

**ASPECTOS DA ESTRUTURA FOLIAR DE *Stevia cinerascens* Sch. - Bip.
(COMPOSITAE)**

Amélia Moema Veiga Lopes, Maria Helena Cechella Achutti, Thereza Grassioli e Sérgio Augusto de Loreto Bordignon
Departamento de Biologia. Centro de Ciências Naturais e Exatas. UFSM.
Santa Maria, RS.

RESUMO

Folhas de plantas de *Stevia cinerascens*, com cheiro agradável (amostra A) e sem perfume (amostra B), que apresentam diferença de porte e se desenvolvem em condições ambientais diferentes, foram objeto do presente trabalho. Estudou-se a arquitetura foliar em folhas clarificadas e a anatomia em cortes de material vivo ou fixado. Determinou-se a área ocupada pelas células epidérmicas, estômatos e tricomas segundo método estereológico. Nessas plantas, as folhas têm estrutura dorsiventral, são anfistomáticas com estômatos anomocíticos. Os tricomas são simples - cônico e filiforme - e glandulares bisseriados vesiculares. A venação é acrodroma. Os feixes vasculares são colaterais, sendo que os feixes menores do mesófilo apresentam bainha parenquimática. Os elementos de vaso têm placa de perfuração simples. Canais secretores esquizógenos ocorrem nas nervuras primárias e ocasionalmente nas secundárias. O tecido de sustentação é o colênquima que ocorre ao longo das nervuras maiores. As folhas das amostras A e B se distinguem estruturalmente pela diferenciação dos tricomas glandulares bisseriados, subtipo α (amostra A) e β (amostra B), e por caracteres frequentes em folhas de sol (amostra A) e de sombra (amostra B).

SUMMARY

LOPES, A.M.V.; ACHUTTI, M.H.C.; GRASSIOLLI, T. and BORDIGNON, S. A. de L., 1987. Leaf structure of *Stevia cinerascens* Sch. - Bip. (Compositae). *Ciência e Natura*, 9:129-140,1987.

Leaves of odorous plants (sample A) and no odorous ones (sample B), showing diverse habits and growing in different habitats were studied. Clarified leaves were used for the blade architecture study and sections of alive and fixed leaves for the anatomical study. The determination of occupied area by epidermal cells, stomata and trichomes according to the stereological method was done. The structure of leaves is dorsiventral. They are amphistomatic with anomocytic stomata. The trichomes are simples conical, simple filiform and biseriate vesicular glandular types. The venation is acrodromous. The vascular bundles have a collateral arrangement. The bundle sheath of the small vascular bundles located in the mesophyll is parenchymatic.

The vessel members have simple perforation plates. Schizogenous secretory canals accompany the primary veins and sometimes the secondary veins. The collenchyma is present beneath the epidermis of the larger veins. The biseriate vesicular glandular trichomes differentiation, subtype α (sample A) and subtype β (sample B) and features frequent in sun (sample A) and shade leaves (sample B) are structural variation showed by these leaves.

INTRODUÇÃO

Este trabalho apresenta dados morfológicos e anatômicos comparativos entre exemplares de *Stevia cinerascens* Sch. - Bip. que se desenvolvem de forma nativa em condições ambientais diferentes, na Serra de Santa Bárbara, Caçapava do Sul, RS. Essa planta é perene rizomatosa, ocorrendo de preferência em solos rasos, campos arenosos e terrenos pedregosos. De acordo com MONTEIRO (9), é frequente no sul do Brasil, podendo ocorrer até o Estado de Minas Gerais. Também é citada para a Argentina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados dois tipos de amostras. Amostra A: *S. cinerascens* com porte que varia de 15,0 a 25,0 cm, cor verde-castanho e cheiro agradável. Essa amostra foi coletada em colinas com solo pedregoso, granítico, onde o sol incide diretamente e a vegetação é de pequeno porte. Amostra B: *S. cinerascens* com porte mais elevado que atinge até 1,0 m de altura, folhas mais desenvolvidas, de um verde intenso e sem perfume. Essa amostra foi coletada em locais sombreados, solo com humus e vegetação mais alta.

Para documentação taxonômica, exemplares A e B foram herborizados e encontram-se depositados no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS, registrados, respectivamente, com os números SMDB 2167 e SMDB 2168.

Foram estudadas folhas de ramos vegetativos e floríferos de material vivo ou fixado. Como fixadores foram usados o álcool etílico 70%, FAA 50 e FPA. Foram feitas lâminas temporárias, com cortes à mão livre, montadas em solução de glicerina. Na maceração de tecidos, empregou-se o método de dissociação de Jeffrey. Para a elaboração das lâminas permanentes, seguiu-se técnica usual de inclusão em parafina e dupla coloração safranina "fast-green". Para identificação da natureza dos constituintes celulares, foram efetuados testes histoquímicos, utilizando-se floroglucina em meio ácido e Sudan IV (JOHANSEN, 8). O estudo da venação foi realizado em folhas diafanizadas, segundo técnica indicada por FOSTER (5). A determinação da área ocupada pelas células epidérmicas, estômatos e tricomas foi obtida pelo método estereológico da fração de pontos de

acordo com IFJU (7), em folhas clarificadas pela água sanitária comercial. Aspectos da morfologia, incluindo padrão de venação, foram descritos segundo o método proposto por HICKEY (6). Para a descrição da estrutura dos tricomas, tomou-se por base o estudo de tricomas de Compositae, realizado por RAMAYYA (10). Os desenhos foram feitos ao microscópio ótico com auxílio da câmara clara. O aspecto geral da venação foi obtido através da projeção de lâminas em um anteparo.

RESULTADOS

As folhas de *S. cinerascens* são comumente simétricas, elípticas de margens convexas inteiras, na base e crenado-serreadas nas porções média e apical. O ângulo apical dos dentes é obtuso ou reto. O tipo de serreado é convexo, com espaciação predominantemente regular e seriação simples. O ápice e a base da lâmina são agudos. A textura é membranácea (amostra B) a cartácea (amostra A). A posição das glândulas (tricomas glandulares) é laminar. O pecíolo está ausente ou é muito curto. Dentre as variações, observam-se folhas com lâmina elíptica larga e ápice obtuso em exemplares da amostra A e elíptica estreita, atenuada na base, freqüentes na amostra B.

Epiderme - A lâmina foliar adulta das amostras A e B, de estrutura nitidamente dorsiventral, é revestida de epiderme monossериada, provida de tricomas tectores e glandulares. Em vista frontal, a epiderme das superfícies adaxial e abaxial é formada por células de tamanho e forma regulares. As paredes celulares são delgadas sendo as anticlinais fortemente onduladas (Figura 1 a e b).

Em corte transversal, a parede periclinal externa das células epidérmicas apresenta cutícula fina com estrias epicuticulares. A amostra B apresenta as células epidérmicas retangulares pequenas e grande quantidade de tricomas glandulares bisseriados vesiculares (subtipo β). Esses tricomas se alojam em concavidades, o que confere à superfície foliar aspecto ondulado (Figura 1 e e f). A amostra A apresenta células epidérmicas grandes em relação à B. Sua superfície foliar é praticamente lisa, já que são raros os tricomas glandulares que se alojam em concavidades (Figura 1 c e d).

Os estômatos são anomocíticos. Estão distribuídos, irregularmente, em ambas as faces da lâmina e são mais elevados do que as células epidérmicas (Figura 1 a, b, d e e). Nas duas amostras, a área ocupada pelos estômatos é maior na superfície abaxial da lâmina foliar, sendo essa diferença bem mais acentuada na amostra A (Tabelas I e II).

Tricomas - Os tricomas observados em *S. cinerascens* são dos tipos: simples cônico, simples filiforme e glandular bisseriado vesicular,

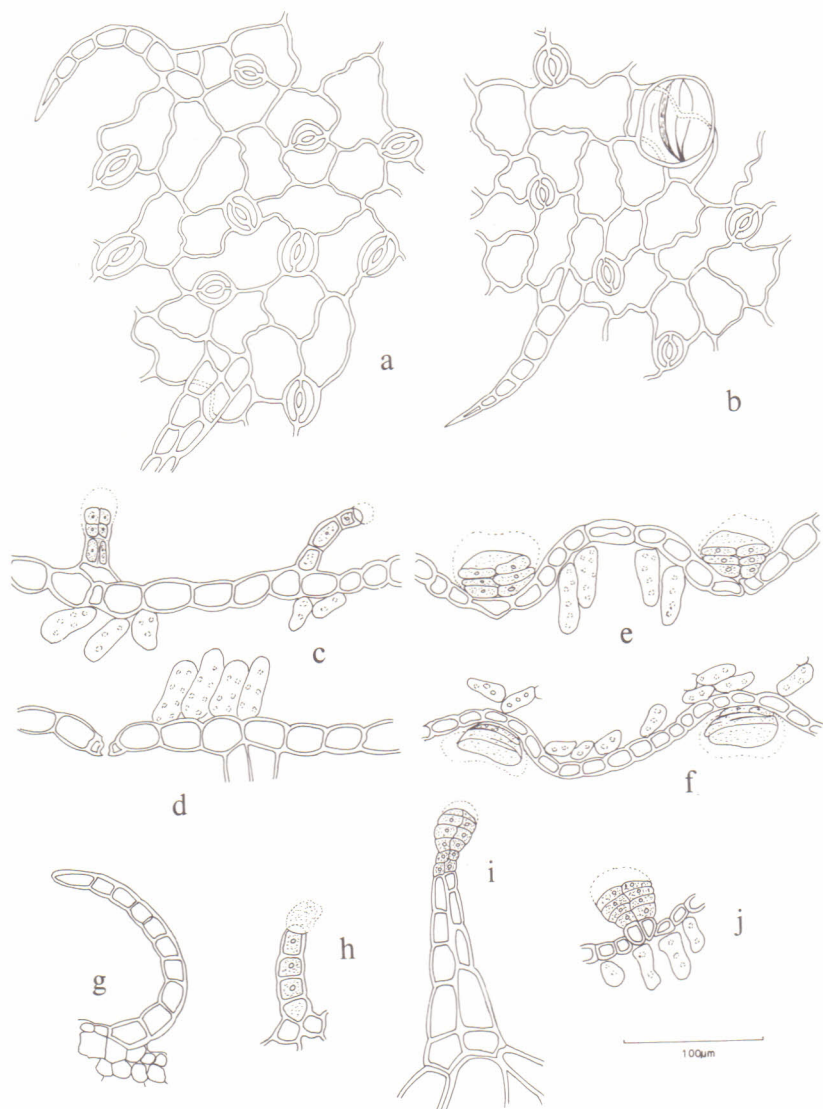


FIGURA 1 - Epiderme. *a-b*: vista frontal da superfície abaxial, amostras *A(a)* e *B(b)*. *c-d*: amostra *A*, corte transversal das superfícies adaxial (*e*) e abaxial (*d*). *e-f*: amostra *B*, corte transversal das superfícies adaxial (*e*) e abaxial (*f*). *g-j*: tricomas: simples cônico (*g*), simples filiforme (*h*), glandular bisseriado vesicular subtipos α (*i*) e β (*j*).

TABELA I - AMOSTRA A - VALORES DA DETERMINAÇÃO HISTOMÉTRICA DAS FRAÇÕES DE CÉLULAS, ESTÔMATOS E TRICOMAS NA LÂMINA FOLIAR DE *Stevia cinerascens*.

		Valor mínimo (%)	Média (%)	Valor máximo (%)	Desvio padrão (%)
Face Adaxial	Células epidérmicas	82	83,9	87	1,91
	Estômatos	2	3,9	5	0,99
	Tricomas simples cônico e filiforme	0	1,8	3	0,78
	Tricomas glandulares subtipo α	9	10,4	12	0,84
	Tricomas glandulares subtipo β	-	-	-	-
		Valor mínimo (%)	Média (%)	Valor máximo (%)	Desvio padrão (%)
Face Abaxial	Células epidérmicas	78	81,2	83	1,81
	Estômatos	9	9,8	11	0,78
	Tricomas simples cônico e filiforme	0	1,0	3	0,94
	Tricomas glandulares subtipo α	6	8,0	10	1,2
	Tricomas glandulares subtipo β	-	-	-	-

TABELA II - AMOSTRA B - VALORES DA DETERMINAÇÃO HISTOMÉTRICA DAS FRAÇÕES DE CÉLULAS, ESTÔMATOS E TRICOMAS NA LÂMINA FOLIAR DE *Stevia cinerascens*.

		Valor mínimo (%)	Média (%)	Valor máximo (%)	Desvio padrão (%)
Face Adaxial	Células epidérmicas	83	87,5	89	1,77
	Estômatos	4	4,5	5	0,52
	Tricomas simples cônico e filiforme	1	2,2	4	0,91
	Tricomas glandulares subtipo α	-	-	-	-
	Tricomas glandulares subtipo β	4	5,4	9	2,01
		Valor mínimo (%)	Média (%)	Valor máximo (%)	Desvio padrão (%)
Face Abaxial	Células epidérmicas	80	82,5	88	2,32
	Estômatos	5	6,9	9	1,19
	Tricomas simples cônico e filiforme	1	2,7	5	1,15
	Tricomas glandulares subtipo α	-	-	-	-
	Tricomas glandulares subtipo β	4	7,9	5	1,15

subtipos α e β . O simples cônico é um tricoma não ramificado, pluricelular. O pê é composto, o corpo é unisseriado inteiro, afilado no ápice e formado de seis a quinze células na amostra A e de dez a vinte células na amostra B (Figura 1 g). O simples filiforme é um tricoma flexuoso, não ramificado, pluricelular. O pê é simples, o corpo

unisseriado inteiro, arredondado no ápice, formado geralmente por cinco células. As células terminais se diferenciam das basais pelo conteúdo denso e pela natureza da parede celular que não cora pelo Sudan IV (Figura 1 *h*). O tricoma glandular bisseriado vesicular, subtipo α , apresenta o pé composto e o corpo diferenciado em pedículo e cabeça. O pedículo é bisseriado, formado de uma a cinco células em cada fileira, largo na base, afinando na porção superior. As células das duas fileiras são alternadas e variam em comprimento. São células vivas com conteúdo translúcido. As paredes externas são retas ou levemente convexas, sendo as das células basais mais espessas. A cabeça é formada por duas fileiras de células sub-opostas, mais largas do que longas, com duas a cinco células em cada fileira. As paredes são menos espessadas do que as do pedículo, o citoplasma é denso e a vesícula cuticular está restrita às células terminais. Gotículas de óleo são observadas nas células da cabeça (células secretoras) e no interior da vesícula cuticular (Figura 1 *i*). O tricoma glandular bisseriado vesicular, subtipo β , tem o pé composto por duas células e o corpo bisseriado inteiro, formado, comumente, por quatro células em cada fileira. Todas as células do corpo são secretoras e possuem paredes delicadas, citoplasma denso, com gotículas de óleo (Figura 1 *j*).

Na amostra *A* (Tabela I), a área ocupada pelos tricomas glandulares bisseriados α é de 10,4% na face adaxial e 8,0% na face abaxial da lâmina foliar, enquanto que, na amostra *B* (Tabela II), em ambas as faces, é nula. O contrário ocorre em relação aos tricomas glandulares β que estão presentes na amostra *B*, ocupando uma área de 5,4% na face adaxial e 7,9% na face abaxial da lâmina foliar e são raros na amostra *A*, de modo a não apresentarem valor significativo.

Observando-se os ramos floríferos, nota-se que os tricomas glandulares α surgem, na amostra *B*, inicialmente, na base das brácteas superiores dos ramos da panícula, aumentando em número, progressivamente, em direção ao ápice da inflorescência. As brácteas do involúcro do capítulo dos exemplares *B* apresentam-se totalmente revestidas por tricomas glandulares α à semelhança do que ocorre em *A*, onde, esses tricomas predominam desde as folhas inferiores dos ramos vegetativos até as brácteas da panícula e do capítulo.

Mesofilo - Nas amostras *A* e *B*, o mesofilo da folha adulta é formado por um parênquima assimilador, diferenciado em paliçádico e lacunoso. O paliçádico está localizado na face adaxial da lâmina e o lacunoso na face abaxial. O parênquima paliçádico, na amostra *A* (Figura 2 *a*), é formado de duas a três camadas de células compactas e perpendiculares à epiderme. Na amostra *B* (Figura 2 *b*), ocorre uma redução no número de camadas do paliçádico nas regiões correspondentes

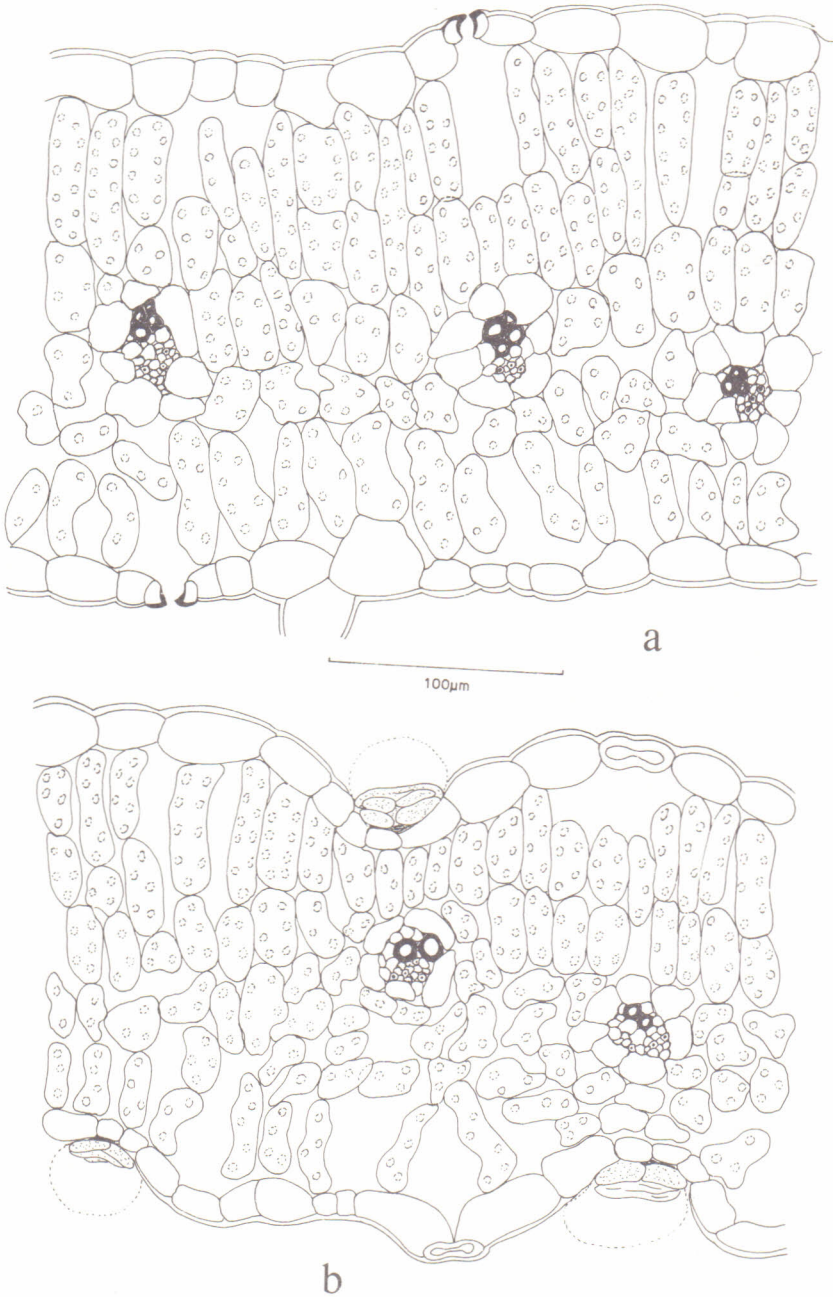


FIGURA 2 - Corte transversal da lamina foliar, mostrando aspectos do mesófilo e de nervuras de pequeno porte, amostras A (a) e B (b).

às concavidades da superfície foliar. O tecido lacunoso é formado de três a quatro camadas de células heteromórficas. Nota-se que, na amostra *A*, as células subepidérmicas desse tecido são alongadas e dispostas no sentido anticlinal, assemelhando-se ao paliçádico. Na amostra *B*, a disposição dessas células é mais irregular e o arranjo das células do mesofilo, em geral, é mais frouxo do que em *A*.

Sistema vascular - A venação foliar, nas amostras *A* e *B*, é acródroma, suprabasal com desenvolvimento perfeito a imperfeito. Uma nervura média e duas laterais, primárias, correm em arco para o ápice, caracterizando a nervação acródroma. As nervuras secundárias superiores, que se anastomosam entre si, são típicas de nervação broquidódroma (Figura 3 *a* e *b*).

As nervuras primárias são de espessura tênue a acentuada, com percurso reto ou curvado, ramificado. As nervuras secundárias têm ângulo de divergência agudo, espessura relativa moderada, percurso curvado de modo abrupto, sinuoso, ramificado. As ramificações que formam arco unem-se à nervuras secundárias supra-adjacentes em ângulo reto e estão encerradas por arcos secundários. As nervuras terciárias têm ângulo de origem reto, no lado inferior das secundárias e reto ou agudo no lado superior. Apresentam padrão reticulado. A venação de ordem mais alta forma um retículo no qual não são distinguíveis ordens de venação (Figura 3 *c*). As vênulas são simples sem ramificações, curvadas ou lineares, ou ramificadas por dicotomização uma ou duas vezes. As aréolas são de forma geralmente pentagonal ou quadrangular, variando em tamanho. Ocasionalmente, vênulas atravessam as aréolas ou então se conectam limitando pequenas áreas de tecido foliar sem vênula livre (Figura 3 *d*). A extremidade livre das vênulas está formada por um ou dois elementos espiralados, podendo ocorrer três ou quatro. Na amostra *A*, aparecem elementos terminais reticulados, curtos, quase isodiamétricos (Figura 3 *e*).

A venação final da margem foliar é arqueada ou incompleta com vênulas livres. Elementos traqueais espiralados, longos, formam plexos de terminações de nervura livres nas proximidades do ápice dos dentes ou crenas (Figura 3 *f*, *g* e *h*).

A base da lâmina foliar, em corte transversal, apresenta três feixes vasculares livres, que provêm de três traços foliares. O central é bem maior do que os laterais. Esses feixes são colaterais e estão imersos num parênquima fundamental clorofilado. Em posição subepidérmica de ambas as faces da lâmina, ocorre colênquima angular.

À medida que se observa da base para o ápice da folha, os feixes laterais se afastam, ao mesmo tempo em que surge entre o feixe mediano e os laterais um parênquima diferenciado em paliçádico

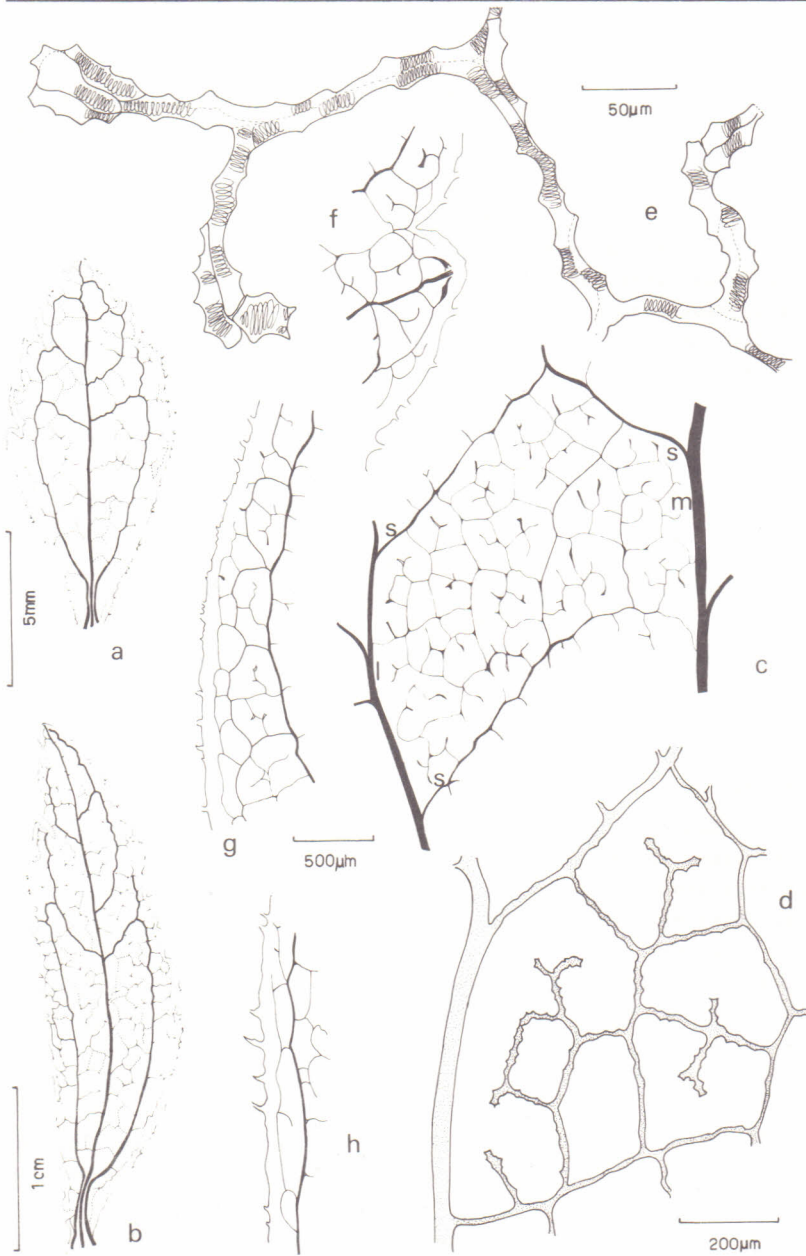


FIGURA 3 - Venação foliar. *a-b*: aspecto geral, amostras A (*a*) e B (*b*). *c*: área entre nervuras primárias, média (*m*) e lateral (*l*), e nervuras secundárias (*s*). *d*: aspecto das aréolas e vênulas. *e*: terminações de nervuras. *f-h*: venação marginal: margem crenado-serreada (*f*) e margem inteira (*g-h*).

e lacunoso. Em função da origem e comportamento desses feixes, considerou-se as nervuras maiores que se dirigem para o ápice da lâmina como nervuras primárias. No terço médio da lâmina foliar, a nervura mediana é formada apenas pelo feixe central. Esse feixe é circundado por um parênquima fundamental, que se diferencia em colênquima nas camadas celulares próximas à epiderme. O parênquima assimilador avança até os flancos do feixe vascular. As nervuras laterais, primárias, são menores do que a mediana e se assemelham a ela em sua organização. Os elementos traqueais se dispõem em fileiras radiais, separadas por raios de parênquima e os elementos crivados e células companheiras formam agrupamentos, intercalados por células parenquimáticas (Figura 4 *a* e *b*). Os elementos de vaso têm placas de perfuração simples e as paredes finais inclinadas.

As nervuras de ordem mais alta apresentam bainha de feixe parenquimática, com alguns cloroplastos (Figura 2 *a* e *b*). Pode ocorrer extensão de bainha para a face adaxial ou, em alguns casos, para ambas as faces da lâmina foliar.

Canais de secreção esquisógenos ocorrem próximo ao protóxilema das nervuras primárias e, ocasionalmente, das secundárias (Figura 4 *b*). São em número de um ou dois por feixe e se dispõem em séries longitudinais descontínuas. A Figura 4 *c* mostra um canal de secreção em corte longitudinal. As células epiteliais, secretoras, são alongadas e têm um conteúdo mais denso do que as células adjacentes. Gotículas de óleo são observadas no interior do canal.

CONCLUSÕES

Com o presente trabalho, conclui-se que as amostras *A* e *B* têm estrutura foliar semelhante. No entanto, a variabilidade estrutural observada entre as folhas de uma e outra amostra permite que se faça distinção entre elas.

As folhas da amostra *A* são menores e mais espessas (cartáceas) do que as da amostra *B* (membranáceas). O arranjo das células do mesófilo é compacto em *A* e frouxo em *B*. A área ocupada pelos estômatos na face abaxial da lâmina foliar é maior em *A*, valor médio 9,8% (Tabela I) do que em *B*, valor médio 6,9% (Tabela II). Em *A* o indumento é mais denso: a soma dos valores médios da área ocupada pelos tricomas, considerando-se as duas faces da lâmina foliar, é 21,2% em *A* (Tabela I) e 18,2% em *B* (Tabela II). Em *A* predominam os tricomas glandulares bisseriados vesiculares com diferenciação sub-típica α ; em *B* esses tricomas mostram diferenciação sub-típica β e estão alojados em depressões da superfície foliar. Essa variação de um determinado tipo de tricoma, observada em *S. cinerascens*, é citada por RAMAYYA (10) para uma mesma espécie ou espécies diferentes de Compositae.

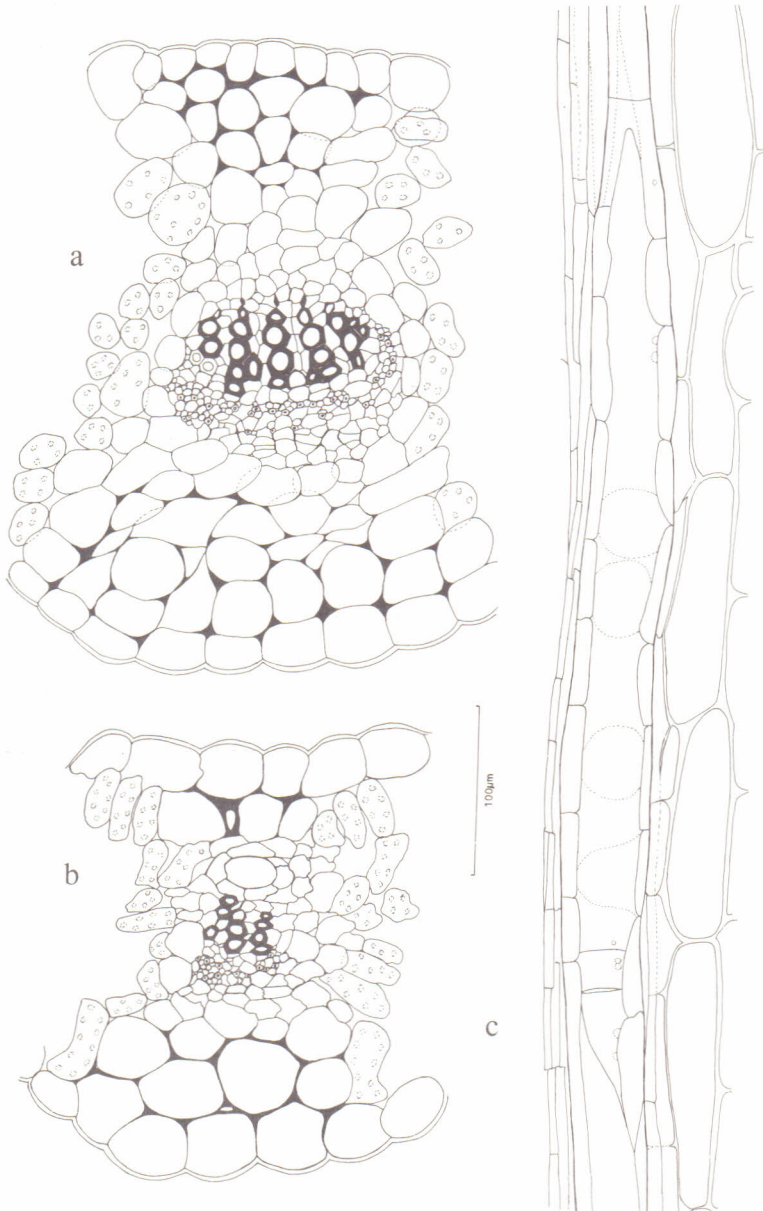


FIGURA 4 - *a-b*: Nervuras primárias em corte transversal: *a*: nervura mediana ao nível do terço médio da lâmina foliar. *b*: nervura primária lateral, mostrando o canal de secreção junto ao protoxilema. *c*: Canal de secreção em corte longitudinal.

Os demais caracteres, acima citados, que distinguem as folhas das amostras A e B, nos levam a pensar que a intensidade de luz seja uma das possíveis causas das diferenças observadas na estrutura da *S. cinerascens*, já que a amostra A cresce no alto da colina, em solo granítico e recebe a luz direta do sol, enquanto que a amostra B desenvolve-se na sombra em solo com humus. Os referidos caracteres são comumente citados como frequentes em folhas de sol e de sombra de uma mesma espécie (CUTTER, 1 e 2, ESAU, 3 e FAHN, 4).

Julga-se indispensável a continuidade do estudo dessas plantas através do seu cultivo em diversos ambientes, bem como, a determinação dos seus constituintes químicos.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Nelson Ivo Matzenbacher pela identificação taxonômica do material botânico e à Sra. Antonieta Isaia da Rosa pela preparação das lâminas permanentes.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. CUTTER, E. *Plant anatomy: experiment and interpretation*. London, Addison-Wesley Publ., v.2, 1971. 343 p. il.
2. CUTTER, E. *Plant anatomy*, Part I Cells and tissues. 2.ed., Great Britain, Edward Arnold, v.1, 1978. 315 p. il.
3. ESAU, K. *Anatomy of seed plants*. 2.ed., New York, John Wiley & Sons, 1977. 550 p. il.
4. FAHN, A. *Plant anatomy*. Oxford, Pergamon Press, 1972. 534 p. il.
5. FOSTER, A.S. Techniques for study of venation patterns in the leaves of Angiosperms. In: International Congress, 7, Stockolm, 1950. *Proceedings* ..: Stockolm, 1953:586-7.
6. HICKEY, L.J. Classification of the architecture of dicotyledoneous leaves. *Am. J. Bot.* 60(1):17-33, 1973.
7. IFJU, G. *Quantitative wood anatomy - a stereological approach*. Blacksburg, VPI, IPT, 1977. 26 p.
8. JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York, Mc Graw-Hill Book, 1940. 523 p.
9. MONTEIRO, R. Estudos taxonômicos em *Stevia* série *Multiaristatae* no Brasil. *Revta brasil. Bot.* 5:5-15, 1982.
10. RAMAYYA, N. Studies on the trichomes of some Compositae. I General structure. *Bull. Bot. Surv. India.* 4(1-4):177-88, 1962.

Recebido em maio, 1987; aceito em julho, 1987.