoso tem arranjo compacto e maior quantidade de células com poucos espaços intracelulares.

A nervura central em folhas de *M. carthagenensis* apresenta semelhanças nos indivíduos de Caatinga e Mata Atlântica (Figs. 19-20).

Em secção transversal, a nervura mediana de *M. carthagenensis* de Mata Atlântica apresenta contorno proeminente (Fig. 20) formada por uma pequena curvatura na face adaxial e uma grande curvatura na superfície abaxial enquanto a espécie de Caatinga possui contorno biconvexo (Fig. 19) e a epiderme é unisseriada e apresenta células arredondadas com paredes externas levemente onduladas. Ao longo da nervura, três a quatro camadas de colênquima ocorrem junto à epiderme em ambas as faces da lâmina foliar.

O córtex é formado por células parenquimáticas arredondadas e com formato variado.

O feixe vascular é colateral e forma um único arco de grande porte voltado para a face adaxial (Figs. 19-20). *Manihot carthagenensis* de Caatinga apresenta feixe vascular acompanhado por 2 ou 3 feixes acessórios (Fig. 21) formados por poucos elementos de vaso isolados ou agrupados enquanto que o espécime de Mata Atlântica não possui essa característica (Fig. 22).

Tabela 1: Principais características anatômicas distintivas entre a espécie de ambientes de Caatinga e Mata Atlântica da *Manihot carthagenensis* Müll.Arg

Caracteres	Espécie	
	Caatinga	Mata Atlântica
Anatomia do pecíolo		
Tricomas não-glandulares no pecíolo	0	0
Pecíolo com contorno cilíndrico	1	1
Pecíolo achatado dorsiventralmente	0	0
8 grupos de feixes vasculares no pecíolo	1	0
9 grupos de feixes vasculares no pecíolo	0	1
Anel de fibras	1	1
Idioblastos	0	1
Nervura Central		
Contorno biconvexo	1	0
Contorno proeminente	0	1
Idioblastos secretores	1	1
Tricomas não-glandulares	0	0
Cristais (Drusas)	1	1
Lâmina foliar		
Folhas hipoestomáticas	0	1
Folhas anfiestomáticas	1	0
Mesofilo dorsiventral	1	1
Mesofilo isobiltateral	0	0
Papilas na epiderme abaxial	0	0
Tricomas não glandulares	0	0
Cristais na epiderme	0	1
Idioblastos	1	1
Cutícula	1	1

Legendas

FIGURAS 1-4: *Manihot carthagenensis*. 1. Hábito de *Manihot carthagenensis* em ambiente de Mata Atlântica, 2. Folhas trilobadas (Caatinga), 3. Folhas pentalobadas (Mata Atlântica).

FIGURAS 5-8: *Manihot carthagenensis*. 4. *Manihot carthagenensis* de Caatinga Vista geral do pecíolo em secção transversal. 5. Detalhe do pecíolo evidenciando o feixe vascular e as células esclerenquimáticas. 6. *Manihot carthagenensis* de Mata Atlântica. Vista geral do pecíolo em secção transversal. 7. Detalhe do pecíolo evidenciando o feixe vascular e as células esclerenquimáticas. Esc- Esclerênquima, Fv- feixe vascular, M- medula. Barra: 1,4=150 μm ; 5,7= 30 μm .

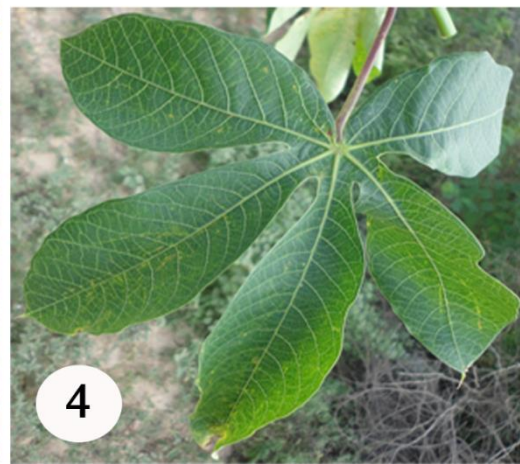
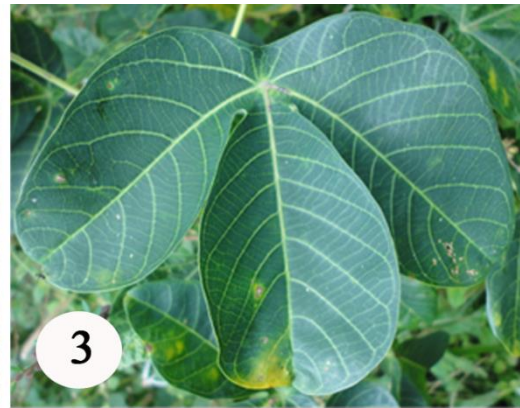
FIGURAS 9-12: Detalhes do pecíolo. 9: *Manihot carthagenensis* de Caatinga com epiderme unisseriada, aproximadamente retangulares e três camadas de células colenquimáticas. 10. *Manihot carthagenensis* de Mata Atlântica com epiderme unisseriada, células levemente arredondadas e quatro camadas de células colenquimáticas. 11-12. Laticíferos articulado anastomosado. Asterisco (*) – anastomose, Co- colênquima, Ep- epiderme. Barras:9-10=30 μm ; 11-12=15 μm .

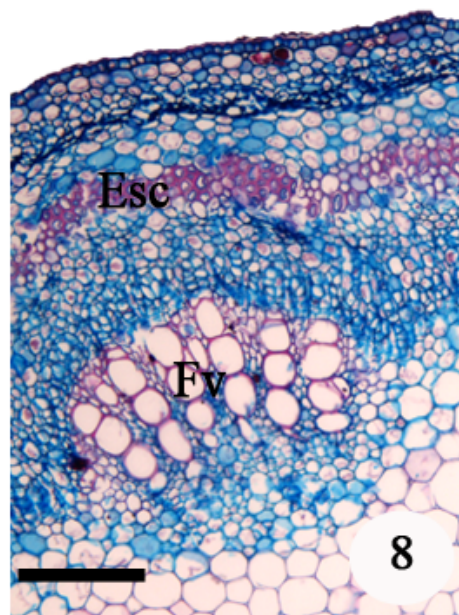
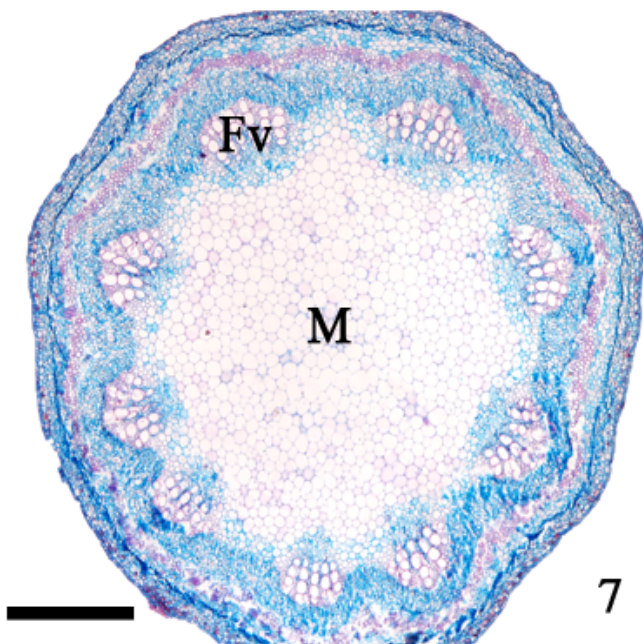
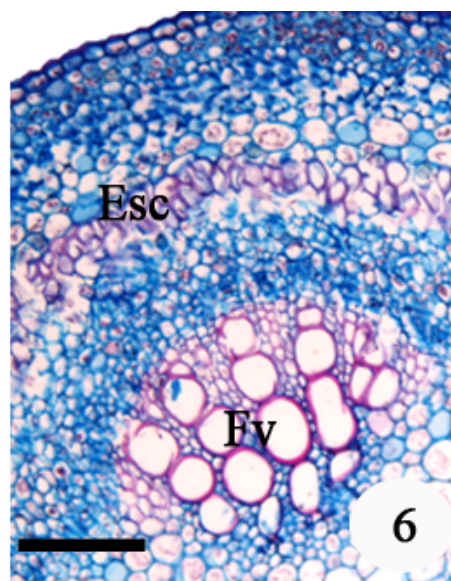
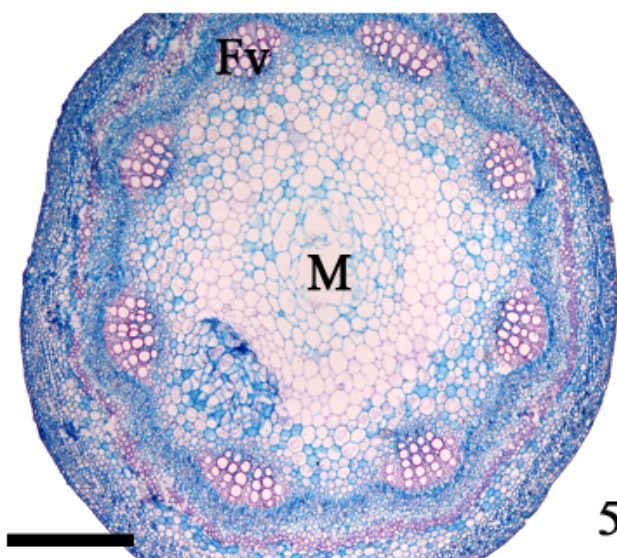
FIGURAS 13-14. Lâmina foliar. 13. Secção transversal da lâmina foliar de *Manihot carthagenensis* de Caatinga. 14. Secção transversal da lâmina foliar de *Manihot carthagenensis* de Mata Atlântica. Est= estômato, Pp- parênquima paliçádico, Pl- parênquima lacunoso. Barras: 13,14=15 μm .

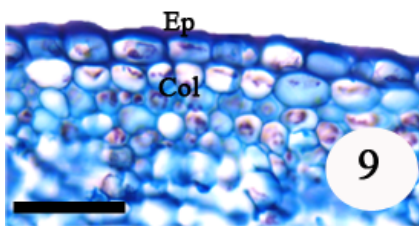
FIGURAS 15-18: Detalhe da epiderme de *Manihot carthagenensis*. 15. *Manihot carthagenensis* de caatinga apresentando uma cutícula espessa. 16. *Manihot carthagenensis* de Mata Atlântica apresentando uma cutícula fina. (17-18) Epiderme em Microscopia eletrônica de varredura. 17- *Manihot carthagenensis* de Caatinga. 18. *Manihot carthagenensis* de Mata Atlântica. Face abaxial em microscopia eletrônica de varredura evidenciando os

estômatos e células epidérmicas não-papilosas. Cc- cutícula, Est- estômatos. Barra: 15-16=6 μm .

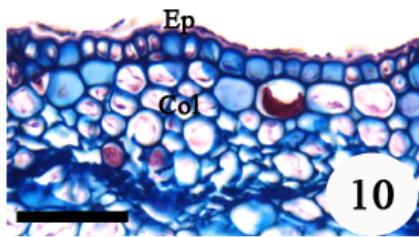
FIGURAS 19-22. Secção transversal da nervura de *Manihot carthagenensis*. 19: Nervura biconvexa em *Manihot carthagenensis* de Caatinga. 21. Detalhe da figura anterior evidenciando feixe vascular e feixes acessórios. 20: Nervura proeminente em *Manihot carthagenensis* de Mata Atlântica. 22: Detalhe da figura anterior mostrando o feixe vascular colateral. Asterisco (*) – colênquima, Fv- feixe vascular, Seta – feixe acessório. Barras: 19,20=150 μm , 21-22=15 μm .



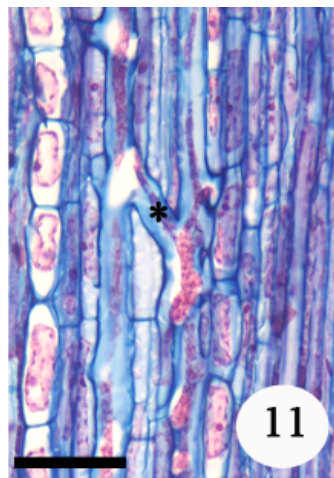




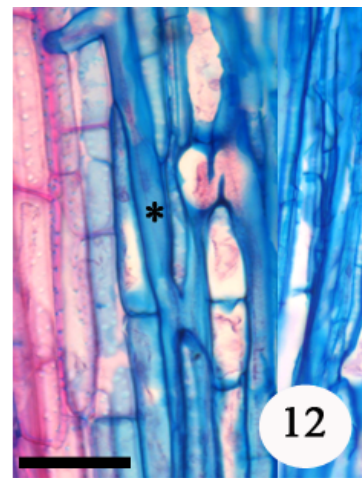
9



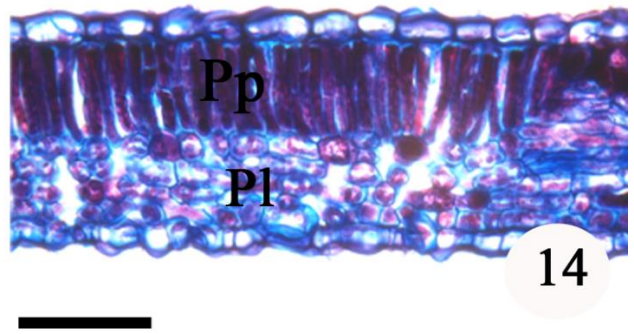
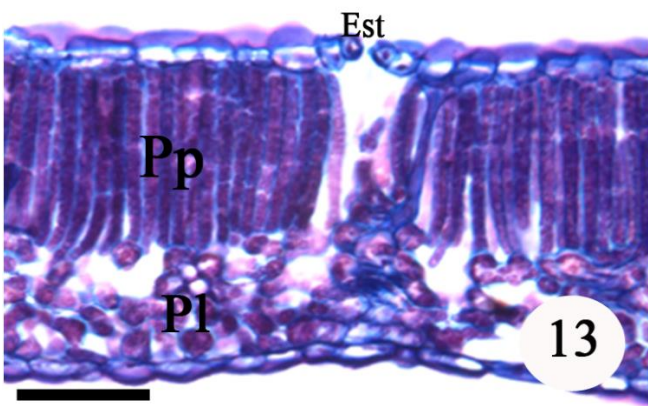
10

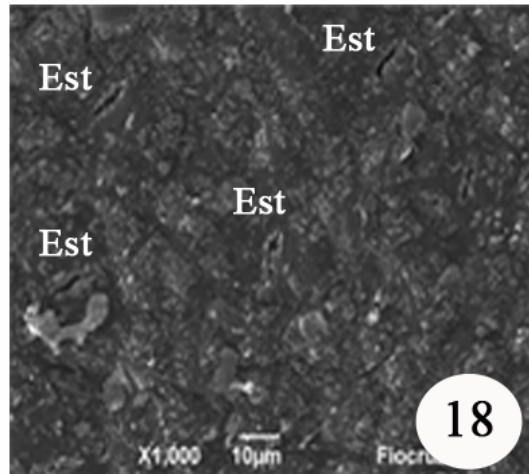
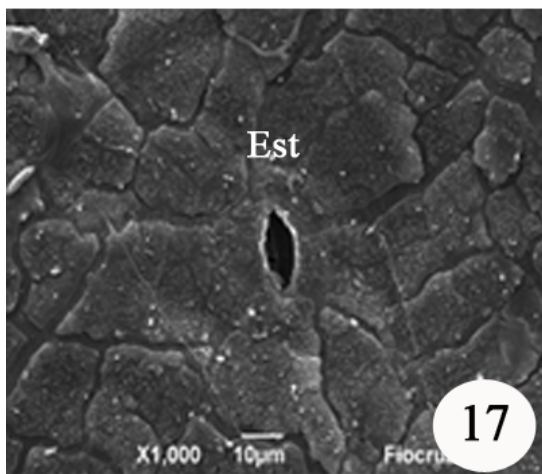
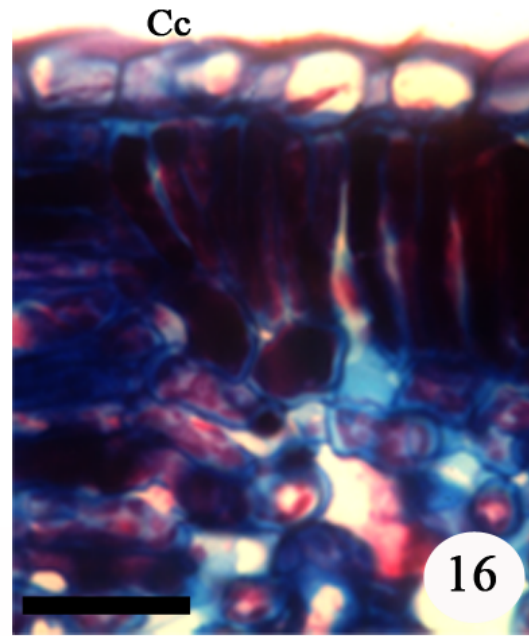
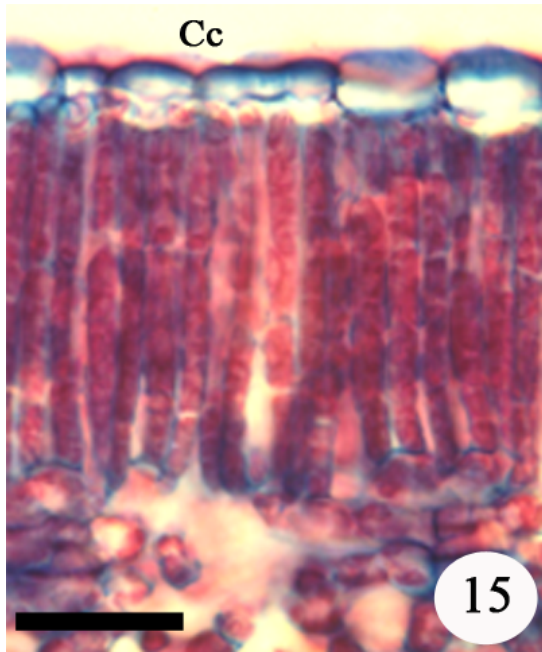


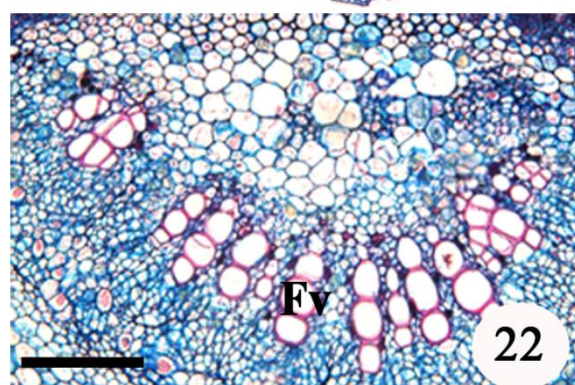
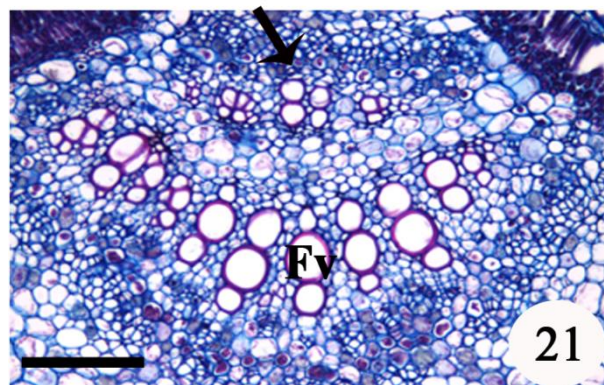
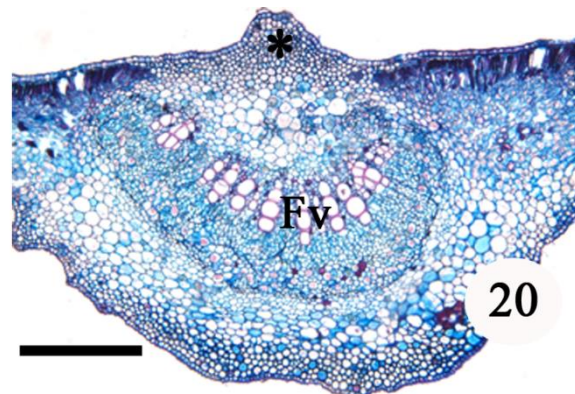
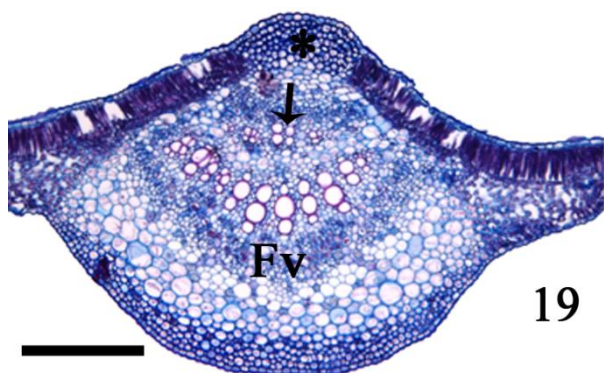
11



12







DISCUSSÃO

O número de feixes vasculares variou entre os ambientes, os indivíduos de Caatinga apresentaram oito grupos de feixes vasculares enquanto os indivíduos de Mata Atlântica nove grupos. Para Metcalfe (1983), essas características anatômicas estruturais exibem variações em correlação com a diversidade do habitat, enquanto Esau (1965) relata que o número e o arranjo de feixes vasculares em eudicotiledôneas podem sofrer variações em diversos níveis no pecíolo.

A organização estrutural da folha de *Manihot carthagenensis* mostra-se variável dependendo do ambiente. Nos indivíduos de Caatinga registra-se maior grau de xeromorfia. A maior espessura da lâmina foliar com maior desenvolvimento do parênquima paliçádico e presença de grandes espaços intercelulares no parênquima esponjoso são características anatômicas observadas que evidenciam variações adaptativas relacionadas com o habitat ocupado (Dickison, 2000; Fahn & Cutler, 1992). O aumento da espessura da lâmina, junto com os espaços intercelulares no mesofilo, são características frequentes em plantas que ocupam ambientes secos. Para os autores o aumento de espessura seria responsável por manter o equilíbrio osmótico na folha.

A espessura da cutícula é variável e tem influência direta com fatores ambientais. As plantas que ocupam ambientes com baixa disponibilidade de água e forte intensidade de luz normalmente apresentam uma cutícula mais espessa (Esau, 1974). A espessura da cutícula tem função importante na diminuição dos efeitos da radiação solar incidente na folha e está relacionada com a redução das taxas de transpiração (Larcher, 2000; Haberlandt, 1990).

O mesofilo em folhas de *Manihot carthagenensis* é do tipo dorsiventral, composto por tecidos clorofilados, organizados em parênquimas paliçádico e lacunoso. O parênquima paliçádico está voltado para a face adaxial e é formado apenas por uma camada de células colunares nas folhas de Caatinga e por um ou dois estratos de células nas folhas de Mata Atlântica. Portanto, observa-se que o parênquima paliçádico altera-se conforme o gradiente de luz, apresentando-se mais desenvolvido à medida que a luminosidade aumenta, ou

seja, está constituído por células mais longas e dispostas em maior número de estratos. O tipo de mesofilo está de acordo com as características já descritas para o gênero e para a família Euphorbiaceae (Metcalf & Chalk, 1950; Vannucci, 1982; Allem, 1984; Mendonça, 1992; Cunha-Neto et al. 2014; Silva, 2016).

Indivíduos de Caatinga apresentam maior compactação do parênquima paliçádico pois a intensidade luminosa é maior do que nos indivíduos de Mata Atlântica. As células em forma de coluna no parênquima paliçádico facilitam maior penetração de luz no parênquima esponjoso (Vogelmann et al. 1993).

O parênquima lacunoso em *Manihot carthagenensis* é formado por células com muitos espaços intercelulares nas folhas de Caatinga em relação às de Mata Atlântica, mostrando o que ocorre com aumento de luminosidade (Givnish, 1988). Maior exposição das folhas à luz leva ao aumento da espessura da lâmina e do mesofilo (Lambers et al. 1998; Dickison 2000).

A intensidade de luz provoca variação na espessura do tecido epidérmico (Taiz & Zeiger, 2004). Dickison (2000) afirma que em condições de alta luminosidade ocorre um aumento da epiderme na face adaxial da parede celular e da cutícula. Essa espessura pode exercer importante função na reflexão da luz solar para manutenção dos níveis ótimos de temperatura da folha e para efetivação dos processos fisiológicos. Portanto, em *Manihot carthagenensis*, o maior espessamento das células epidérmicas, em ambas as faces, nas folhas de Caatinga deve estar relacionado com a proteção contra o excesso de luminosidade, devido à propriedade de reflexão, principalmente na face adaxial exposta à luz incidente. Já nas folhas de Mata Atlântica, o espessamento é menor, pois a incidência de luminosidade é menor.

Nesse estudo nota-se que as células epidérmicas da face adaxial apresentam maior espessura em folhas de Caatinga do que nas folhas Mata Atlântica.

Estudos realizados por Taiz & Zeiger, (2004) relevam que quanto mais espessa for a lâmina foliar maior será o desenvolvimento do parênquima paliçádico, observa-se essa relação quando comparadas folhas de ambientes mais seco com ambientes mais úmidos da mesma espécie. Nesse estudo pode-se observar que as lâminas foliares de *Manihot carthagenensis* de Caatinga e Mata Atlântica apresentam diferentes desenvolvimentos do

parênquima paliçádico. As espessuras do parênquima lacunoso mostram-se menor em folhas de Caatinga e maior em folhas da Mata Atlântica.

A espessura da lâmina foliar possui uma relação direta com os índices de transferência de calor, dióxido de carbono e vapor d'água, entre a folha e o ambiente (Givnish, 1978). O tamanho da folha afeta indiretamente as trocas gasosas, através do seu efeito sobre a espessura da camada limite. Willmer (1986) comenta que folhas grandes tendem a impedir a perda de calor mais do que fazem as folhas pequenas, pois as primeiras são portadoras de camadas limites maiores que conseqüentemente irão se aquecer mais.

Os estômatos são do tipo paracítico comum para o gênero *Manihot* Mill. (Allem, 1984; Vannucci, 1984; Cunha-Neto et al. 2014), e estão restritos a superfície abaxial das folhas nos indivíduos de Mata Atlântica, enquanto que os indivíduos de Caatinga apresentam em ambas as faces. A ocorrência destes estômatos nos indivíduos de Caatinga diverge de relatos encontrados na literatura para plantas xeromórficas. De acordo com Dickison (2000), as folhas hipoestomáticas têm sido consideradas como estratégia de plantas de ambiente muito seco, a fim de reduzir a perda de água. A redução na área dos estômatos e a recessão abaixo da superfície da lâmina (ou confinados em poços na superfície inferior da lâmina), provavelmente possam contribuir para uma diminuição na taxa de perda de água absorvida.

Metcalfé & Chalk (1950) mencionam que os estômatos na família Euphorbiaceae estão restritos à face abaxial ou, raramente, nas duas faces. Mas estudos com o gênero *Manihot* Mill. mostram a ocorrência de estômatos em ambas as faces classificando as folhas como anfiestomáticas (Allem, 1984; Vannucci, 1982; Cerqueira, 1992; Cunha-Neto et al. 2014). Segundo Dickison (2000) a ocorrência dos estômatos na superfície abaxial das folhas é um fator relevante para a redução das taxas de transpiração.

Plantas que crescem sob condições de pouca disponibilidade de água apresentam um número maior de estômatos, que vai permitir as trocas gasosas ocorram de forma mais rápidas quando a umidade é alta e o risco de desidratação é baixo (Lleras, 1977; Cutter, 1987; Mauseth, 1988). Os indivíduos de Caatinga possuem maior quantidade de estômatos e menor tamanho das células-guarda, talvez isso possa ser uma maneira de adaptação

que permitiria maior economia de água, melhorando o processo fotossintetizante.

CONCLUSÃO

Anatomicamente, os indivíduos analisados para os dois ambientes apresentaram diferenças que indicam a importância da anatomia como subsídio à taxonomia. Entretanto, dada à observação de um grande número de características comuns aos indivíduos, entende-se a necessidade de mais estudos associando caracteres anatômicos com dados moleculares de forma fundamental para a delimitação desta espécie.

REFERÊNCIAS

- Allem, A.C. 1984. A Revision of *Manihot* section *Quinquelobae* (Euphorbiaceae). PhD. Tesis. Department of Botany. University of reading. Vols. 1-2. 399p.
- Alves, M.V.; Estelita, M.E.M.; Wanderley, M.G.L.; Thomas, W.W. 2002. Aplicações taxonômicas da anatomia foliar das espécies brasileiras de *Hypolythrum* Rich. (Cyperaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 25(1): 1-9.
- Anderson, L.C.; Creech, J.B. 1975. Comparative leaf anatomy of *Solidago* and related Asteraceae. *American Journal of Botany* 62(5): 486-493.
- Bieras, A.C.; Sajo, M.G. 2004. Anatomia foliar de *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) do Cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 18(3): 601-612.
- Bomfim, N. N., Graciano-Ribeiro D.; Nassar N. M. 2011. Genetic diversity of root anatomy in wild and cultivated *Manihot* species. *Genet. Mol. Res.* 10(2): 544-51.

Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1991. Electron microscopy. Jones and Bartlett Publishers. Boston. 542p.

Cerqueira, Y. M. 1992. Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz. I- densidade estomática. *Sitientibus* 10: 103-115.

Cunha Neto, I.L; Martins, F. M; Caiafa, A. N; Martins, M. L. L. 2014. Leaf anatomy as subsidy to the taxonomy of wild *Manihot* species in *Quinquelobae* section (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Botany*. V.37, n. 4, p 481-494.

Cutter, E. G. 1987. Anatomia vegetal: experimentos e interpretação. São Paulo: Roca, 336 p.

Dickison, W.C. 2000. Integrative Pant Anatomy. USA, Academic Press. 533p.

Esau, K. 1965. *Plant anatomy*. 2nd edition. New York: John Wiley & Sons.

Esau, K. 1974. Anatomia das Plantas com Sementes. São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda. 293p.

Fahn, A.; Cutler, D. 1992. Xerophytes. Gebrüder Borntraeger, Berlin.

Feller, I. C. 1996. Effects of nutrient enrichment on leaf anatomy of dwarf *Rhizophora mangle* L. (red mangrove). *Biotropica* 28: 13-22.

Gomes, S.M.; Somavilla, N.S.D.; Gomes-Bezerra, K.M.; Miranda, S.C.; De-Carvalho, P.S.; Graciano-Ribeiro, D. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições a taxonomia e filogenia. *Acta Botânica Brasílica* 23(1): 223-238.

Graciano-Ribeiro, D.; Hashimoto, D. Y.; Nogueira, L. C.; Teodoro, D. 2009. Internal phloem in an interspecific hybrid of cassava, an indicator of breeding value for drought resistance. *Genetic and Molecular Research*. 8: 1139-1146.

Graciano-Ribeiro, D.; Nassar, N. M. A.; Hashimoto, D. Y. C.; Miranda, S. F. 2008. Anatomy of polyploid cassava and its interspecific hybrids. *Gene Conserve* 7: 620-635.

Givnish, T.J. 1978. On the adaptive significance of compound leaves, with particular reference to tropical trees. In *Tropical trees as living systems* (P.B. Tomlinson & M.H. Zimmermann, eds.). Cambridge University Press, Cambridge, p.351-380.

Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: a wholeplant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 15: 63-92.

Haberlandt, G. 1990. *Physiologica1 plant anatomy*. 2a re-impressão. New Delhi, Today & Tomorrow's printers & publishers. 777p.

Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill.

Justo, C.F.; Soares, A.M.; Gavilanes, M.L. & Castro, E.M. 2005. Plasticidade anatomica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). *Acta Botanica Brasilica* 19(1): 111-123.

Kocsis, M.; Darok, J.; Borhidi, A. 2004. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. *Plant Systematic and Evolution* 248: 205-218.

Lambers, H.; Chapin III, F.S.; Pons, T.L. 1998. *Plant Physiological Ecology*.

Larcher, W. 2000. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos, Rima. 531p.

Lleras, E. 1977. Defenses in stomatal number per unit area within same species under different environmental conditions: A working hypothesis. *Acta Amazonica*. 4(7): 473-476. Springer-Verlag New York. 540p.

Mauseth, J.D. 1988. *Plant Anatomy*. California, The Benjamin/Cummings Publishing Company. 560p.

Mendonça, M. S. 1992. Estudo de plantas laticíferas. II. Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot glaziovii* Müller Arg. – *Acta Amaz.* 22: 309–321.

Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon Press.

Metcalf C. R.; Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons*. Vol. I. *Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject*. Oxford: Clarendon Press.

Metcalf, C. R. 1983. Ecological anatomy and morphology general survey. In: Metcalf, C. R. & Chalk, L. *Anatomy of the Dicotyledons*, 2nd edition. Oxford: Clarendon Press.

Nassar, N. M. A.; Abreu, L. F. A.; Teodoro, D. & Graciano-Ribeiro, D. 2010. Drought tolerant stem anatomy characteristics in *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) and a wild relative. *Genet. Mol. Res.* 9: 1023-1031.

Nassar, N.M.A. 1978a. Conservation of the Genetic Resources of Cassava (*Manihot esculenta*): Determination of Wild Species Localities with Emphasis on Probable Origin. *Economic Botany*, 32(3): 311-320.

Prychid, C.J.; Rudall, P.J. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematic. *Annals of Botany* 84: 725-739.

Rôcas, G.; Barros, C.F.; Scarano, F.R. 1997. Leaf anatomy of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. *Trees* 11: 469-473.

Rogers, D.J.; Appan, S. G. 1973. *Manihot* and *Manihotoides* (Euphorbiaceae): A Computer Assisted Study. *Flora Neotropica*. DSc Monograph nº 13. Hafner Press, New York, NY, USA.

Rossatto, D.R.; Kolb, R.M. 2010. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. *Acta Botanica Brasilica* 24(3): 605-612.

Silva, M.J.; Inocencio, L.S.; Alonso, A.A.; 2016. *Manihot allemii* sp. nov. (Euphorbiaceae s.s.) with entire and unlobed leaves from northern Brazil, with notes about foliar anatomy. *Nordic Journal of Botany* 34(2), 134–140.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2004. *Fisiologia vegetal*. 4ª edição. Porto Alegre. Editora Artmed. 790 p.

Vannucci, A. L. 1982. Anatomia comparada de duas espécies nativas de *Manihot* Mill. (Euphorbiaceae). – MSc thesis, Univ. Estadual de Campinas.

Vogelmann T.C.; Martin G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell and Environment*, 16: 65-72.

Wang, W.; Xiao, Y.; Chen, L. & Lin, P. 2007. Leaf anatomical responses to periodical waterlogging in simulated semidiurnal tides in mangrove *Bruguiera gymnorhiza* seedlings. *Aquatic Botany* 86: 223-228.

Willmer, P. 1986. Microclimatic effects on insects at the plant surface. In: B.E. Juniper; R. Southwood. *Insects and plant surface*. London, Edward Arnold. p. 65-80.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Caracteres da anatomia foliar são potencialmente promissores para a distinção entre as espécies e auxiliar taxonomia do gênero, tais como: formato do pecíolo, número de feixes vasculares, presença de papilas, ocorrência de tricomas, tipo de mesofilo, distribuição dos estômatos entre as faces da folha, formato da nervura mediana e esclerênquima. Entretanto, dada à observação de um grande número de características comuns à maioria das espécies, entende-se que a associação de caracteres anatômicos com dados morfológicos e/ou moleculares é fundamental para a delimitação de espécies dentro do gênero *Manihot*.
- Os testes histoquímicos que se revelaram positivos em *M. caerulescens* forneceram informações importantes sobre a existência de classes de metabólitos nos laticíferos e idioblastos, demonstrando o potencial da espécie estudada como uma fonte de compostos a serem explorados.
- Os indivíduos *Manihot carthaginensis* de Caatinga e Mata Atlântica apresentaram diferenças anatômicas que indicam a importância da anatomia como subsídio à taxonomia. Por meio da análise da folha de *M. carthaginensis*, concluiu-se que os indivíduos estudados apresentaram diferenças anatômicas, o que demonstra a necessidade de estudos moleculares para afirmar se esses indivíduos de Caatinga e Mata Atlântica tratam-se da mesma espécie.