

Aspectos estruturais das folhas de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (Lauraceae) em dois ambientes distintos

Structural aspects of *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (Lauraceae) leaves in two distinctive environments

Maria da Graça Teixeira de Toledo¹, Yedo Alquin² & Tomoe Nakashima³

RESUMO – Este trabalho foi realizado com folhas de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (Lauraceae), conhecida popularmente como canela sassafrás. As amostras foram coletadas nas regiões de Colombo e Araucária no Estado do Paraná, nas quatro estações do ano. Fez-se uma análise da organização estrutural das folhas em microscopia de luz. A folha é hipoestomática, com estômatos do tipo paracítico e anomocítico. A epiderme das faces adaxial e abaxial é uniestratificada, revela, em secção transversal, a presença de uma cutícula bem desenvolvida. Idioblastos contendo óleos essenciais e compostos fenólicos se fazem presentes no mesofilo e nervura central. Não se constatou diferenças estruturais entre os dois locais e de acordo com a sazonalidade.

PALAVRAS-CHAVE – *Ocotea odorifera*; anatomia foliar; idioblastos contendo óleos essenciais e compostos fenólicos; Lauraceae.

SUMMARY - This work has been carried out with *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (Lauraceae) leaves, commonly known as Brazilian sassafras. The samples have been taken from Colombo and Araucária counties in the State of Paraná, Brazil, during the four seasons of the year. An analysis of the structural organization of the leaves through light microscopy has been performed. The leaf is hypostomatic, with paracytic and anomocytic stomatas. The epidermis of the adaxial and abaxial faces is single layered, and in cross section it reveals the presence of a well developed cuticle. Idioblasts containing essential oils and phenolic compounds are present in mesophyll and central veins. No structural differences have been found between the two locations regarding seasonality.

KEYWORDS – *Ocotea odorifera*; foliar anatomy; idioblasts containing essential oils and phenolic compounds; Lauraceae.

INTRODUÇÃO

Ocotea odorifera (Vellozo) Rohwer conhecida popularmente como sassafrás ou canela-sassafrás é uma espécie florestal de alto valor comercial pela qualidade de sua madeira e principalmente pela presença de safrol na composição química do óleo essencial. Esta espécie tem ampla dispersão no Paraná, ocorrendo na floresta Atlântica, nas florestas com Araucária e nas formações tropicais do norte do Estado (Inoue *et al.*, 1984).

A madeira da canela sassafrás possui excelentes propriedades técnicas e por isso é utilizada na marcenaria de luxo, dormentes, construção civil e também na construção naval. (Vattimo, 1979).

O óleo essencial de *Ocotea odorifera* é fonte de safrol, que se emprega na síntese da heliotropina ou piperonal (Raoul & Iachan, 1949 e Guenther, 1950).

A heliotropina ou piperonal é uma essência sintética valiosa utilizada na indústria de perfumes.

O safrol apresenta uma estrutura química privilegiada. A presença da unidade metilendioxiila propicia a este alil-benzeno uma reatividade química particular. Esta característica tem sido amplamente explorada na rota sintética de novos fármacos.

A importância florestal e econômica desta espécie motivou a elaboração do estudo botânico das folhas de *Ocotea odorifera* das regiões de Colombo e Araucária.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi executado a partir de amostras de *Ocotea odorifera* coletadas na primavera, verão, outono e inverno. Foram coletadas folhas de duas árvores no município de Colombo (amostras S2 e S6) e de duas árvores no município de Araucária (amostras S7 e S8).

Para os ensaios botânicos foram utilizadas as folhas a partir do 3º nó de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer.

Fez-se uma análise da organização estrutural das folhas em microscopia fotônica. As folhas foram fixadas em F.A.A. 70 % (Johansen, 1940) e armazenadas em álcool 70%.

Seguiu-se as técnicas convencionais para montagem das lâminas semipermanentes (Berlyn & Mikshe, 1976).

As secções foram realizadas à mão livre. A clarificação foi realizada com hipoclorito de sódio a 20% (Foster, 1949). As secções foram coradas com azul de toluidina 0,05% e montagem em glicerina a 40% (Berlyn & Mikshe, 1976). Para a lutzagem das lâminas utilizou-se esmalte de unha incolor.

Para a preparação das lâminas permanentes utilizou-se as técnicas de inclusão em glicol metacrilato (Feder & O'Brien, 1968 e Bennet *et al.*, 1976).

A microtomização foi realizada em micrótomo rotatório Olympus CUT 4055.

Recebido em 16/07/2003

^{1,3} Departamento de Farmácia, UFPR (e-mail:toledo@ufpr.br) & ² Departamento de Botânica, UFPR (e-mail: yedo@bio.ufpr.br)

Na técnica de inclusão em glicol metacrilato, obtiveram-se seções de 7 a 9mm. As seções foram distendidas em lâmina com água e secas em mesa térmica. Para coloração utilizou-se azul de toluidina e azul de astra 1% + fucsina básica 0,0125% em solução aquosa (Brito & Alquini, 1996).

Para os testes microquímicos, foram obtidas seções à mão livre da região mediana da folha e coradas pelos seguintes corantes e reagentes: cloreto férrico (Johansen, 1940) para comprovação de compostos fenólicos; floroglucinol acidificado (Foster, 1949) para lignina; lugol (Berlyn e Mikshe, 1976) indicado para amido e Sudan III (Sass, 1951) para substâncias graxas (paredes cutinizadas e suberizadas).

Os registros fotográficos foram realizados em fotomicroscópio Zeiss MC80. As escalas micrométricas foram fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas.

RESULTADOS

Anatomia foliar

A epiderme foliar de *Ocotea odorifera* é uniestratificada em ambas as faces (Fig. 1).

Em secção transversal, a epiderme revela células retangulares em ambas as faces, com paredes periclinais externas providas de uma cutícula espessa que se projeta para dentro das paredes anticlinais (flanges cuticulares).

As células epidérmicas, em vista frontal, apresentam paredes anticlinais sinuosas e campos de pontuação primária, em ambas as faces (Figs. 2 e 3).

A folha é hipoestomática, revelando estômatos do tipo paracítico com maior frequência e eventualmente, do tipo anomocítico. (Fig. 3).

O mesofilo é dorsiventral, sendo o parênquima clorofiliano paliçádico uni ou biestratificado (Figs. 4 e 5). O parênquima clorofiliano lacunoso compõe-se de 8 a 9 estratos celulares, com amplos espaços intercelulares (Figs. 4 e 5).

Nas nervuras de médio porte, os feixes vasculares apresentam extensão de bainha (Figs. 5 e 6). Idioblastos contendo óleos essenciais estão distribuídos por todo o mesofilo (Figs. 1, 4 e 5). Em secção transversal os idioblastos localizados no parênquima paliçádico são ovalados e os localizados no parênquima lacunoso são esféricos (Figs. 1, 4 e 5).

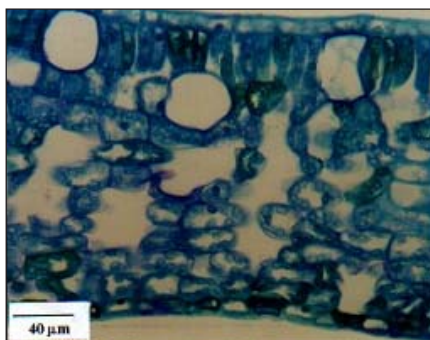


FIG.1 - ST do limbo foliar

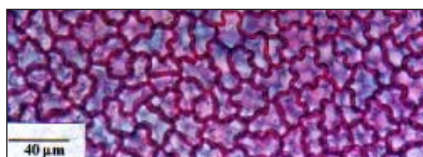


FIG.2 - V.F. da epiderme adaxial

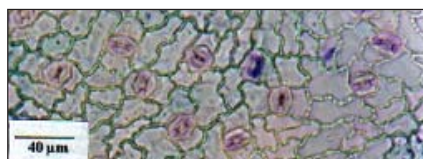


FIG.3 - V.F. da epiderme abaxial

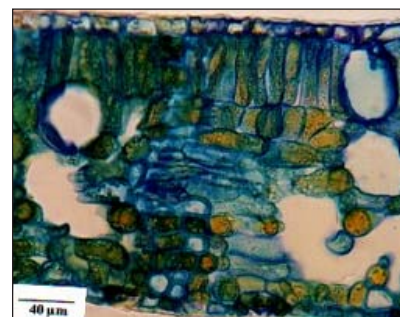


FIG.4 - ST do limbo foliar. Detalhe de idioblastos contendo óleos essenciais

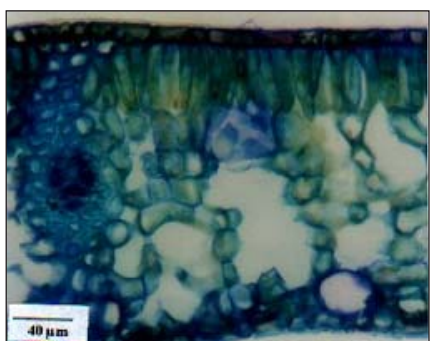


FIG.5 - ST do limbo foliar, destacando o parênquima clorofiliano

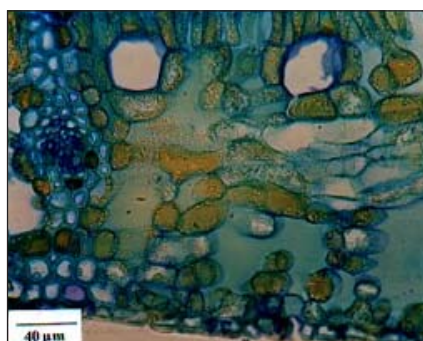


FIG.6 - Detalhe do feixe vascular, com extensão da bainha

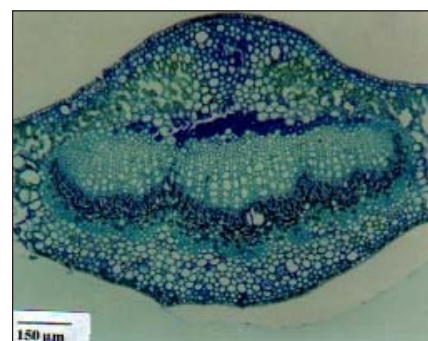


FIG.7 - ST da nervura central

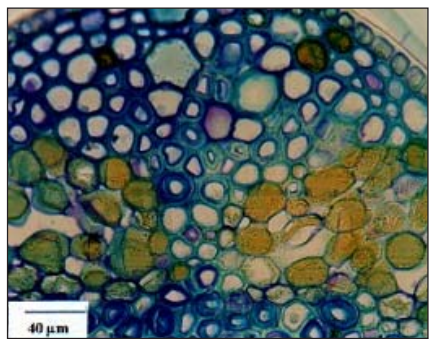


FIG.8 - ST da nervura central. Detalhe do colênquima do tipo anelar

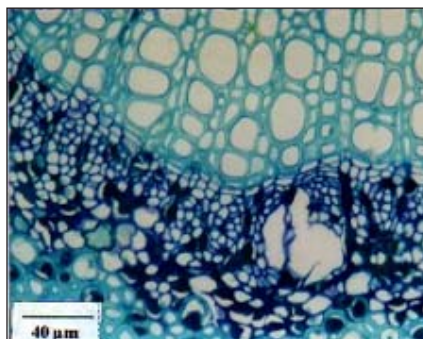


FIG.9 - Detalhe do feixe vascular da nervura central, em ST, destacando a presença de câmbio

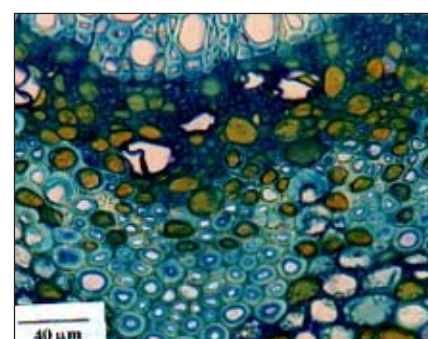


FIG.10 - Detalhe de idioblastos contendo compostos fenólicos



FIG. 11 - ST da nervura central submetida a teste de compostos fenólicos com cloreto férrico



FIG. 12 - ST da nervura central submetida a teste de amido, com lugol



FIG. 13 - ST da nervura central submetida a teste de lignina, com floroglucinol



FIG. 14 - ST da nervura central submetida a teste de substâncias graxas com Sudam III



FIG. 15 - ST do bordo foliar



FIG. 16 - ST do pecíolo

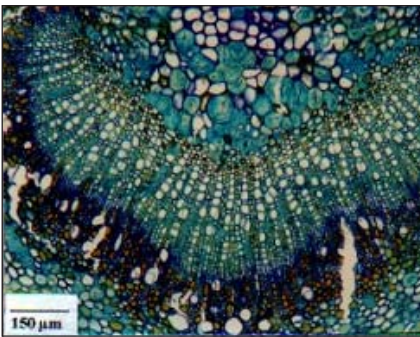


FIG. 17 - Detalhe de idioblastos contendo óleos essenciais na região do floema

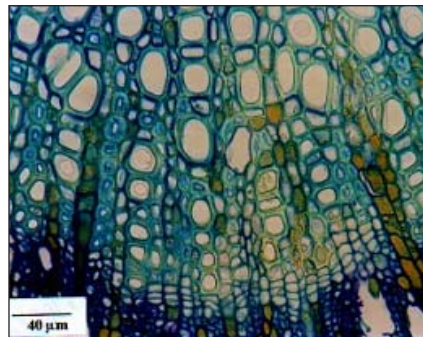


FIG. 18 - Detalhe do feixe vascular do pecíolo

Legendas utilizadas nas pranchas de figuras:
ST - secção transversal
VF - vista frontal

O sistema vascular da folha de *Ocotea odorifera* compreende uma nervura central e nervuras laterais de médio e pequeno porte. A nervura principal em secção transversal revela na face adaxial uma grande saliência, também notável na face abaxial, porém com menor intensidade (Fig. 7). Internamente às epidermes, constata-se a presença de colênquima do tipo anelar (Fig. 8).

Envolvendo o xilema e o floema, há uma bainha esclerenquimática (Fig. 7); entre o floema e xilema, uma faixa cambial se faz presente (Fig. 9).

Idioblastos contendo óleos essenciais ocorrem principalmente no parênquima fundamental. Idioblastos contendo compostos fenólicos se concentram predominantemente na região do floema (Figs. 9 e 10).

Os testes microquímicos evidenciaram a presença de compostos fenólicos na região do floema e no parênquima (Fig. 11); amido no parênquima (Fig. 12); lignina na região do xilema e na bainha esclerenquimática (Fig. 13); substâncias graxas na cutícula (Fig. 14).

O bordo do limbo, em secção transversal, é pontiagudo e apresenta em posição subepidérmica algumas camadas de esclerênquima. Na região próxima ao feixe

vascular, constata-se a presença de idioblastos contendo mucilagem (Fig. 15).

O pecíolo apresenta, em secção transversal, contorno nitidamente plano convexo (Fig. 16). A epiderme é unisseriada, com paredes espessadas e flanges cuticulares. Em posição subepidérmica observa-se uma faixa de colênquima do tipo anelar, formado de um até três estratos de células.

Idioblastos contendo óleos essenciais se fazem presentes principalmente no parênquima fundamental e floema (Figs. 16 e 17). Idioblastos contendo compostos fenólicos se concentram predominantemente na região do floema (Fig. 17).

O sistema vascular é formado pela fusão de vários feixes em forma de arco (Fig. 16). Na região externa ao floema ocorre uma calota de células esclerenquimáticas. Entre o xilema e o floema, desenvolve-se uma estreita faixa cambial (Fig. 18).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A espécie em estudo apresenta flanges cuticulares no limbo foliar e pecíolo. Segundo Esau (1960), a es-

pequena da cutícula pode variar e é influenciada pelas condições ambientais. A cutícula pode se projetar para dentro das paredes anticlinais (flanges cuticulares).

Observa-se na espécie analisada células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas.

De acordo com Esau (1960); Metcalfe & Chalk (1979); Fahn (1990) e Mauseth (1988), as células epidérmicas variam de tamanho e podem apresentar paredes retas, curvas ou sinuosas.

Fatores externos como a intensidade de luz e umidade tem efeitos marcantes na forma e tamanho das células epidérmicas (Metcalfe & Chalk, 1950; Cutter, 1986 e Raven, 1996).

Areschoug (1897) e Anheisser (1900) citados por Metcalfe & Chalk (1979), descrevem diferenças na sinuosidade das paredes anticlinais entre as folhas de sol e de sombra. Segundo estes autores a sinuosidade é mais acentuada nas folhas de sombra.

A *O. odorifera* apresenta estômatos do tipo paracítico, bem como, eventualmente, do tipo anomocítico.

Metcalfe (1987), descreve os estômatos das espécies de Lauraceae geralmente como paracítico.

Avita & Inamdar (1981) citados por Metcalfe (1987) pesquisaram a estrutura e ontogenia de 8 gêneros e 12 espécies de Lauraceae e confirmaram que a maioria dos estômatos em Lauraceae são paracíticos, ocorrendo com menos frequência, do tipo anomocítico, como constatado na presente pesquisa.

O parênquima paliçádico de *O. odorifera* apresenta-se uniestratificado na maioria das amostras analisadas, apenas a amostra S2 coletada no município de Colombo apresenta o parênquima paliçádico biestratificado.

De acordo com Metcalfe & Chalk (1979), o número de estratos do parênquima paliçádico pode variar de espécie para espécie e também pode ocorrer variações em indivíduos da mesma espécie.

Santos & Oliveira (1988) descreveram o parênquima paliçádico de *Ocotea porosa* como uni ou biestratificado. De acordo com os mesmos, quando ocorre o biestratificado, trata-se de uma camada de clorênquima, intermediária aos parênquimas paliçádico e lacunoso típicos.

A amostra S2 encontra-se em um ambiente com muita luminosidade, segundo Raven (1996), as folhas de sol são menores e mais espessas que as folhas de sombra. Esta espessura se deve principalmente a um maior desenvolvimento do parênquima paliçádico.

Na espécie estudada registramos a presença de idioblastos que acumulam óleos essenciais, mucilagens e compostos fenólicos.

Idioblastos contendo óleos essenciais, mucilagens e compostos fenólicos são considerados um caráter de grande valor taxonômico para Lauraceae (Metcalfe & Chalk, 1950).

Idioblastos contendo óleos essenciais, para exemplares da família Lauraceae têm sido descritos por Solereder (1908); Esau (1960); Metcalfe (1987); Buvat (1989); Fahn (1990); Toledo (1996) e Maranhão (1998).

De acordo com Solereder (1908), células mucilaginosas ocorrem nas folhas dos gêneros *Persea*, *Phoebe*, *Ocotea*, *Nectandra*, *Sassafras* e *Litsea*.

Os idioblastos contendo óleos essenciais estão localizados no parênquima paliçádico e parênquima lacunoso de *O. odorifera*.

Vattimo (1968), constata para espécies de *Aniba* que 95% das células secretoras localizam-se no parênquima paliçádico e 5% no parênquima lacunoso.

O. odorifera apresenta bainha esclerenquimática envolvendo o feixe vascular.

As famílias Boraginaceae, Caryophyllaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Monimiaceae, Proteaceae, algumas Rosaceae e Sterculiaceae apresentam espécies onde os feixes vasculares são acompanhados por esclerenquima (Metcalfe & Chalk, 1950 e Metcalfe & Chalk, 1979).

Vattimo (1968) constata a presença de bainha esclerenquimática perivascular em espécies do gênero *Aniba*.

Nas nervuras de médio porte os feixes vasculares de *O. odorifera* apresentam extensão da bainha.

Santos & Oliveira (1988); Toledo (1996) e Maranhão (1998) observaram a ocorrência de extensão da bainha respectivamente em *Ocotea porosa*, *Aniba rosaeodora* Ducke e *Persea major* Kopp.

A *O. odorifera* apresenta no bordo do limbo em posição subepidérmica, esclerenquima e células mucilaginosas. Esta organização reforça a margem da folha e impede que esta se rompa pela ação do vento segundo Mauseth (1988).

O arranjo dos feixes vasculares do pecíolo de *O. odorifera* se assemelha ao da nervura principal, com uma bainha esclerenquimática descontínua que envolve o floema.

No tecido fundamental do pecíolo, internamente às epidermes observa-se colênquima, idioblastos contendo óleos essenciais, mucilagem, compostos fenólicos e esclereídes. Estas estruturas são mencionadas por Mauseth (1988), por ocorrerem nesta região da folha.

O tipo e a posição das esclereídes nas folhas são de grande valor taxonômico (Rao *et al* citados por Fahn, 1990).

O pecíolo de *O. odorifera* está em conformidade com o descrito para as dicotiledoneas (Esau, 1960).

As características observadas na análise morfo-anatômica das folhas de *Ocotea odorifera* correspondem aos descritos para a família Lauraceae por Solereder (1908); Metcalfe & Chalk (1950); Vattimo (1968); Metcalfe (1987); Santos & Oliveira (1988); Toledo (1996); Maranhão (1998) e para o gênero *Ocotea* por Santos & Oliveira (1988).

Constata-se que não há diferenças quanto aos aspectos estruturais das folhas de *Ocotea odorifera* entre os dois ambientes (Colombo e Araucária).

REFERÊNCIAS

1. Bennet, H. S. *et al*. Science and art in preparing tissues embedded in plastic for light microscopy, with special reference to glycol methacrylate, glass knives and simple stains. *Stain technology*, Baltimore, v.55, n.1, p.71-97, 1976.
2. Berlyn, G. P.; Miksche, J. P. P. *Botanical microtechnique and citochemistry*. Iowa State University Press, 1976.
3. Brito, J. F. A.; Alquini, Y. A new method for staining botanical material embedded in glicol metacrilato (GMA). *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, Curitiba, v.39, n.4, p.949-951, 1996.
4. Buvat, R. *Ontogeny, cell differentiation and structure of vascular plants*. New York: Springer Verlag, 1989.
5. Cutter, E. G. *Anatomia vegetal: células e tecidos*. São Paulo: Roca, 1986.
6. Esau, K. *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo: Edgard Blücher, 1960.
7. Fahn, A. *Plant anatomy*. Pergamon Press, 1990.

8. Feder, N.; O'Brien, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany*, Columbus, v.55, n.1, p.123-142, 1968.
9. Foster, A. S. *Practical plant anatomy*. New York: Van Nostrand, 1949.
10. Guenther, E. *The essential oils: individual essential oils of the plant families Gramineae, Lauraceae, Burseraceae, Myrtaceae, Umbelliferae and Geraniaceae*. 3 ed. New York: D. Van Nostrand Company, 1950. v.4.
11. Inoue, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. *Projeto madeira do Paraná*. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 1984.
12. Johansen, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill Book, 1940.
13. Machado, R. D.; SOUZA, A. H. Esclarecimentos e sugestões sobre o óleo essencial de sassafrás. *Anuário Brasileiro de Economia Florestal*, Rio de Janeiro, n.1, p.206-214, 1948.
14. Maranhão, L. T. *Contribuição ao estudo botânico, fitoquímico, farmacológico e microbiológico de Persea major Kopp. (Lauraceae)*. Curitiba, 1998. Dissertação (Mestrado em Botânica), Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
15. Mauseth, J. D. *Plant anatomy*. California: The Benjamin/ Cummings Company, 1988.
16. Metcalfe, C. R.; CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford: Clarendon Press, 1950.
17. Metcalfe, C. R.; CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledons*. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1979.
18. Metcalfe, C. R. *Anatomy of the dicotyledons: magnoliales, illiciales, and laurales*. 2.ed. Oxford: Clarendon Press, 1987.
19. Raoul, W.; Iachan, A. *Contribuição ao estudo do óleo de sassafrás brasileiro*. Rio de Janeiro: Ministério do Trabalho, Indústria e Comércio, Instituto Nacional de Tecnologia, 1949.
20. Raven, P. H.; Evert, R. F.; Eichorn, S. E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
21. Santos, M.; Oliveira, P. L. Aspectos anatômicos da lâmina foliar de *Ocotea porosa* (Nees et Mart. Ex Nees) J. Angely (Lauraceae). *Ínsula, Florianópolis*, n.18, p.3-22, 1988.
22. Sass, J. E. *Botanical microtechnique*. 2.ed. Iowa State College Press, 1951.
23. Solereder, H. *Systematic anatomy of the dicotyledons*. Oxford: Clarendon Press, 1908. v.2.
24. Toledo, M. da G. T. de. *Contribuição ao estudo da Aniba rosaeodora Ducke*. Curitiba, 1996. Monografia (Especialização em Ciências Farmacêuticas), Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná.
25. Vattimo, I. Citomorfologia da folha das espécies conhecidas de pau-rosa: I – estudo do limbo de *Aniba rosaeodora* Ducke (Lauraceae). *Atas da Sociedade de Biologia*, Rio de Janeiro, v.11, n.6, p.207-211, 1968.
26. Vattimo, I. *Contribuição ao conhecimento da distribuição geográfica das Lauraceae III. Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 31, n.48, p.7-9, 1979.

Endereço para correspondência

Wilson Roberto Cunha
 Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e Tecnológicas da
 Universidade de Franca.
 Av Dr. Armando Salles de Oliveira, 201. Franca-SP , CEP 14404-600.
 E-mail: wrcunha@unifran.br