
**DIAGNOSE MICROSCÓPICA FOLIAR E CAULINAR DE
Podocarpus lambertii KLOTZSCH EX ENDL., PODOCARPACEAE**

**LEAF AND STEM MICROSCOPIC DIAGNOSIS OF
Podocarpus lambertii KLOTZSCH EX ENDL., PODOCARPACEAE**

DUARTE, M. R.^{1*}; MATOS, A. L.²; SOUZA, D. C.³

¹Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Av. Pref. Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170, Curitiba, PR, Brasil

²Curso de Farmácia, UFPR

³Bolsista PIBIC/CNPq, Curso de Farmácia, UFPR

*Autor para correspondência: Márcia R. Duarte. E-mail: marciard@ufpr.br

RESUMO:

A espécie *Podocarpus lambertii*, denominada vulgarmente de pinheiro-bravo, é nativa do Brasil e ocorre tipicamente em floresta semidecídua de altitude e mata de pinhais. É uma árvore dioica, perenifólia e heliófita, que pode atingir 15 m de altura, utilizada popularmente na terapêutica, em razão da resina com atividade antimicrobiana. Como pouco se sabe sobre as características anatômicas dessa planta medicinal, este trabalho realizou a diagnose microscópica de folha e caule de *P. lambertii*, com fins de identificação para o controle de qualidade farmacognóstico. Folhas adultas e caules jovens foram fixados, seccionados à mão livre ou em micrótomo de rotação, e corados. Na folha, em vista frontal, ocorrem estômatos exclusivamente na face abaxial, distribuídos em fileiras. As células epidérmicas têm formato retangular e paredes anticlinais com pequenas ondulações. Em secção transversal, há epiderme unisseriada, camada subepidérmica de fibras junto a ambas as superfícies, mesofilo isobilateral, um único feixe vascular colateral na nervura central e tecido de transfusão acessório em meio ao clorênquima e ao sistema vascular. No caule, o felogênio tem instalação nas camadas intermediárias do córtex e ocorrem fibras, esclereídes e um cilindro contínuo de floema externamente ao de xilema. Dutos secretores estão presentes nos órgãos vegetativos analisados.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, droga vegetal, farmacobotânica, pinheiro-bravo, planta medicinal

ABSTRACT:

Podocarpus lambertii, popularly known as pinheiro-bravo in Portuguese, is an indigenous species found in semideciduous highland forest and pine wood. It is a dioecious tree, perennial and heliophyte that can reach 15 m high, and used in folk medicine due to the antimicrobial activity of the resin. Since little knowledge is available about this medicinal plant, this work has carried out the microscopic diagnosis of the leaf and stem of *P. lambertii* for the pharmacognostic quality control. Mature leaves and young stems were fixed, sectioned either by freehand or rotary microtome, and then stained. In the leaf, in face view, it occurs stomata restricted to the abaxial surface and arranged in rows. The epidermal cells have rectangular shape and slightly wavy anticlinal walls. In cross-section, it is found uniseriate epidermis, subepidermal layer of fibres next to both surfaces, isobilateral mesophyll, a single collateral vascular bundle in the midrib and accessory transfusion tissue between the chlorenchyma and the

vascular system. In the stem, the phellogen is installed in the intermediary layers of the cortex and it is encountered fibres, sclereids and a continuous cylinder of phloem outside the xylem one. Secretory ducts are present in the vegetative parts analysed.

Keywords: conifer, medicinal plant, microscopic identification, plant anatomy, vegetal drug

1. INTRODUÇÃO

O gênero nativo brasileiro *Podocarpus* Labill. pertence à família Podocarpaceae (17 gêneros / 125 espécies), circunscrita no grupo das Gymnospermae/Pinophyta, e encontra-se distribuído em regiões tropicais e subtropicais (BOCHICCHIO, REICHER, 2003; PARK et al., 2004; SOUZA, LORENZI, 2008). Compreende várias espécies de importância econômica e medicinal, sendo muitos representantes cultivados como árvore ornamental e fonte alimentar, bem como matéria-prima para a obtenção de tanino, cera e madeira. Na medicina tradicional de países da América do Sul, África e Ásia, diferentes partes do vegetal são empregadas no tratamento de febre, traumatismos, problemas estomacais e respiratórios (FENGLIN et al., 2004; ABDILLAHI et al., 2008; 2010).

Ensaio farmacológicos *in vitro* e *in vivo* demonstraram os efeitos antitumoral, antimicrobiano, anti-inflamatório e larvicida do táxon. Investigações fitoquímicas isolaram e identificaram biflavonoides, dilactonas terpênicas e vários terpenoides, entre estes, compostos bioativos como o taxol e o totarol. O primeiro é um potente agente anticancerígeno e o segundo possui reconhecidas atividades antioxidante e antibacteriana. Adicionalmente, tem-se dado destaque às podolactonas, norditerpenoides biologicamente ativos (BARRERO, QUILEZ-DEL-MORAL, MARRERADOR, 2003; ABDILLAHI et al., 2008; 2010).

A espécie *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. (Figuras 1A, 1B) distribui-se de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul, tipicamente em floresta semidecídua de altitude e mata de pinhais (LORENZI, 1992). Denominada vulgarmente como pinheiro-bravo, pinheirinho, pinheirinho-alemão ou atamba-açu, é uma árvore dioica, que pode atingir 15 m de altura, heliófita e perenifólia, com folhas coriáceas e lineares (LORENZI, 1992; CARVALHO, 2004). Além de ser utilizada como medicinal, particularmente em razão da resina com atividade antimicrobiana (CARVALHO, 2004), desperta grande interesse na indústria madeireira pela qualidade do seu lenho (LONGHI et al., 1992). No entanto, pouco se sabe sobre as características anatômicas da planta, o que levou este trabalho a realizar a diagnose microscópica de folha e caule de *P. lambertii*, com fins de identificação para o controle de qualidade farmacognóstico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL BOTÂNICO

Ramos vegetativos apicais foram coletados de espécimes da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Florestas, localizada no município de Colombo, PR (aproximadamente na latitude de 25° 17', longitude de 49° 13' e altitude de 950m), em maio de 2005. A exsicata preparada foi identificada pelos taxonomistas do Museu Botânico Municipal de Curitiba, por comparação à registrada como MBM 321596.

2.2. METODOLOGIA

Folhas desenvolvidas e caules jovens, obtidos entre 5 e 20 cm do ápice caulinar, foram fixados em FAA70 (JOHANSEN, 1940) e preservados em etanol a 70% (v/v) (BERLYN, MIKSCHE, 1976). Para o preparo de lâminas semipermanentes, o material foi seccionado à mão livre, nos sentidos transversal e longitudinal, incluindo paradérmico. Em seguida, foi corado com azul de astra e fucsina básica (ROESER, 1972). Para a confecção de lâminas permanentes, o material foi desidratado em série etanólica crescente, emblocado em glicol-metacrilato, seccionado em micrótomo de rotação e corado com azul de toluidina (O'BRIEN, FEDER, MCCULLY, 1964).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na folha, em vista frontal, as células da epiderme têm formato tendendo ao retangular, apresentando as paredes anticlinais com pequenas ondulações, espessura moderada e visíveis campos de pontoação primária (Figuras 2A, 2B). Estômatos dispõem-se exclusivamente na face abaxial, em fileiras ordenadas (Figura 2B), e as células que os ladeiam, em secção transversal, recurvam-se sobre as células-guarda (Figura 2F).

De um modo geral, resultados concordantes foram apresentados por Stockey, Fervel e Woltz (1998), ao investigar algumas espécies de *Podocarpus*, cujas folhas são hipoestomáticas, estando as células-guarda alinhadas em paralelo, acompanhando o maior eixo da folha e apresentando entre duas e seis células subsidiárias. Ainda, segundo esses mesmos autores, na epiderme as células possuem paredes anticlinais com pequenas ondulações e são revestidas por cutícula ornamentada.

Em secção transversal, a epiderme é unisseriada e, subjacente a ela, ocorre uma camada subepidérmica de fibras (Figuras 2D-2F). O mesofilo é isobilateral (Figuras 2C, 3C), consistindo de parênquima paliádico (Figuras 2C-2E, 3C), com uma ou duas camadas em direção às duas faces epidérmicas, e parênquima plicado

(Figuras 2C, 2E, 3C).

Essas características são apontadas como comuns às Podocarpaceae por Esau (1977), que menciona a presença de hipoderme esclerificada praticamente contínua (exceto na direção dos estômatos), bem como de parênquima paliçádico junto a ambas as faces da epiderme. A hipoderme esclerificada reportada pela referida autora tem equivalência à camada de fibras descrita no presente trabalho. Esau (1977) complementa, ainda, que a observação de parênquima plicado se deve às invaginações que as paredes celulares do parênquima esponjoso sofrem, dando um aspecto característico a esse clorênquima.

A nervura central é plano-convexa, com leve curvatura na superfície abaxial (Figuras 2C, 2F). É percorrida por um único feixe vascular colateral, com forma oval (Figuras 2C, 2F, 3A, 3B). Tecido de transfusão acessório encontra-se entre o feixe vascular e o clorênquima (Figuras 2C, 3C). Na direção do floema, ocorre um duto secretor, cujo lúmen é revestido por epitélio constituído por células com citoplasma denso e núcleo evidente (Figuras 2C, 2F, 3D).

Para Esau (1977) e Mauseth (1988), as folhas lineares de coníferas usualmente apresentam um único feixe vascular, que possui tecido de transfusão (parênquima de transfusão e traqueídes) internamente à endoderme e tecido de transfusão acessório, que se estende do feixe ao bordo foliar. Segundo Brodribb e Holbrook (2005), em *Podocarpus* as traqueídes que compõem esse tecido são cilíndricas e dispõem-se perpendicularmente ao feixe vascular, e o conjunto de células está relacionado com a translocação de água e nutrientes entre o sistema condutor e o mesófilo. Tais resultados também foram relatados por Chiamolera, Ângelo e Boeger (2010) para *P. lambertii*.

Quanto aos dutos secretores, Mauseth (1988) afirma que em *Podocarpus* há apenas um duto localizado entre o feixe e a face abaxial da epiderme, em concordância com os resultados desta investigação.

No caule, a epiderme persiste no nível analisado e o felogênio tem instalação nas camadas intermediárias do córtex, formando súber em direção à periferia (Figuras 4A, 4C). Na região cortical, encontram-se dutos secretores de epitélio multisseriado (Figuras 4A, 5A, 5C), fibras (Figura 4D) e esclereídes. O câmbio forma um cilindro contínuo de floema externamente ao de xilema, tendo ambos os sistemas raios estreitos (Figuras 4B, 5B). No floema, em meio aos elementos condutores e parênquima, ocorrem fibras (Figura 5B). O xilema é totalmente lignificado e na medula estão presentes células esclerenquimáticas, além de parenquimáticas (Figura 5D). Essa organização caulinar é compatível com as descrições de Esau (1977) para o táxon.

4. REFERÊNCIAS

ABDILLAHI, H. S.; STAFFORD, G. I.; FINNIE, J. F.; STADEN, J. Antimicrobial activity of South African Podocarpus species. *J. Ethnopharmacol.*, Limerick, v. 119, p. 191-194, 2008.

ABDILLAHI, H. S.; STAFFORD, G. I.; FINNIE, J. F.; STADEN, J. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of Podocarpus sensu latissimo (s.l.). *South Afr. J. Bot.*, Pretoria, v. 76, p. 1-24, 2010.

BARRERO, A. F.; QUILEZ-DEL-MORAL, J. F.; MAR-HERRADOR, M. Podolactones: a group of biologically active norditerpenoids. In: RAHMAN, A. (Ed.). *Studies in natural products - chemistry*. Karachi: Elsevier, 2003. v. 28, p. 453-516.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. *Botanical microtechnique and cytochemistry*. Ames: Iowa State University Press, 1976. 326 p.

BOCHICCHIO, R.; REICHER, F. Are hemicelluloses from Podocarpus lambertii typical of gymnosperms? *Carbohyd. Polym.*, Barking, v. 53, n. 2, p. 127-136, 2003.

BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M. Water stress deforms tracheids peripheral to the leaf vein of a tropical conifer. *Plant Physiol.*, Minneapolis, v. 137, p. 1139-1146, 2005.

CARVALHO, P. E. R. Pinheiro-bravo - Podocarpus lambertii. *Circular Téc. Embrapa Flor.*, Colombo, v. 95, p. 1-9, 2004.

CHIAMOLERA, L. B.; ÂNGELO, A. C.; BOEGER, M. R. Resposta morfoanatômica da folha de Podocarpus lambertii Klotzsch et Endl. (Podocarpaceae) implantado em duas áreas com diferentes graus de sucessão às margens do Reservatório Iraí - PR. *Biotemas*, Florianópolis, v. 23, n. 2, p. 1-11, 2010.

ESAU, K. *Anatomy of seed plants*. New York: Wiley, 1977. 550 p.

FENGLIN, H.; RUILI, L.; BAO, J.; LIANG, M. Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. *Fitoterapia*, Milan, v. 75, p. 14-23, 2004.

JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

LONGHI, S. J.; SELLE, G. L.; RAGAGNIN, L. I. M.; DAMIANI, J. E. Composição florística e estrutura fitossociológica de um capão de

Podocarpus lambertii Klotz. no Rio Grande do Sul. **Ciê. Flor.**, Santa Maria, v. 2, n. 1, p. 9-26, 1992.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. v. 1, 367 p.

MAUSETH, J. D. **Plant anatomy**. Menlo Park: Benjamin/Cummings, 1988. 560 p.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Vienna, v. 59, p. 368-373, 1964.

PARK, H.-S.; YODA, N.; FUKAYA, H.; AOYAGI, Y.; TAKEYA, K. Rakanmakilactones A-F, new cytotoxic sulphur-containing norditerpene dilactones from leaves of *Podocarpus macrophyllus* var. *maki*. **Tetrahedron**, Elmsford, v. 60, p. 171-177, 2004.

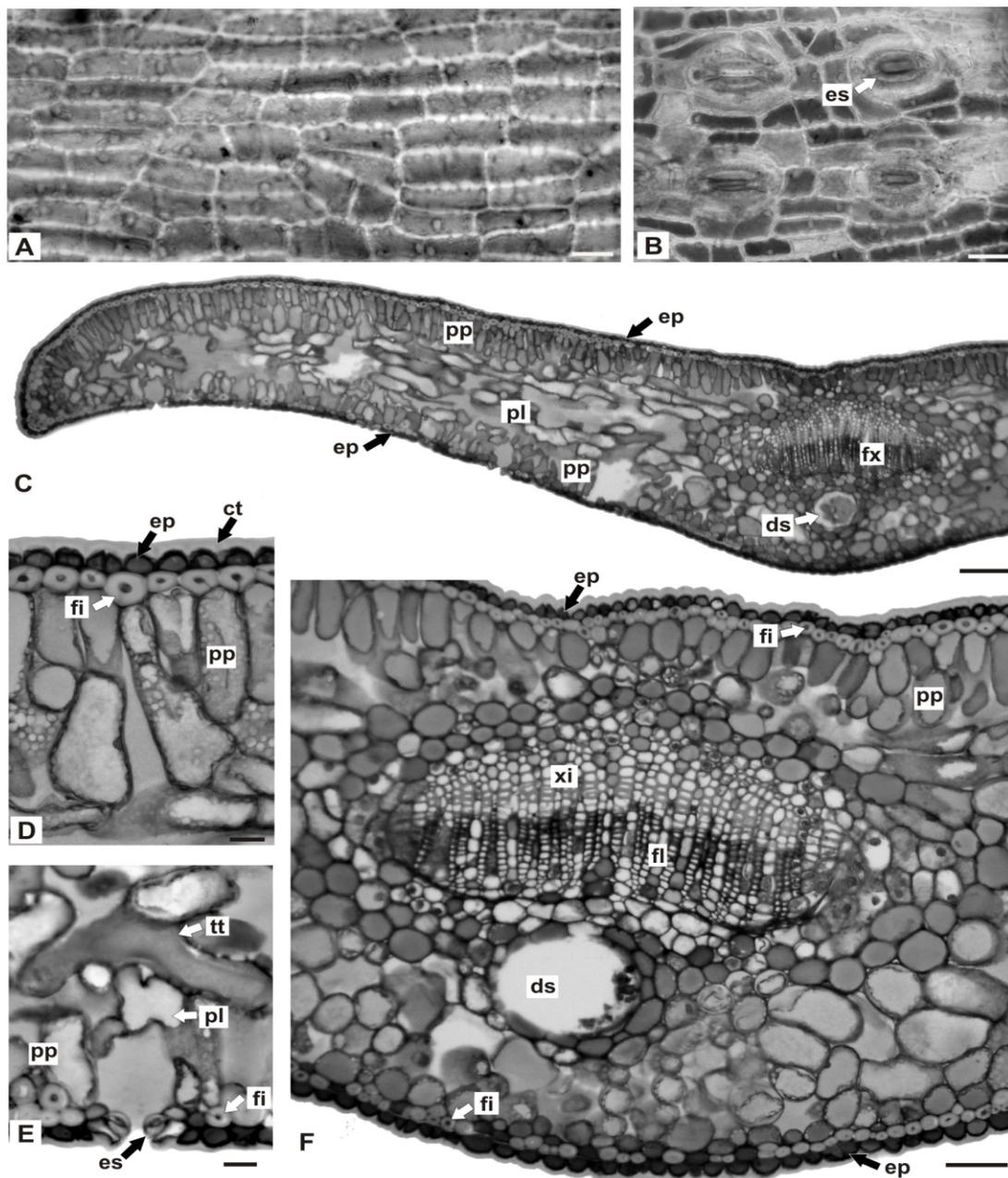
ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 33-36, 1972.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

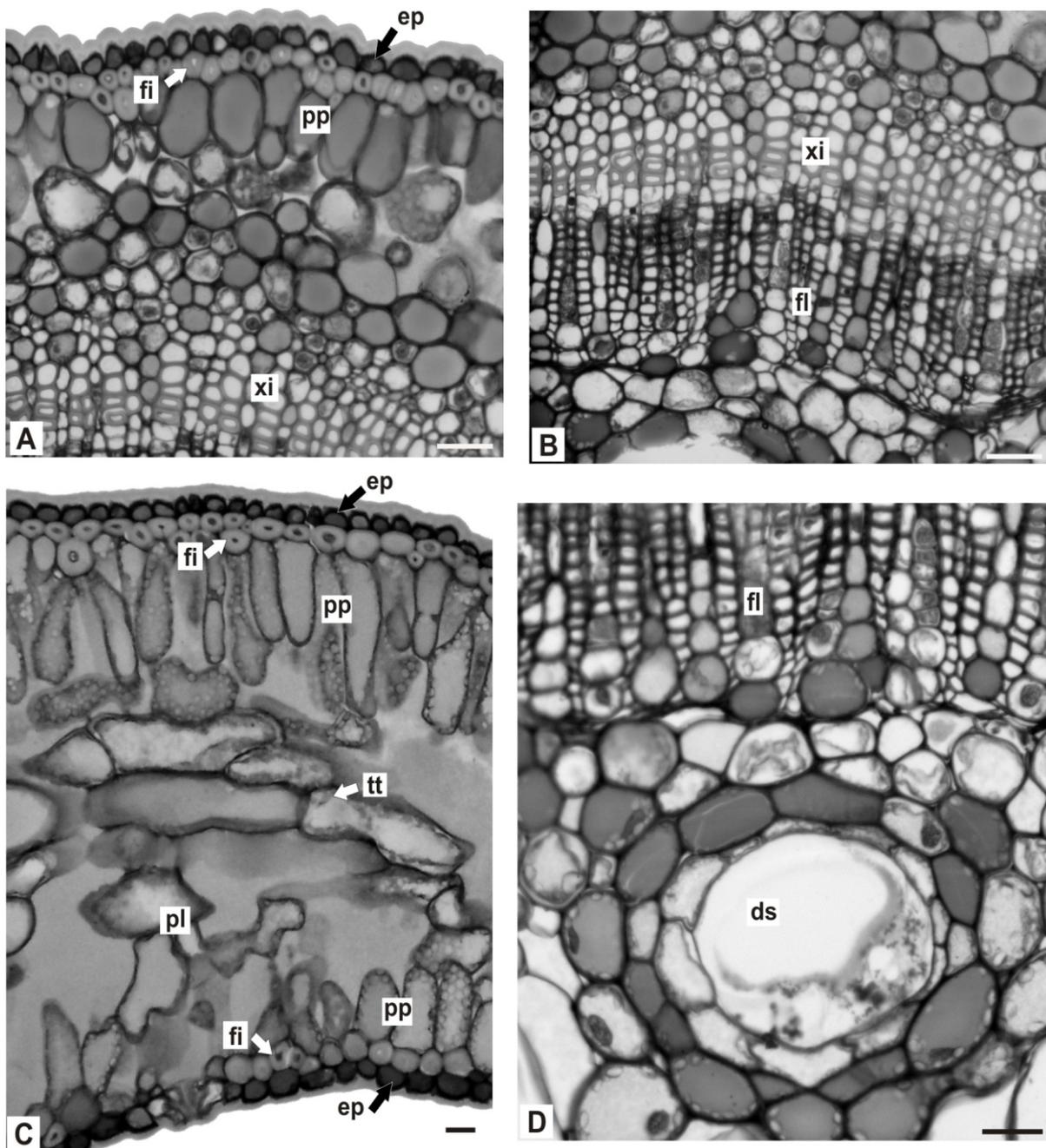
STOCKEY, R. A.; FREVEL, B. J.; WOLTZ, P. Cuticle micromorphology of *Podocarpus* subgenus *Podocarpus*, section *Scytopodium* (Podocarpaceae) of Madagascar and South Africa. **Int. J. Plant Sci.**, Chicago, v. 159, n. 6, p. 923-940, 1998.

LEGENDAS

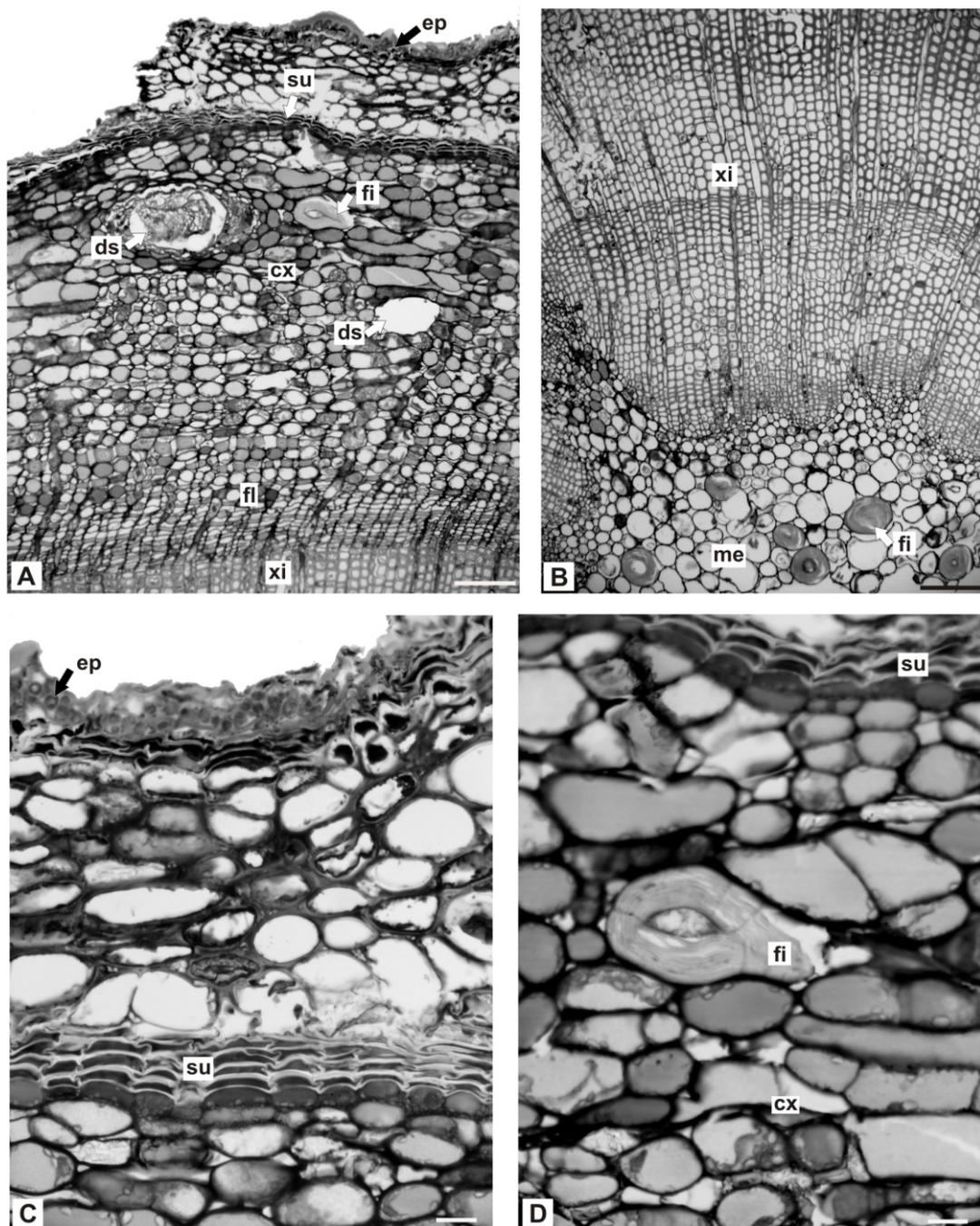
FIGURAS 1A, B. *Podocarpus lambertii*: A. ASPECTO GERAL NO HÁBITO; B. DETALHE DE RAMO VEGETATIVO APICAL. BARRA= 1 cm



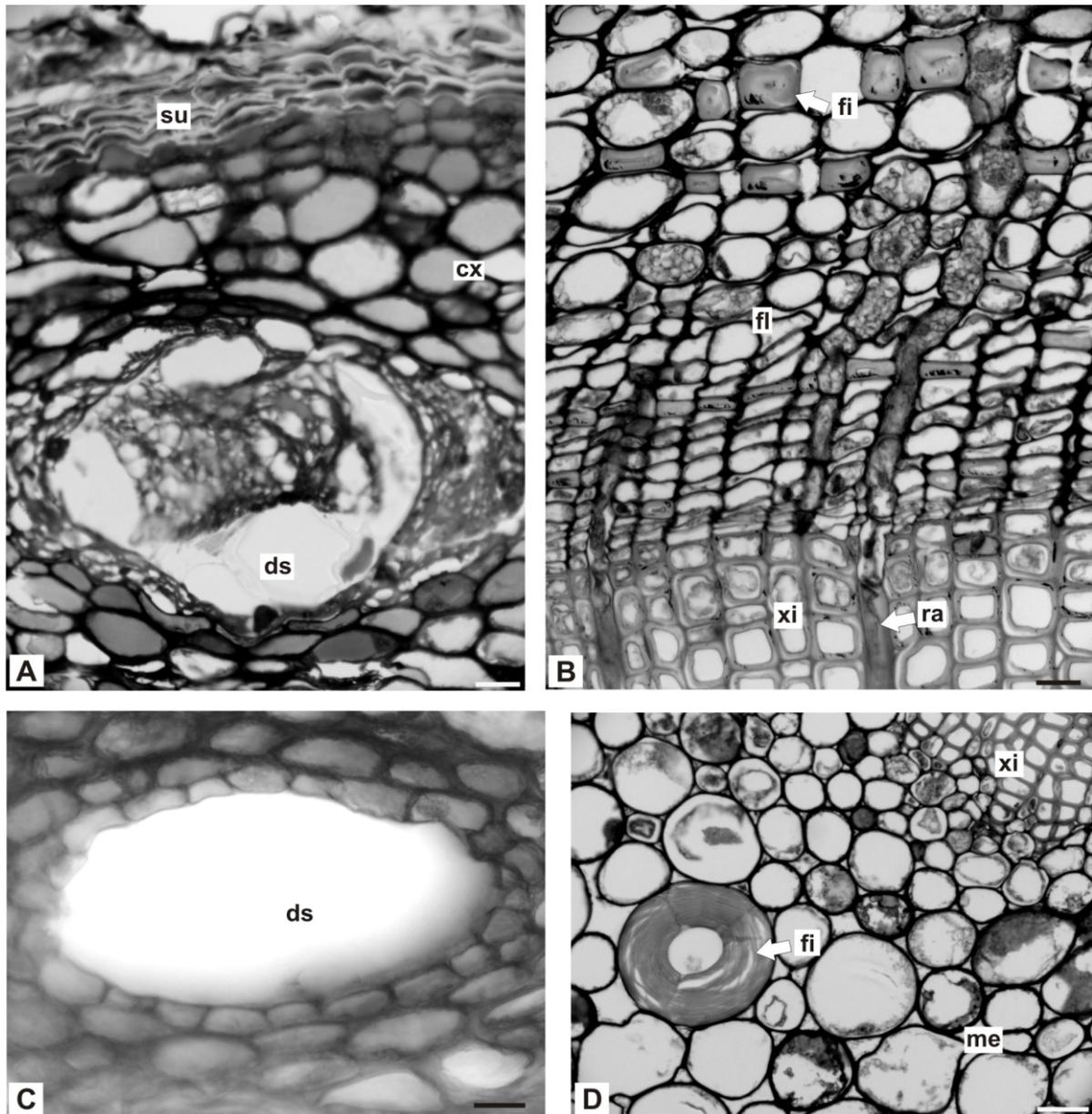
FIGURAS 2A-F. *Podocarpus lambertii*, FOLHA: A, B. VISTA FRONTAL DA EPIDERME, FACES ADAXIAL E ABAXIAL, RESPECTIVAMENTE; C. LIMBO, ENTRE NERVURA CENTRAL E BORDO FOLIAR; D. PORMENOR DA EPIDERME E PARÊNQUIMA PALIÇADICO, JUNTO À FACE ADAXIAL; E. DETALHE DE ESTÔMATO E PARÊNQUIMAS PLICADO E PALIÇADICO, PRÓXIMO À SUPERFÍCIE ABAXIAL; F. REGIÃO DA NERVURA CENTRAL. ABREVIATURAS: CT – CUTÍCULA, DS – DUTO SECRETOR, EP – EPIDERME, ES – ESTÔMATO, FI – FIBRA, FL – FLOEMA, FX – FEIXE VASCULAR, PL – PARÊNQUIMA PLICADO, PP – PARÊNQUIMA PALIÇADICO, TT – TECIDO DE TRANSFUÇÃO ACESSÓRIO, XI - XILEMA. BARRA = 100 μ m (C), 50 μ m (F), 20 μ m (A, B, D, E)



FIGURAS 3A-D. *Podocarpus lambertii*, SECCÇÃO TRANSVERSAL DA FOLHA: A. NERVURA CENTRAL, JUNTO À FACE ADAXIAL, MOSTRANDO EPIDERME, PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO E PARTE DO FEIXE VASCULAR; B. PORMENOR DO FEIXE VASCULAR COLATERAL; C. EPIDERMÉ E MESOFILO ISOBILATERAL; D. DUTO SECRETOR PRÓXIMO AO FLOEMA. ABREVIATURAS: DS – DUTO SECRETOR, EP – EPIDERME, FI – FIBRA, FL – FLOEMA, PL – PARÊNQUIMA PLICADO, PP – PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, TT – TECIDO DE TRANSFUSÃO ACESSÓRIO, XI - XILEMA. BARRA = 20 μ m



FIGURAS 4A-D. *Podocarpus lambertii*, SECCÇÃO TRANSVERSAL DO CAULE: A, B. ORGANIZAÇÃO CAULINAR; C. PORMENOR DO SISTEMA DE REVESTIMENTO E CÓRTEX; D. FIBRA NO CÓRTEX. ABREVIATURAS: CX – CÓRTEX, DS – DUTO SECRETOR, EP – EPIDERME, FI – FIBRA, FL – FLOEMA, ME – MEDULA, SU – SÚBER, XI – XILEMA. BARRA = 100 μm (A, B), 20 μm (C, D)



FIGURAS 5A-D. *Podocarpus lambertii*, SECCÇÃO TRANSVERSAL DO CAULE: A, C. PORMENOR DE UM DUTO SECRETOR NO CÓRTEX; B. VISÃO PARCIAL DO FLOEMA E XILEMA; D. FIBRA NA MEDULA. ABREVIATURAS: CX – CÓRTEX, DS – DUTO SECRETOR, FI – FIBRA, FL – FLOEMA, ME – MEDULA, RA – RAIOS, SU – SÚBER, XI – XILEMA. BARRA = 20 μ m