Erika Amano

Pau-brasil,
madeira e casca:
formação, desenvolvimento e estrutura

São Paulo
2007

Erika Amano

Pau-brasil,
madeira e casca:
formação, desenvolvimento e estrutura

Tese apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade de São Paulo, para a
obtenção de Título de Doutor em Ciências, na
Área de Anatomia Vegetal.

Orientadora: Prof. Dr. Veronica Angyalossy

São Paulo
2007

Ficha Catalográfica

Amano, Erika

Pau-brasil, madeira e casca: formação,
desenvolvimento e estrutura

101 Número de páginas

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Departamento de
Botânica.

1. Pau-brasil 2. Atividade cambial 3. Xilema 4.
Floema I. Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. _____

Prof. Dr. Veronica Angyalossy
Orientadora

**À minha querida mãe,
por sempre estar ao meu lado**

Rir muito e sempre, ganhar o **respeito** das pessoas inteligentes e o **afeto** das crianças, receber a consideração dos críticos honestos e resistir à traição dos falsos amigos, apreciar a **beleza**, descobrir o melhor nos outros, deixar o **mundo** um pouco **melhor**, seja através de uma criança **saudável**, um pedaço de jardim ou uma condição social mais **justa**. Saber que ao menos uma **vida** respirou mais **fácil** porque você existiu. **Isso é ter sucedido.**

Ralph Waldo Emerson

Agradecimentos

Infelizmente, nas páginas que aqui seguem não cabem o quatro anos que em fui aluna de doutorado. Infelizmente, nessas páginas não caberiam tudo o que vivi e nem os agradecimentos que tenho para fazer. Quantos amigos cultivei e de quantos tive que me despedir depois de uma defesa. Quantas noites não dormidas no laboratório. Quantas decepções, tristezas e alegrias. Primeiramente agradeço a **Dr. Veronica Angyalossy**, minha orientadora de dez anos, pelo o apoio e a paciência, em todo o processo da minha formação. Mas, o aprendizado é um processo longo, demorado, feito e refeito. Foram dez anos, e me lembro como se fosse ontem, e sempre lembrarei. O doutorado começou muito antes da data de matrícula, fazíamos parte do **Projeto Temático Pau-Brasil**, uma experiência e exemplo de como é um "grupo-de-pesquisa". Tudo isso devido à coordenadora, **Dr. Rita de Cássia Ribeiro**, pulso firme e um grande coração. Agradeço a oportunidade de poder fazer parte. As coisas que aprendi não tiveram preço, mas nada se compara a amizade, ganhei uma nova amiga **Dr. Edenise Segala-Alves** de quem tenho um carinho e uma admiração inestimável, minha amiga de todas as horas, um grande exemplo, que tem toda a minha admiração, respeito e, muito carinho. Depois de dois anos de projeto ingressei no Programa de pós-graduação do **Departamento de Botânica**, a qual agradeço por oferecer este curso e, não menos importante ao **CNPq**, pela bolsa e reserva técnica concedida. O momento do meu ingresso foi um momento único da minha vida. Jamais saberia que ela mudaria tanto em quatro anos. Agradeço ao **Dr. José Prani**, coordenador a pós-graduação no momento do meu ingresso, de que tenho muito orgulho em dizer que fui três vezes sua aluna durante a graduação. Agradeço a **Dr. Edna Scremin-Dias**, "minha-tudo" (peço licença ao Mario Prata, por usar esse termo), mãe, ex-chefe, amiga, tia. Ganhei muito no doutorado, o ganho profissional foi imenso, porém o melhor de tudo foi ganhar outra família, avós, tios, primos, pais e irmãos. Agradeço a confiança e todo o carinho, e por me proporcionar a experiência de saber como é ser considerada uma pesquisadora e professora com pernas e braços, alunos e aulas. A toda família **Scremin-Dias**, **Scremin** e **Dias**, Agradeço a **Natalia Scremin-Dias**, **João Scremin-Dias**, **Lua Scremin**, **Lairce Scremin**, **Felipe Dias** e **Augusta Dias**, hoje tenho duas famílias. A **Universidade Federal do Mato Grosso do Sul**, onde fui professora substituta em 2003. Aos funcionários e professores agradeço todos os dias em que passei em Campo Grande. Aos amigos de sempre de quem tenho muitas saudades **Cristiane Kalife**, **Selo Rodrigues**, **Fernando Belan**, **Marcelo Casaro**, **Rosana Adamowich**. Agradeço ao **Dr. Marcus Alves**, por todo o apoio na minha primeira tentativa de coleta, em Tapacurá, Pernambuco. Os ventos me levaram para outros cantos, mas os dias de estrada e as risadas valeram muito. A **Dr. Delmira Costa**, por ter me aberto a portas de sua casa e seu laboratório e me acolher, possibilitando que esse trabalho pudesse ser realizado. As coletas de pau-brasil na Bahia foram inesquecíveis, depois de cruzar as vacas, alcançávamos as árvores. Um local lindo de onde eu jamais irei me esquecer. Agradeço a **Fazenda Alegria**, especialmente ao **Sr. Paulo Lavigne**, preocupado com as espécies em extinção, que me recebeu gentilmente e permitiu a coleta, e ao **Sr. Odilon** que sempre tão bem me recebeu. A **Universidade Estadual de Santa Cruz**, professores e alunos que tão bem me acolheram em seus laboratórios. A querida **Dr. Nanuza de Menezes**, agradeço o apoio e a alegria de todos os dias. Já estou com muitas saudades, mas sei que sempre estará comigo.

em meu coração e nas coisas que me ensinou para onde quer que eu vá. A Dr. Flávia Melo-de-Pinna e Dr. Gregório Ceccantini pelas valiosas sugestões no meu exame de qualificação. Ao Dr. Flavio Beraldo, pela ajuda na microscopia confocal. A minha amiga Licleia Rodrigues, minha amiga para todas as horas, festas e roubadas, agradeço a paciência e as risadas. Ao Programa PAE em que participei em 2004, quando me despedi da monitoria. Foi um grande pesar em saber que seria a última vez, a paixão pela docência, e pelo prazer e honra de mostrar aos alunos a beleza da Anatomia Vegetal. A Dr. Eny Fhlo pelo doce de pessoa sempre disposta ajudar, agradeço o aprendizado nesse ano de monitoria. Ao Fazenda Campininha (Mogi Guaçu) que permitiu a coleta e o uso da área. Ao Flavio Alves, por ter me mostrado um modo diferente de ver a vida. Por todos os nossos momentos bons e ruins, que fizeram parte de nossos dias juntos. Agradeço a paciência e compreensão. A minha "co-des-orientada" Silvana Hammerer, meu anjo da guarda, agradeço todo o apoio, desse ano... é difícil saber quem aprendeu mais... "Te adoro, minha amiga". Ao KLAARF - KEW, pela bolsa concedida. Ao Dr. Steven Jansen, por ter me dado a honra de trabalhar consigo. Três meses mais marcantes e difíceis do meu doutorado, uma mistura de encantamento e medo pelo novo. Agradeço ao Dr. Peter Gasson, por ter me recebido. Não vou esquecer os dias em que passei no Jodrell, agradeço a Clarisse, Neela, Thelma, Edgley, todas as risadas, choros e torpeços. Agradeço a Elvia por tudo e todos os dias... Kew não seria o mesmo sem você!!! Tenho muitas saudades. A Gisele Costa, cem páginas ainda seria pouco para agradecer por tudo o que fez por mim nestes anos. O trabalho é feito numa construção dia após dia, e tudo teria sido muito mais difícil sem você. Agradeço por me oferecer amparo e conforto em todos os momentos. Ao Edson Costa, Gaspar Lima. Não posso agradecer em palavras o apoio e a ajuda, não só com fotos e grades e cortes, mas nos meus momentos difíceis. A André Carvalho e Marcelo Pace, reuniões e discussões. À Marina Cattai, agradeço o companheirismo e o apoio de final de tese, conversas científicas ou não-tão científicas assim... Ao Helder Souza, secretário da pós-graduação, que finalmente ficará livre de mim.... Ao Cassiano Quaresma, pela ajuda e por me agüentar nos últimos dias... Ao Laboratório de Madeira do IPT. Agradeço ao Antonio e Geraldo, por sempre estarem dispostos a ajudar. Ao Laboratório de Anatomia do Instituto de Botânica. Ao Dr. Agnes Luchi e Dr. Solange Mazzeoni-Viveiros, por sempre me receber como se fosse uma nova casa. Ao casal Claudia Vecchi e Cristian Annunziatto, por sempre me receberem de braços abertos. A todos os mestrandos, doutorandos, estagiários, visitantes do Laboratório. A minha amiga Patricia Pita, a minha monitora de vasculares, por sempre me oferecer uma palavra reconfortante, sempre me abrigando em sua mesa. A Dr. Dalva Ribeiro, Dr. Ana Claudia Rodrigues, Dr. Paulo Horta, Amigos de amigos de longe, mas perto do coração. A minha amiga Patricia Soffiatti, amiga de longe, amiga de perto, um oceano não foi suficiente para abalar a nossa amizade. A M J L A D E, gostar e quer bem de alguém sem obrigação. Agradeço por tudo, falar que sempre está ao meu lado seria pouco... Muito obrigada!!! Agradeço a minha família, Nobuko Amano, Tociro Imafuku, Michelle Amano, Marcos Fugita, Fabio Fugita, Natsuko Amano, por me dar a segurança de saber que sempre teremos um lugar seguro para voltar... Flavia prometido a mim mesma que não faria meus agradecimentos na última hora, provavelmente cometi o indesculpável erro de deixar alguém importante injustamente fora dessa lista... Agradeço a todos, e sintam-se parte deste trabalho...

Índice

Resumo Geral	1
Abstract	2
Introdução Geral	3
Capítulo 1	
Sazonalidade da atividade cambial de pau-brasil (<i>Caesalpinia echinata</i>, Leguminosae) em diferentes ambientes	
Resumo e <i>Abstract</i>	8
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados	12
Discussão	14
Referências bibliográficas	18
Capítulo 2	
Desenvolvimento do xilema secundário em pau-brasil (<i>Caesalpinia echinata</i>, Leguminosae)	
Resumo e <i>Abstract</i>	28
Introdução	29
Material e Métodos	30
Resultados	31
Discussão	32
Referências bibliográficas	34
Capítulo 3	
Pontoações guarnecidas nos elementos de vaso de pau-brasil (<i>Caesalpinia echinata</i>, Leguminosae)	
Resumo e <i>Abstract</i>	42
Introdução	43
Material e Métodos	44
Resultados	45
Discussão	46
Referências bibliográficas	50
Capítulo 4	
Anatomia do lenho de pau-brasil (<i>Caesalpinia echinata</i>, Leguminosae) em diferentes ambientes	
Resumo e <i>Abstract</i>	57
Introdução	58
Material e Métodos	59
Resultados	61
Discussão	63
Referências bibliográficas	66
Capítulo 5	
Estrutura e desenvolvimento do floema em pau-brasil (<i>Caesalpinia echinata</i>, Leguminosae)	
Resumo e <i>Abstract</i>	82
Introdução	83
Material e Métodos	84
Resultados	85
Discussão	87
Referências bibliográficas	91
Considerações finais	100

RESUMO GERAL

Caesalpinia echinata Lam. (Leguminosae) é a espécie símbolo do Brasil, muito importante historicamente para o país. A árvore de pau-brasil foi intensamente explorada no período do descobrimento, durante o século XVI, para a extração de corante e, atualmente, a sua madeira é utilizada na fabricação de arcos para instrumentos de corda. Neste trabalho foi estudada a espécie em três áreas: Mogi Guaçu, em São Paulo, num bosque experimental; em Ilhéus, na Bahia, em uma fazenda de cacau, e em Campo Grande no Mato Grosso do sul, na Reserva do campus da Universidade Federal. Pretendeu-se neste trabalho comparar a sazonalidade da atividade cambial, o xilema e floema secundários, assim como descrever a formação e a diferenciação dos tecidos vasculares secundários. Para isso, um método não destrutivo de coleta foi usado, além de várias técnicas de observação do material, como microscopia de luz, eletrônica de varredura e transmissão, e confocal de varredura a laser. Foi realizado o acompanhamento fenológico da espécie assim como dados ambientais, tal como pluviosidade, temperatura e fotoperíodo. A atividade cambial foi observada a partir da presença de figuras mitóticas e fragmoplastos nas células cambiais. O câmbio é ativo em Mogi Guaçu por seis meses, enquanto que em Ilhéus por cerca de dez meses. A atividade cambial é principalmente influenciada pela pluviosidade, e os períodos de inatividade estão relacionados com o déficit hídrico no solo. No desenvolvimento do xilema secundário, os elementos de vaso são as primeiras células a se diferenciarem. Após a expansão celular, há o rompimento do tonoplasto, e posteriormente, ocorre a deposição da parede secundária e lignificação, com formação das pontoações e das guarnições, e delimitação da placa de perfuração. A última etapa é a lise do núcleo e hidrólise do conteúdo citoplasmático. A anatomia comparada do xilema coletado em Mogi Guaçu e em Ilhéus mostrou diferenças significativas para os seguintes parâmetros: diâmetro tangencial do elemento de vaso, relação diâmetro e comprimento do elemento de vaso, frequência dos elementos de vaso por mm², espessura da parede da fibra, comprimento da fibra. Os raios mostram uma tendência a serem mais largos nos espécimes de Ilhéus, embora esta diferença não seja estatisticamente significativa. Quanto às guarnições das pontoações intervasculares tem-se que na abertura externa da pontoação são similares, sendo ramificadas e longas nos espécimes das três regiões analisadas; porém na abertura interna da pontoação as guarnições são mais abundantes e ramificadas em indivíduos coletados em Mogi Guaçu e Campo Grande, onde há um maior período de déficit hídrico no solo por ano. O floema é composto por uma porção não condutora e uma porção condutora, que corresponde a 1/4 a 1/6 do floema secundário. Os elementos de tubo crivado e as células do parênquima floemático apresentam um arranjo tangencial alternado em muitos dos espécimes analisados. No floema não condutor são observadas esclereídes. No início de sua diferenciação, ainda possuem núcleo, e a proteína-P não dispersa. No floema de pau-brasil não foi detectada a presença de marcadores de crescimento, como já visto em algumas espécies tropicais.

ABSTRACT

Caesalpinia echinata Lam. (Leguminosae) is the species symbol of Brazil, historically very important to the country. The Pernambuco wood tree was intensely exploited in the period of the discovery, during XVI century, for the pigment extraction and, nowadays, the wood is extensively used in the production of bows for string instruments. In this work it was studied the species in three areas, in Mogi Guaçu, São Paulo; in an experimental forest; in Ilhéus, Bahia, in a cocoa farm, and in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, in the Reserve of the Federal University campus. The goal of this work was to compare the seasonality of cambium activity, secondary xylem and phloem, as well as describing the formation and differentiation of secondary vascular tissues. For that, a non destructive collection method was employed and, several techniques were used to analyze the samples, including optic, scanning, transmission and confocal scanning laser microscopy. The phenology of the species was followed correlated to environmental variables, such as precipitation, temperature and photoperiod. Cambium activity was observed from the presence of mitotic figures and phragmoplasts in cambium cells. Cambium is active in Mogi Guaçu for six months, while in Ilhéus is for about ten months. Cambial activity is mostly influenced by precipitation, and inactivity periods are related to water deficit in the soil. In the secondary xylem development, vessel elements are the first cells to differentiate. After cellular expansion, there is the breakdown of the tonoplast, and later, the walls undergo lignification with pits and vestures formation, and the delimitation of the perforation plate. The last stage is the nucleus lise of the nucleus and hidrolisis of cytoplasm contents. Compared anatomy of xylem between Mogi Guaçu and Ilhéus showed significant differences regarding the following parameters: vessels tangential diameter, vessels diameter and length rate, vessel elements frequency mm², fiber walls thickness and length. Rays show a tendency to be wider in the specimens of Ilhéus, although not statistically significant. Regarding vessels, there is no difference between vestures of the external pit aperture; however vestures are more abundant in the internal apertures in samples collected in Mogí Guaçu and Campo Grande, where there is a longer period of water deficit in the soil per year. Phloem is composed of conductive and non conductive portions, corresponding to 1/4 up to 1/6 of secondary phloem. Sieve tube elements and parenchyma cells have a tangential alternate arrangement. In non conductive phloem sclereids are observed. In the beginning of its differentiation, sieve tube elements still possess nucleus, and non-disperse protein-P. In Pernambuco wood phloem there is no growth markers, as already detected some other tropical species.

INTRODUÇÃO GERAL

O pau-brasil é uma espécie de grande importância na história do país. Antes do descobrimento do Brasil já era utilizada pelos índios, mas foi extensivamente explorado e com a chegada dos portugueses.

O pau-brasil foi descrito por Lamarck em 1789 (*apud* Souza 1973), com nome de *Caesalpinia echinata*, pertencente à família das leguminosas, subfamília Caesalpinioideae. Souza (1973) descreveu que as árvores de pau-brasil possuem tronco quase reto (Fig. 1), áspero, com galhos sinuosos; folhas verdes luzentes, bipinadas (Fig. 2), podendo alcançar mais de 20 metros de altura, com circunferência superior a um 1,5 m; as flores são amarelas, providas de uma mancha púrpura no meio, discretamente perfumadas, de agradável aspecto (Fig. 3). Segundo Bueno (2002), os frutos são do tipo vagem, com muitos acúleos (Fig. 4), o que originou o epíteto específico, *echinus*, por ser parecido a um ouriço (Houaiss 2004).

A popularização do pau-brasil na Europa, a partir do século XVI, deveu-se principalmente às variadas matrizes obtidas de seus pigmentos, e não tanto à qualidade de sua pigmentação. Pelo tratamento ácido com vinagre ou fermento, os artesãos obtinham tons de vermelho, e através de sua alcalinização com cinzas, eram gerados os tons arroxeados (Rezende et al. 2004). Sabe-se que a brasilina ($C_{16}H_{14}O_5$), o corante presente na madeira do pau-brasil, precursor da brasileína, assume a coloração vermelho-coral após oxidação (Mainieri et al. 1983). Hoje o pau-brasil não tem mais a utilidade na fabricação de corantes, totalmente substituído por produtos sintéticos.

Posteriormente, a madeira de pau-brasil começou a ser explorada para a confecção de instrumentos musicais, principalmente arcos de instrumentos de corda, sendo extensivamente procurada no exterior, por apresentar as características ideais de ressonância, densidade, durabilidade, beleza (Fig. 5), extensão da curvatura, do peso, da espessura e de preciosas qualidades tonais, tornando-a insubstituível na confecção dos arcos de violino (Fig. 6) (Bueno 2002, Angyalossy et al. 2005).

Apesar do consenso entre produtores, de que o pau-brasil é a melhor madeira para a fabricação de arcos (Matsunaga et al. 1996), Wegst, em 2006, estudando madeiras usadas em instrumentos musicais, questiona o porquê da madeira de pau-brasil ser a preferida em relação a outras espécies. Relacionando a velocidade de propagação e o coeficiente de radiação do som, e a densidade, entre outros parâmetros, o autor observou que a madeira de pau-brasil preenche todos os requisitos necessários para a confecção de arcos de violino, apresentando os parâmetros ideais.

No período do descobrimento do Brasil, o pau-brasil era abundante no litoral brasileiro, ocorrendo do estado do Rio de Janeiro ao estado do Rio Grande do Norte (Fig. 7). Devido à extração intensa da madeira, as áreas remanescentes atualmente são restritas e a retirada de pau-brasil controlada (Mainieri 1960), inclusive a espécie foi incluída na lista de espécies ameaçadas em extinção pela Portaria IBAMA n.37-

N, em três de abril de 1992. Atualmente, o pau-brasil pode ser encontrado em população isoladas, sendo estas concentradas nos estados de Pernambuco, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Lewis 1998) (Fig. 2).

De acordo com Lewis (1998), *Caesalpinia echinata* não apresenta táxons infra-específicos, embora muitas populações mostrem diferenças marcantes no tamanho e na forma dos folíolos, na cor da madeira e no hábito. Três diferentes morfotipos de *C. echinata* estão sendo estudados por especialistas brasileiros (Andre Amorim, comunicação pessoal) e no futuro talvez a espécie possa ser subdividida em subespécies ou variedades. O primeiro morfotipo, o mais comum, apresenta comparativamente os menores folíolos e o cerne de coloração alaranjada, sendo encontrado em muitas localidades ao longo da costa brasileira. O segundo difere pouco do primeiro, apresentando, contudo, folíolos um pouco maiores e cerne com coloração laranja avermelhado. Deste morfotipo são conhecidos apenas representantes cultivados nos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo. O terceiro morfotipo apresenta folíolos muito grandes e cerne vermelho escuro, sendo encontrados naturalmente, até o momento, apenas em uma localidade na Bahia (Lewis 1998).

Em 2001, a fim de ampliar o conhecimento sobre o pau-brasil, importante espécie nacional, por iniciativa do Instituto de Botânica e outros colaboradores iniciou-se um Projeto Temático “*Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil): da semente à madeira, um modelo para estudos de plantas arbóreas tropicais brasileiras”, que teve como objetivo ampliar o conhecimento científico sobre aspectos da biologia e conservação, resgatando a importância histórica da árvore símbolo do Brasil. Esse projeto consistiu de três linhas de pesquisa, a saber: “História, distribuição geográfica, variabilidade e utilização no meio urbano”, “Propagação, desenvolvimento e silvicultura” e “Sazonalidade do crescimento da árvore e aspectos estruturais, físicos, químicos e biológicos da madeira”.

Os estudos do projeto foram, principalmente, focados no Arboreto Experimental de pau-brasil na Reserva Biológica do Instituto de Botânica em Mogi Guaçu, onde foram plantadas cerca de 300 árvores (Fig. 8), visando estudos dendrométricos e fenológicos (Aguiar 1996). Dentro da linha “Sazonalidade do crescimento da árvore e aspectos estruturais, físicos, químicos e biológicos da madeira”, foi realizado o acompanhamento fenológico e o estudo da atividade cambial nesses indivíduos, além da anatomia da madeira do caule.

Os dados de anatomia do caule desses espécimes reflorestados foram comparados à anatomia de amostras usadas na confecção de arcos de violino, como também com outras madeiras possíveis substitutas do pau-brasil para este mesmo fim, com o objetivo de encontrar uma relação entre as características da madeira que a tornam única na confecção de arcos, resultando na publicação do artigo “Madeira utilizadas na fabricação de arcos instrumentos de corda: aspectos anatômicos” (Angyalossy et al. 2005).

Segundo Kageyama (1987), a conservação *in situ* é considerada ideal para as espécies arbóreas. Levando-se em consideração que o Arboreto Experimental representa uma situação *ex situ*, esse trabalho

teve como objetivo estudar espécimes plantados em uma área de ocorrência natural (Fig. 9), na região de Ilhéus, Bahia, de idade aproximada aos de Mogi Guaçu, a fim de comparar espécimes plantados nas duas áreas, trazendo informações sobre a similaridade da espécie *in situ* e *ex situ*, que podem colaborar na conservação da espécie.

Este trabalho está dividido em capítulos, como se segue, abordando aspectos sobre a sazonalidade da atividade cambial, desenvolvimento do xilema, anatomia das guarnições dos elementos de vaso, a anatomia da madeira, e o estudo da estrutura e desenvolvimento do floema de pau-brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, F.F.A. & R.A. Pinho. 1996. Pau brasil – *Caesalpinia echinata* Lam. São Paulo, Instituto de Botânica. Folheto 18.
- Angyalossy, V., E. Amano. & E.S. Alves. 2005. Madeira utilizadas na fabricação de arcos instrumentos de corda: aspectos anatômicos. *Acta Botanica Brasilica* 19: 819-834.
- Bueno, E. 2002. Pau-brasil. Axis Mundi, São Paulo.
- Houaiss, A. 2001. Dicionário Houaiss Da Língua Portuguesa. Objetiva, São Paulo.
- Kageyama, P.Y. 1987. Conservação “*in situ*” de recursos genéticos de plantas. *IPEF* 35: 7-37.
- Lewis, G.P. 1998. A revision of the Poiciarella - Erythrostemon Group. Kew, Royal Botanic Garden.
- Mainieri, C., J.P. Chimelo & V. Angyalossy. 1983. Manual de identificação das principais madeiras comerciais brasileiras. São Paulo, Promocet.
- Matsunaga, M., Sugiyama, M., Minato, K. & Norimoto, M. 1996. Physical and mechanical properties required for violin bow materials. *Holzforschung* 50: 511-517.
- Rezende C.M., V.F.S. Corrêa, A.V.M. Costa, B.C.S. Castro & R.J.V. Alves. 2004. Constituintes químicos voláteis das flores e folhas do pau-brasil (*Caesalpinia echinata*, Lam.). *Química Nova* 27: 414-416.
- Souza, O.M.F. 1973. Pau-brasil – esse ilustre desconhecido. *Revista do Departamento de Cultura, Secretaria de Estado de Educação e Cultura, Governo do Estado de Pernambuco* 7: 63-71.
- Wegst, U.G.K. 2006. Wood for sound. *American Journal of Botany* 93: 1439–1448.

Fig. 1-4. Pau-brasil. **1.** Árvore com cerca de 25 metros de altura. Tronco reto e galhos tortuosos. **2.** Folhas compostas bipinadas tirada do Herbário Cepec-Ceplac. **3.** Flores amarelas com o centro avermelhado. **4.** Fruto achatado não maduro com muitos acúleos.

Fig. 5-8. Pau-brasil. **5.** Madeira de pau-brasil com cor laranja-avermelhado. **3.** Varetas e arcos de violino de pau-brasil. **6.** Distribuição de *Caesalpinia echinata*, demonstradas pelos triângulos vermelhos (Lewis 1999). **7.** Arboreto Experimental de pau-brasil da Reserva Biológica do Instituto de Botânica de São Paulo. Foto: Edenise Segala Alves. **8.** Espécimes em área de ocorrência natural (Fazenda Alegria, Ilhéus, BA).

SAZONALIDADE DA ATIVIDADE CAMBIAL DE PAU-BRASIL (*CAESALPINIA ECHINATA*, LEGUMINOSAE) EM DIFERENTES AMBIENTES

RESUMO

No período do descobrimento do Brasil, *Caesalpinia echinata* ocorria em toda a costa Atlântica, entretanto, atualmente só há algumas populações isoladas. A espécie é, atualmente, ameaçada de extinção. Neste trabalho foram analisados espécimes plantados no estado de São Paulo, fora de seu ambiente natural, assim como espécimes plantados no estado de Bahia, área natural de ocorrência. Coletas periódicas foram realizadas durante dois anos. Dados fenológicos da espécie e dados ambientais, como pluviosidade, temperatura e fotoperíodo foram relacionados aos dados de atividade do câmbio. A atividade do câmbio é indicada pela presença de figuras mitóticas e fragmoplastos, mas também, apesar de não ser uma comprovação direta, pelas paredes tangencias recém-formadas da zona cambial. O período inativo é evidenciado pela presença de uma transição repentina entre as células da zona cambial e as células diferenciadas do xilema. A atividade do câmbio é diferente entre os espécimes das duas áreas. Nos espécimes de Bahia, o período em que o câmbio está ativo é mais longo, com cerca de dez meses, do que nos espécimes localizados em São Paulo, onde o câmbio é ativo por cerca de seis meses. Observou-se uma relação entre a atividade cambial e a disponibilidade hídrica no solo nas duas áreas. Nos espécimes de Mogi Guaçu foi observada uma forte relação entre a reativação do câmbio e a brotação de folhas. Não foram encontradas relações significativas entre a atividade do câmbio e o fotoperíodo.

Palavras-chave: atividade cambial, sazonalidade, *Caesalpinia echinata*, formação de xilema, formação de floema

ABSTRACT

In the period of the discovery of Brazil, *Caesalpinia echinata* had a wide occurrence along the Atlantic coast; however, nowadays it is only known from some remaining isolated populations. Nowadays the species is threatened of extinction. In this work planted specimens were analyzed, from the state of São Paulo, out of its natural habitat, as well as specimens planted in the state of Bahia, its natural area of occurrence. Periodic collections were realized for two years. Phenologic data as well as environmental data, such as precipitation, temperature and photoperiod were correlated to cambium activity data. Cambium activity is indicated by the presence of mitotic figures and phragmoplasts, but also, in spite of not being a direct indicative, for the presence of recently formed tangential walls of cambium cells. The inactive period is evidenced by the presence of a sudden transition between cambium cells zone and differentiated xylem cells. Cambium activity is different among the specimens of the two areas. In the specimens of Bahia, the active cambium period longer, lasting for about ten months, while specimens collected in São Paulo the cambium is active for about six months. A correlation was observed between cambium activity and water availability in the soil between the two areas. In Mogi Guaçu specimens there is a strong relationship between cambium reactivation and the budding of new leaves. They were not found significant correlation between cambium activity and the photoperiod in the present work.

Key-words: cambial activity, seasonality, *Caesalpinia echinata*, wood formation, phloem formation

INTRODUÇÃO

A sazonalidade da atividade cambial é ainda uma linha de pesquisa pouco explorada no Brasil, sendo escassos os trabalhos publicados com espécies brasileiras. Algumas técnicas empregadas utilizam métodos dinâmicos e estáticos, como descritos por Fahn et al. (1981).

Entre os métodos dinâmicos mais usados, estão a medição da atividade do câmbio através das cintas dendrométricas e as marcações cambiais.

Dentre os trabalhos realizados com cintas dendrométricas destacam-se os de Botosso & Vetter (1991), que estudaram oito espécies na região amazônica; e os de Maria (2002) e Ferreira (2002), que analisaram espécies da floresta semi-decídua, e concluíram que as taxas de crescimento em circunferência do tronco estão estritamente relacionadas à precipitação, especificamente aos períodos chuvosos.

Outro método dinâmico empregado é a marcação do câmbio, através de janelas (Mariaux 1969) ou pregos (Shiokura 1989), em diferentes períodos, com posterior observação dos efeitos causados no xilema secundário. Nesta linha, Luchi (1998) estudou a sazonalidade do xilema em *Hymenea courbaril* na região de Mogi Guaçu (SP), por um período de dois anos e meio, tendo utilizado a técnica de marcação com pregos no caule. A autora observou a formação de camadas de crescimento anuais no xilema, delimitadas pelo parênquima terminal, formado no início da estação seca.

As análises podem ser combinadas, utilizando-se dois parâmetros correlacionados, como mostra o estudo realizado por Smith (1994), que analisou o crescimento de cinco espécies no sul da Bahia. Através de marcações cambiais por janelas, e análise de acréscimo radial de tecidos, utilizando faixas dendrométricas, o autor observou que a atividade cambial é contínua, porém com um período mais ativo no período chuvoso.

Os métodos estáticos caracterizam-se pela observação pontual da atividade cambial, através da análise da presença de camadas de crescimento em discos de madeira ou através de coletas periódicas de porções caulinares abrangendo o câmbio e o xilema. Entre os métodos estáticos mais utilizados estão a análise das camadas de crescimento e as coletas periódicas.

Analisando as camadas de crescimento de uma espécie com idade conhecida, pode-se inferir se esta é anual. Como no trabalho realizado por Santos Junior (2006), onde o autor observou que o parênquima em faixas em *Sterculia apetala* delimita camadas de crescimento anuais, em indivíduos de cerca de 95 anos.

Coleta periódica é o método estático mais utilizado, atualmente, nos estudos de atividade cambial no país. Entre eles podemos citar: Silva et al. (1991), que estudaram três espécies florestais na região de Viçosa; Cardoso (1991) e Tomazzelo & Cardoso (1999), que estudaram uma espécie introduzida, *Tectona grandis*, onde foi possível a distinção de dois períodos, um de atividade cambial e um de dormência; Marcati (2000) e Marcati et al. (2006) analisaram três espécies subtropicais: *Citharexylum myrianthum*, *Cedrela*

fissilis e *Copaifera langsdorffii*, observando que as camadas de crescimento do xilema, nestas espécies são anuais. Além disso, os autores verificaram que o câmbio é ativo no período chuvoso, ocorrendo, concomitantemente com o desenvolvimento de folhas novas; Coradin (2000) estudou espécies do Cerrado, observando que a sazonalidade está relacionada com o período chuvoso, e as camadas de crescimento não são constantes entre as espécies.

Levando-se em consideração o pequeno número de trabalhos no Brasil que tratam da sazonalidade sob o ponto de vista anatômico, além do fato de tais trabalhos serem escassos com espécies tropicais como um todo, no presente trabalho, pretende-se analisar a sazonalidade da atividade cambial de *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae) em dois ambientes distintos.

MATERIAL E MÉTODOS

O material foi coletado na Estação Experimental do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, localizado em Mogi Guaçu, coordenadas 22°15'02"S, 47°09'29"W, altitude de aproximadamente de 640 metros, região sudeste do país. As coletas em Ilhéus (BA) foram realizadas na Fazenda Alegria, coordenadas 14°47'42"S, 39°09'55"W, a 50 metros de altitude, região nordeste do país.

As observações fenológicas foram feitas mensalmente, no período de julho de 2001 a janeiro de 2004, em Mogi Guaçu, e em Ilhéus, no período de setembro de 2003 a outubro de 2005. O padrão de observação seguiu o proposto por Morellato-Fonzar (1987), com as adaptações realizadas por Luchi (1998) e Marcati (2000). Observaram-se as seguintes fenofases: i) brotação - presença de primórdios foliares até sua total expansão; ii) folhas normais - presença de folhas expandidas; iii) floração - presença de botões florais até as flores secas; iv) frutificação - presença de frutos até a sua queda; v) queda de folhas - envelhecimento e queda das folhas.

O diagrama climático foi confeccionado de acordo com a metodologia de Walter & Lieth (1960), com dados fornecidos pela Estação Experimental de Mogi Guaçu do Instituto Florestal do Estado de São Paulo e pelo Departamento de Climatologia do Centro de Pesquisas do Cacau, Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira de Ilhéus (BA). Para a delimitação dos períodos secos e chuvosos, também, utilizou-se o critério de Worbes (1995), que considera um período seco aquele que apresenta a pluviosidade acumulada menor que 60 mm/mês, por dois meses consecutivos. Na análise do fotoperíodo, devido à ausência dos dados de horas de luz por dia de Mogi Guaçu, utilizaram-se os dados da cidade de Piracicaba, coordenadas 22°42'30"S, 47°38'00", localizado a 546 de altura.

Para a delimitação dos períodos secos e chuvosos, também, utilizou-se o critério de Worbes (1995), que considera um período seco aquele que apresenta a pluviosidade acumulada menor de 60 mm/mês, por dois meses consecutivos.

Foram realizadas seis coletas, de dois espécimes, em cada área de estudo no período de julho de 2001 a outubro de 2003 em Mogi Guaçu, e de setembro de 2003 a junho de 2005, em Ilhéus (Tabela 1). Seguindo a metodologia de Amano & Angyalossy (submetido), que consiste na retirada de amostras com cerca de 2-3 cm³, utilizando-se uma furadeira elétrica sem fio, martelo e formão.

Após a coleta, o material foi imediatamente subdividido em amostras de 2cm³, fixadas em FAA (Berlyn & Miksche 1976) e em amostras de 5mm³, fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965), e colocado no dissecador à vácuo por aproximadamente 30 dias. Após a fixação, as amostras foram lavadas em água corrente por várias horas.

As amostras de 5mm³ foram desidratadas em série etanólica, incluídas e emblocadas Leica Historresin® (Leica Microsystem, Alemanha). Foram feitas secções transversais, longitudinais radiais e longitudinais tangenciais seriadas, com aproximadamente 4µm de espessura, em micrótomo rotativo Leica RM2145 (Leica Microsystem, Alemanha), utilizando-se navalhas de vidro. As secções foram coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão acetado pH 4,7 (O'Brien et al. 1965).

Secções ultrafinas com cerca de 60nm foram retiradas com o auxílio de um ultramicrotomo (Ultracut, Áustria) de amostras emblocadas em Spurr (Spurr 1969). As secções foram coradas com citrato de chumbo e acetato de uranila usando o equipamento automático de ultra-coloração LKB Bromma 2168 (LKB-Producter AB, Suécia). As observações foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão, JEOL JEM-1210 (Jeol, Japão) em voltagem de 80 kV e as imagens digitais foram tiradas usando a câmera Mega View III (Soft Imaging System, Alemanha).

Amostras de 2cm³, previamente amolecidas, foram seccionadas com aproximadamente 15 µm de espessura, em micrótomo de deslize Leica SM2000R (Leica Microsystem, Alemanha). As secções foram posteriormente, clarificadas em água sanitária 50% e coradas com safranina 1% em etanol 50% e azul de astra 1% em etanol 50% (Buckatsch 1972, modificado). Todas as secções foram desidratadas em série etanólica e acetato de butila, e montadas em lâminas permanentes com resina sintética: Bálsamo do Canadá ou Entellan®.

A presença de amido foi detectada com o reagente cloreto de zinco iodado (Jensen 1962).

As descrições anatômicas do xilema seguiram a terminologia recomendada pela Associação Internacional de Anatomistas de Madeira (IAWA Committe 1989). As características importantes do material foram registradas em fotomicroscópio Leica DMLB acoplado a equipamento digital de captura de

imagem Leica DFC 320 (Leica Microsystem, Alemanha). Para a análise estatística foi utilizado o programa SystatSystat Software Inc. (Califórnia, Estados Unidos).

RESULTADOS

DADOS CLIMÁTICOS E FENOLÓGICOS

Os dados climáticos e fenológicos dos espécimes estudados de Mogi Guaçu estão representados na figura 1 e os de Ilhéus, na figura 2. Os espécimes de cada área tiveram o mesmo comportamento fenológico, o que permitiu uma única representação gráfica das fenofases por área de observação.

Todos os espécimes, das duas regiões, apresentaram folhas adultas durante todo o período, mesmo durante a fenofase de queda de folhas. Durante o período de observações em Mogi Guaçu (SP), a espécie apresentou dois períodos de floração, no início do período de déficit hídrico no solo. Na metade desse período, momento de menor quantidade de água no solo, há a queda de folhas. A brotação tem início concomitante com o período de chuvas. O período seco é bem delimitado, tendo duração de dois a quatro seis meses, com início em março, abril ou maio e término em agosto, setembro ou outubro, dependendo do ano, quando se inicia o período de chuvas (Fig. 1).

Em Ilhéus (BA), o período de floração ocorreu no início do período de excedente hídrico no solo, nos meses de fevereiro ou março. Não foi observado um período onde houvesse queda de folhas significativa, que pudesse caracterizar esse estágio fenológico, porém o brotamento foi detectado no período de reposição ou início de excedente hídrico no solo. Os períodos longos chuvosos são freqüentes, e períodos de déficit hídrico no solo têm curta duração - um mês, observando-se apenas no ano de 2004 um período seco com dois meses de duração.

O fotoperíodo em Mogi Guaçu possui dois períodos distintos, um com mais horas de sol e um com menos horas de sol. O período de maior quantidade de horas de sol ocorre geralmente de setembro a abril. Enquanto que em Ilhéus, embora a variação seja tão bem delimitada, ocorre uma diminuição da quantidade de horas com sol nos meses de janeiro e fevereiro (Fig. 3).

ATIVIDADE DO CÂMBIO

O câmbio ativo foi identificado através da presença de figuras mitóticas nas iniciais radiais (Fig. 5) e fusiformes (Fig. 6) e, fragmoplastos (Fig. 7 a 10).

Na comparação dos parâmetros para a delimitação dos períodos ativos e inativos do câmbio, observou-se que o número de camadas da zona cambial não fornece informações sobre sua atividade. O número de camadas da zona cambial variou de três a oito células nas amostras com câmbio ativo e de três a sete células nas amostras com o câmbio inativo, e não apresentam estatisticamente, diferença significativa

como observado na figura 4. A presença de paredes celulares com o aspecto de colar de contas (Fig. 15) e a ausência de figuras mitóticas e fragmoplastos indicam a inatividade do câmbio. Por outro lado, a presença de paredes tangenciais recém-formadas na zona cambial, através de divisões periclinais (Fig. 19,20,22) e eventualmente anticlinais (Fig. 21, 22) estão relacionadas ao câmbio ativo. Divisões anticlinais em forma de “S” também foram observadas (Fig.15). Já a presença de células do xilema em diferenciação (Fig. 16, 17, 19, 23) pode ocorrer em ambos períodos de atividade cambial: ativo e inativo.

DESCRIÇÃO ANATÔMICA DOS PERÍODOS

Os períodos de coleta de ambas as áreas, com respectivos dados de fenologia da espécie, condições ambientais e atividade cambial estão na Tabela 1.

Os espécimes em Mogi Guaçu apresentaram períodos ativos de seis meses, que têm início em outubro e término em abril. Nas amostras coletadas em outubro (2003), observa-se o câmbio ativo produzindo novas células xilemáticas e floemáticas, onde são observados elementos de vaso em diferenciação com a parede secundária indiferenciada. Já na amostra de dezembro (2001), período de maior quantidade de água no solo, o câmbio está ativo e está composto por duas a seis camadas de células; que formou várias camadas de células xilemáticas, estando elementos de vasos em fase de deposição da parede secundária (Fig. 11, 12). O período inativo do câmbio é observado nas amostras de abril (2002), julho (2001), setembro (2001 e 2002), observando-se que todas as camadas junto à zona cambial diferenciadas (Fig. 13). Na amostra de abril (2002), são observadas células xilemáticas, formadas em março, em diferenciação, porém o câmbio está inativo e possui as paredes com o aspecto de colar-de-contas (Fig. 15). Em outubro há a retomada da atividade cambial, quando se inicia o período chuvoso.

Os espécimes de Ilhéus apresentaram período de atividade cambial durante cerca de dez meses, e período inativo por dois meses, de acordo com a pluviosidade, se menor que 60 mm. Na amostra coletada em junho (2005), o câmbio encontra-se ativo, composto por uma camada de três a sete células; são observadas muitas células xilemáticas em diferenciação junto ao câmbio (Fig. 16-17). Utilizando-se o teste para a detecção de amido, observa-se que este está presente nas cambiais radiais, assim como no raio floemático e xilemático (Fig. 18). Na amostra de setembro (2003), o câmbio também está composto por uma camada de três a sete células; observam-se muitas paredes tangenciais (Fig. 19-20) e radiais (Fig. 21-22) recém-formadas na zona cambial.

Foi observado apenas um período de inatividade do câmbio, na amostra de novembro de 2003, corresponde a um período de perda de água no solo, onde são observadas algumas células xilemáticas em estágios finais de diferenciação (Fig. 23). As células cambiais radiais possuem amido, bem como as floemáticas, detectados por lugol (Fig. 24). Em secção longitudinal radial, tem-se um bom exemplo das células iniciais radiais, difícil de ser detectada em outras amostras (Fig. 25); nessa amostra não são

observadas recentes divisões nem figuras mitóticas e fragmoplastos. A amostra de dezembro de 2004 apresenta o câmbio ativo (Fig. 26), evidenciado pela presença de fragmoplasto (Fig. 28). O câmbio possui de duas a seis camadas de células, sendo possível neste material distinguir as iniciais (Fig. 27). Apesar de ativo neste período, observa-se no xilema uma mudança abrupta entre as células completamente diferenciadas e as células recém-formadas em início da deposição da parede secundária (Fig. 26).

DISCUSSÃO

A atividade cambial é definida pela presença de divisões periclinais e anticlinais (Esau 1967), sendo que fragmoplastos e figuras mitóticas são os primeiros eventos a serem observados (Farrar & Evert 1997a, b). Estes são parâmetros diretos que comprovam a atividade do câmbio. Na literatura, outros parâmetros indiretos são utilizados, referentes ao câmbio e à zona cambial ou ao xilema e ao floema secundário adjacente.

Entre os parâmetros indiretos, na determinação do período ativo do câmbio, está o número de camadas da zona cambial. Este parâmetro consiste em quantificar o número de células da fileira radial da zona cambial, formada pela inicial e suas derivadas, relacionando-o de forma positiva com a atividade cambial. Este método foi adotado por muitos autores (Paliwal & Prasad 1970; Ghouse & Hashimi 1979; Dave & Rao 1982; Villalba 1985; Ajmal & Iqbal 1987; Priya & Bhat 1999, Rao & Rajput 1999; Tomazello & Cardoso 1999; Rao & Rajput 2001; Venugopal & Liangkuwang 2007). O maior número de camadas na zona cambial ocorre, segundo Fahn & Werker (1990), devido à taxa de divisão celular ser maior que a taxa de diferenciação, e em períodos menos ativos essa taxa entraria em equilíbrio. Porém, como o mencionado por Larson (1994), esse parâmetro é duvidoso, uma vez que a delimitação da zona cambial é bastante difícil e o critério entre a inclusão de uma camada derivada pode variar entre os autores. Silva et al. (1991), por exemplo, optaram por medir em micrômetros a largura da zona cambial e deste modo inferiram que uma das espécies estudadas possuía o câmbio sempre ativo, por não encontrarem variação nesse valor.

Coradin (2000), estudando a atividade cambial de dez espécies do Cerrado, observou que a diferença entre o número de camadas do câmbio no período ativo e inativo era pequena. Tais resultados também foram encontrados em *Cordia trichotoma* (Amano 2002), que observou o mesmo número de camadas no câmbio inativo em relação ao câmbio ativo.

Na comparação aqui realizada com amostras de pau-brasil, e tendo como parâmetro de avaliação da atividade do câmbio a presença de figuras mitóticas ou fragmoplastos, não foi observada uma diferença significativa no número de camadas da zona cambial.

A atividade cambial também foi observada em alguns estudos pela presença de células indiferenciadas floemáticas, mas, principalmente, por células xilemáticas (Fahn 1958; Waisel & Fahn 1965;

Amobi 1973; Marcati 2000). Esse parâmetro consiste na observação das camadas não diferenciadas no xilema, o que indica que o câmbio está produzindo novas células (Fahn & Werker 1990). Porém, células formadas num período anterior à parada da atividade do câmbio, podem continuar a se diferenciar. Tal situação foi observada neste trabalho (figuras 23 e 24), numa amostra coletada em novembro (Ilhéus, BA), em que o câmbio está inativo, mas as células xilemáticas ainda estão em estágios de diferenciação.

O espessamento das paredes tangenciais das células, que compõem a zona cambial, também foi um critério utilizado para o estudo da atividade cambial em algumas espécies (Paliwal et al. 1975; Villalba 1985), podendo estar presente em períodos inativos do câmbio. Em *Caesalpinia echinata* essa característica é observada claramente na amostra de Ilhéus, porém de difícil observação em Mogi Guaçu, o que a torna sem valor de diagnose.

Foi observada a presença de amido nas células cambiais radiais de *Caesalpinia echinata* ao longo do ano, tanto em períodos ativos quanto inativos. A presença de alguns compostos, como amido, tanino e cristais, podem variar ao longo do ano, o que segundo alguns estudos podem indicar a atividade do câmbio (Fahn & Werker 1990). Fahn (1958), estudando espécies do deserto, e Coradin (2000), estudando espécies do Cerrado *sensu stricto*, ambos ambientes com períodos secos severos, observaram a presença de amido em células cambiais ou células adjacentes durante a parada atividade cambial ou a maior quantidade deste.

Alguns autores mencionam a sazonalidade de formação de cristais nos períodos de dormência e atividade do câmbio (Rao & Dave 1984; Deshpande & Vishwakarma 1992; Marcati 2000). Deshpande & Vishwakarma (1992) observaram em *Gmelina arborea* uma sazonalidade na presença de cristais nas células fusiformes, presentes nos meses em que o câmbio está dormente, e ausentes durante o período ativo do câmbio. Por outro lado, os autores mencionam que as iniciais radiais possuem cristais durante todo o ano, variando apenas na sua frequência. Marcati & Angyalossy (2005) também observaram cristais nas iniciais radiais de *Citharexylum myrianthum* no período não favorável.

Na zona cambial, no momento de atividade, são observadas células expandidas e o abaulamentos das paredes celulares tangenciais. Essa característica já foi observada por muitos autores para diversas espécies (Evert 1960; Dave & Rao 1982; Rao & Rajput 1999; Marcati 2000; Amano 2002). Essa característica pode indicar um câmbio ativo devido à menor espessura das paredes das iniciais cambiais, assim como das células recém-formadas, porém com a fragilidade do tecido meristemático, esses abaulamentos podem representar problemas de técnicas quanto à coleta e processamento do material.

Paredes tangenciais recém-formadas na zona cambial foram observadas por Marcati (2000) em *Citharexylum myrianthum*, indicando a atividade do câmbio pois evidencia a divisão periclinal. O mesmo foi observado em *Cordia trichotoma* (Amano 2002), no período ativo do câmbio. No presente trabalho, onde diferentes parâmetros foram testados, a presença de paredes tangenciais recém-formadas foi o único com

relação positiva às figuras mitóticas e fragmoplastos, o que pode ser considerado um parâmetro seguro na definição de um câmbio ativo.

Segundo Worbes (1995), a inatividade do câmbio e a presença de anéis de crescimento em espécies tropicais pode ser induzida anualmente por períodos de estresse, que podem ser as baixas temperaturas em regiões temperadas e elevadas, bem como pelo período seco ou de inundação em regiões tropicais. O autor delimita áreas geográficas de distribuição da sazonalidade, existindo três categorias, de acordo com a camada de crescimento do xilema: sem a formação de camada de crescimento, com a formação de uma camada anual e outro com a formação de dois anéis por ano. O autor menciona ainda que, baseado nas suas observações e de outros autores, um período de dois a três meses com precipitação menor de 60 mm induz a formação de uma camada de crescimento anual.

Em *Caesalpinia echinata* o câmbio possui um período ativo e inativo tanto em Mogi Guaçu (SP) como em Ilhéus (BA), porém variando de acordo com as condições ambientais locais. O câmbio é ativo em Ilhéus por cerca de dez meses e em Mogi Guaçu, por cerca seis meses. A duração do período ativo do câmbio em Mogi Guaçu corrobora os dados encontrados para outras espécies tropicais localizadas em ambientes com períodos sazonais de precipitação: *Dillenia indica*, ativo por seis meses (Venugopal & Liangkuwang 2007); *Polyalthia longifolia*, ativo por seis meses e meio (Ghouse & Hashimi 1979); *Prosopis flexuosa* ativo por seis meses (Villalba 1985); *Strebulus asper* ativo por seis meses e meio (Ajmal & Iqbal 1987).

Para os espécimes de Ilhéus (BA) os dados aqui observados não comprovam o que foi observado por Smith et al. (1997), num estudo com *C. echinata* entre outras cinco espécies, em Santa Cruz de Cabralia, no estado da Bahia. Os autores observaram uma atividade contínua do câmbio, com períodos de redução de sua atividade.

Neste trabalho, durante a inatividade do câmbio, não ocorre a formação de novas células. Aquelas formadas no período anterior à parada se encontram em estágios finais de diferenciação, sendo observada durante o maior tempo do período inativo completamente diferenciadas justapostos à zona cambial. Em Mogi Guaçu, a inatividade do câmbio está relacionada à queda de folhas, o que também foi observado por Villalba (1985) em *Prosopis flexuosa*, espécie decídua, e Marcati et al. (2006) em *Cedrela fissilis*, espécie semi-decídua. A espécie em Ilhéus (BA) não tem período de queda de folhas, sendo sempre-verde, e a inatividade do câmbio é causada pela baixa disponibilidade hídrica no solo.

Os trabalhos com espécies tropicais (Paliwal & Prasad 1970, Amobi 1973, Ghouse & Hashimi 1979, Dave & Rao 1982, Siddiqi 1991, Rao & Rajput 1999, Marcati et al. 2006) relacionam o início da atividade cambial com a brotação de novas folhas. Villalba (1985) complementa que a ativação do câmbio ocorre um mês depois da brotação de folhas, constatação confirmada para *Tectona grandis* (Venugopal & Krishnamurthy 1987) e *Cordia trichotoma* (Amano 2002).

Botosso & Vetter (1991), estudando oito espécies arbóreas da Amazônia, observaram, através do uso de cintas dendrométricas, que o crescimento em circunferência das árvores tropicais está estritamente ligado à precipitação pluviométrica. Os autores observaram um rápido crescimento no início do período chuvoso, baixo ou ausente nos períodos secos. Também Mariaux (1969), utilizando-se de cintas dendrométricas e marcações periódicas do câmbio em *Terminalia superba* (Combretaceae), observou que a formação do xilema é anual, e possui uma relação positiva com a pluviosidade.

Para as espécies que apresentam anel poroso ou semi-poroso, observou-se que estes são formados no início do período chuvoso, em *Tectona grandis* (Venugopal & Krishnamurthy 1987, Cardoso 1991, Tomazzelo & Cardoso 1999, Rao & Rajput 1999), *Citharexylum myrianthum* Marcati (2000) e *Cedrela fissilis* (Marcati et al. 2006) e *Pterodon pubescens*, *Qualea grandiflora*, *Q. parviflora*, *Roupala montana* (Coradin 2000).

A atividade do câmbio, ou a maior atividade durante o período chuvoso, é amplamente descrita na literatura. Por outro lado, Hazlett (1987), estudando três espécies na Costa Rica, observou em *Penctaclethra maculoba*, que o câmbio é mais ativo no período seco do que no período chuvoso. O mesmo comportamento da atividade cambial foi observado em *Dalbergia sissoo* (Paliwal & Prasad 1970), onde a maior atividade do câmbio é observada no período seco do ano, e o período ativo do câmbio está relacionado a altas temperaturas e dias longos.

O fotoperíodo é um tema ainda pouco explorado nos estudos da atividade cambial e muitos dos trabalhos são realizados em condições experimentais em laboratórios, utilizando plantas jovens. Tais observações demonstram que a dormência do câmbio é induzida por dias-curtos (Waireng & Roberts 1956) e que este é reativado com os dias longos (Waisel & Fahn 1965).

Além do trabalho realizado de Paliwal & Prasad (1970), relações com o fotoperíodo foram encontradas por Dave & Rao (1982) em *Gmelina arborea*, porém a atividade cambial está negativamente relacionada ao fotoperíodo, onde a pluviosidade é o principal fator que influencia a atividade do câmbio.

Em *Caesalpinia echinata*, não foram encontradas fortes relações entre a atividade cambial e o fotoperíodo, o que corrobora o encontrado por Smith et al. (1997) para a mesma espécie no estudo realizado também no sul da Bahia. Em Mogi Guaçu (SP), foi encontrada uma relação positiva entre a variação de fotoperíodo e da atividade do câmbio, porém os dados de fotoperíodo seguem a sazonalidade do fotoperíodo, que possui o mesmo padrão da sazonalidade da disponibilidade hídrica no solo.

Com esse estudo observamos que *Caesalpinia echinata* possui sazonalidade na atividade do câmbio nas duas regiões estudadas, embora com duração diferente, principalmente relacionada à disponibilidade hídrica no solo.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem a Universidade Estadual de Santa Cruz, Dr. Delmira Costa pelo apoio logístico e pela infraestrutura, a Fazenda Alegria (BA) e Estação Experimental do Instituto de Botânica de São Paulo, pela autorização de uso da área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajmal, S. & M. Iqbal. 1987. Annual rhythm of cambial activity in *Strebulus asper*. IAWA Journal 8: 275-283.
- Amano, E. & V. Angyalossy. submetido. A new sampling method for cambium studies in tropical trees. IAWA Journal.
- Amano, E. 2002. *Cordia trichotoma*, Boraginaceae: caracterização e sazonalidade na formação do xilema e do floema. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Amobi, C.C. 1973. Periodicity of wood formation in some trees of lowland rainforest in Nigeria. Annals of Botany 37: 211-218.
- Berlyn, G.P. & J.P. Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames.
- Botosso, P.C. & R.E. Vetter. 1991. Alguns aspectos sobre a periodicidade e taxa de crescimento em 8 espécies arbóreas tropicais de floresta de Terra Firme (Amazônia). Revista do Instituto Florestal 3: 163-180.
- Cardoso, N.S. 1991. Caracterização da estrutura anatômica da madeira, fenologia e relações com a atividade cambial de árvores de teca (*Tectona grandis* L.F.) – Verbenaceae. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Coradin, T.R.C. 2000. Formação de Anéis de Crescimento e Sazonalidade da Atividade Cambial de dez Espécies Lenhosas do Cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília.
- Dave Y.S. & K.S.Rao 1982. Seasonal activity of the vascular cambium in *Gmelina arborea* Roxb. IAWA Bulletin n.s. 3: 59-65.
- Deshpande, B.P. & A.K. Vishwakarma. 1992. Calcium oxalate crystals in the fusiform cells of the cambium of *Gmelina arborea*. IAWA Bull. n.s. 13: 297-300.
- Esau, K. 1967. Plant Anatomy. 2^a. ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Fahn, A. & E. Werker. 1990. Seasonal cambial activity. In: M. Iqbal (ed.), The vascular cambium: 139-157. Reserarch Studies Press, John Wily & Sons Inc. England, Tauton, Somerset.
- Fahn, A. 1958. Xylem sctrure and annual rhythm of development in trees and shrubs of the desert. I. *Tamarix aphylla*, *T. jordanis* var. *negevensis*, *T. gallica* var. *marismortui*. Tropical Woods 109: 81-94.
- Fahn, A., J. Burkley, K.A. Longman, A. Mariaux & P.B. Tomlinson. 1981. Possible contributions of wood anatomy to the determination of the age of tropical trees. In: F.H. Bormann & G. Berlyn (eds.), Age and growth of

- tropical trees: new directions for research: 31-54. Yale University School of Forest and Environment Studies, Bulletin 94.
- Farrar, J.J. & R.F. Evert. 1997a. Ultrastructure of cell division in the fusiform cells of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. *Trees* 11: 191-202.
- Farrar, J.J. & R.F. Evert. 1997b. Ultrastructure of cell division in the fusiform cells of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. *Trees* 11: 203-215.
- Ferreira, L. 2002. Periodicidade do crescimento e formação da madeira de algumas espécies arbóreas de Florestas Estacionais Semidecíduas da região sudeste de estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Ghouse, A.K.M. & S. Hashimi. 1979. Longevity of phloem in *Polyalthia longifolia* Benth. et Hook. *Bulletin Torrey Botanical Club* 106: 182-184.
- Hazlett, D.L. 1987. Seasonal cambial activity for *Pentaclethra*, *Goelthasia*, and *Carapa* trees in a Costa Rican Lowland Forest. *Biotropica* 19: 357-360.
- IAWA Committee. 1989. List of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bulletin* 10: 219-332.
- Jensen, W.A. 1962. Botanical histochemistry, principles and practice. W.H. Freeman, Sao Francisco.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Larson, P.R. 1994. The vascular cambium development and structure. Springer Verlag, Heidelberg.
- Luchi, A.E. 1998. Periodicidade de crescimento em *Hymenaea courbaril* L. e anatomia ecológica do lenho de espécies de mata ciliar. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Marcati, C.R. & V. Angyalossy. 2005. Seasonal presence of acicular crystals in the cambial zone of *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae)". *IAWA Journal* 26(1): 93-98.
- Marcati, C.R. 2000. Sazonalidade de espécies arbóreas. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Marcati, C.R., V. Angyalossy, & R.F. Evert. 2006. Seasonal variation in wood formation of *Cedrela fissilis* (Meliaceae). *IAWA Journal* 27: 199-211.
- Maria, V.R.B. 2002. Estudo da periodicidade do crescimento, fenologia e relação com a atividade cambial de espécies arbóreas tropicais de Florestas Estacionais Semidecíduas. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Mariaux, A. 1969. La périodicité des cernes dans le bois de limba. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 128: 39-54.
- O'Brien, T.P., N. Feder & M.E. McCully. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Paliwal, G.S., N.V.R.K. Prasad, V.S. Sajwan & S.K. Aggarwal. 1975. Seasonal activity of cambium in some tropical trees. II. *Polyalthia longifolia*. *Phytomorphology* 24: 478-484.

- Paliwal, G.S. & N.V.S.R.K. Prasad. 1970. Seasonal activity of cambium in some tropical trees. I. *Dalbergia sisso*. *Phytomorphology* 20: 333-339.
- Rao, K.S & K.S. Rajput. 2001. Relationship between seasonal cambial activity, development of xylem and phenology in *Azadirachta indica* in different forest of Gujarat State. *Annual Forest Science* 58: 691-698.
- Rao, K.S & K.S. Rajput. 1999. Seasonal behaviour of vascular cambium in Teak (*Tectona grandis*) growing in moist deciduous and dry deciduous forests. *IAWA Journal* 20: 85-93.
- Santos Júnior, A. 2006. Aspectos populacionais de *Sterculia apetala* (Jacq.) Karst (Sterculiaceae) como subsídios ao plano de conservação da arara-azul no sul do Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- Shiokura, T. 1989. A method to measure radial increment in Tropical trees. *IAWA bulletin n.s.* 10: 147-154.
- Siddiqi, T.O. 1991. Impact of seasonal variation on the structure and activity of vascular cambium in *Ficus religiosa*. *IAWA Bulletin n.s.* 12: 177-185.
- Silva, E.A.M., L.A.R., Pereira, A.L. Pinheiro & R.S. Ramalho. 1991. Variação sazonal na atividade cambial de três espécies florestais na região de Viçosa- MG. *Revista Seiva, Viçosa* 50: 49-52.
- Smith, R.B. 1994. Periodicidade do crescimento do tronco de cinco espécies no sul da Bahia. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Smith, R.B., E.A.M. Silva, P.T. Alvim & M. Maestri. 1997. Periodicidade do crescimento do tronco de cinco espécies no sul da Bahia, Brasil. *Agrotrópica* 9: 99-106.
- Tomazello, M. & Cardoso, N. S. 1999. Seasonal variations of the vascular cambium of Teak (*Tectona grandis* L.) in Brazil. In: Wimmer, R. & R.E. Vetter (eds.), *Tree-Ring Analysis – Biological, Methodological and Environmental Aspects*: 147-154. CABI Publishing. New York.
- Venugopal, N. & Liangkuwang. 2007. Cambial activity and annual rhythm of xylem production of elephant apple tree (*Dillenia indica* Linn.) in relation to phenology and climatic factor growing in sub-tropical wet forest of northeast India. *Trees* 21:101-110.
- Venugopal, N. & K.V. Krishnamurthy. 1987. Seasonal production of secondary xylem in the twigs of certain tropical trees. *IAWA Bulletin n.s.* 8: 31-40.
- Vilalba, R. 1985. Xylem structure and cambial activity in *Prosopis flexuosa* DC. *IAWA Bulletin n.s.* 6: 119-130.
- Waireng, P.F. & D.L. Roberts. 1956. The photoperiodic control of cambial activity in *Robinia pseudoacacia*. *New Phytologist* 55: 356-366.
- Waisel, Y. & A. Fahn. 1965. The effects of environment on wood formation and cambial activity in *Robinia pseudacacia*. *New Phytologist* 64: 436-442.
- Walter, H. & H. Lieth. 1960. *Klimadiagramm weltatlas*. Fisher Verlag. Jena.
- Worbes, M. 1995. How to measure growth dynamics in tropical trees. A review. *IAWA Journal* 16: 337-351.

Tabela 1. Dados das duas áreas de coleta e a presença de atividade ou não do câmbio nos períodos de coleta.

Fazenda Campininha, Mogi-Guaçu, SP (22S 55', 46W 57')						
Mês	Julho 2001	Setembro 2001	Dezembro 2001	Abril 2002	Setembro 2002	Outubro 2003
Fenologia	Queda de folhas	Folhas adultas	Folhas adultas	Floração	Folhas adultas	Folhas adultas
Pluviosidade (mm)	3,6	82,1	279,8	6,9	61,3	68,3
Temperatura (°C)	17,4	20,3	22,4	22,7	19,4	22,1
Fotoperíodo (h/d)	4,6	5,7	6,8	6,5	5,8	6,2
Período hídrico	déficit	reposição	excedente	déficit	perda	reposição
Atividade do câmbio	inativo	inativo	ativo	inativo	inativo	ativo

Fazenda Alegria, Ilhéus, BA (14S 47' 20", 39W 02' 58")						
Mês	Setembro 2003	Novembro 2003	Abril 2004	Dezembro 2004	Mai 2005	Junho 2005
Fenologia	Folhas adultas	Folhas adultas	Folhas adultas	Folhas adultas	Folhas adultas	Folhas adultas
Pluviosidade (mm)	65,3	61,1	139,4	22,5	216,8	207,0
Temperatura (°C)	22,3	24,4	24,3	25,1	23,6	22,6
Fotoperíodo (h/d)	5,8	5,7	6,5	6,4	5,0	5,3
Período hídrico	perda/ reposição	perda	excedente	déficit	excedente	excedente
Atividade do câmbio	ativo	inativo	ativo	ativo	ativo	ativo

Fig. 1-2. Diagrama climático e dados fenológicos. **1.** Mogi Guaçu, SP. **2.** Ilhéus, BA.
 Fenofases: ♣ brotação, ▲ folhas adultas, * queda de folhas, ☼ floração, ● frutificação.
 Período hídrico: ■ excedente, ▨ reposição/perda de água no solo, déficit hídrico no solo.

3

Fig. 3. Fotoperíodo de Mogi Guaçu, SP (2001-2004) e de Ilhéus, BA (2002-2005). Marcadores indicam as coletas.

4

Fig. 4. Análise estatística realizada com o Teste t para o número de camadas de células da zona cambial em período ativo e inativo do câmbio, que mostra que não há diferenças significativas.

Fig. 5-10. Câmbio ativo. 5-6. Figuras mitóticas. Secções radiais. **5.** Células cambial radial em divisão mitótica na fase de metáfase. **6.** Célula cambial fusiforme em divisão mitótica na fase de telófase. 7-10. Fragmentos. 7-8. Secção radial. **7.** Fragmento no início da formação da placa com 1/5 do tamanho da fusiforme. **8.** Fragmento com 4/5 do tamanho da fusiforme. 9-10. Secções tangenciais. **9.** Fragmento no início da formação da placa celular. **10.** Fragmento no final da formação da placa celular. Barra: 5-6 = 20 μm ; 7-10 = 30 μm .

Fig. 11-15. Amostras de Mogi Guaçu. 11-13. Secções transversais. 11-12. Coleta de dezembro de 2001. Câmbio ativo. **11.** Aspecto geral, onde se observa uma camada com muitas células xilemáticas em diferenciação. **12.** Vasos com parede secundária depositada (V) e, demais células, fibras e células parenquimáticas, em estágios iniciais da diferenciação (Xd). **13.** Coleta de setembro de 2001. Câmbio inativo; células diferenciadas do xilema justapostas à zona cambial. 14-15. Células cambiais fusiformes. Secção tangencial. **14.** Coleta de dezembro de 2001. Parede das células sem espessamento, sem o aspecto de "colar-de-contas". **15.** Coleta de abril de 2002. Parede das células espessas com aspecto de "colar-de-contas". Note uma divisão anticlinal em "S" (seta). F: floema, X: xilema; Zc: zona cambial. Barra: 11 = 120 μ m; 12-13 = 60 μ m; 14-15 = 30 μ m.

Fig. 16-22. Amostras de Ilhéus, BA. Secções transversais. Câmbio ativo. **16-18.** Coleta de junho de 2005. **16.** Aspecto geral, onde se observa uma camada com muitas células xilemáticas em diferenciação. **17.** Detalhe de um vaso com parede secundária lignificada em fase final de diferenciação (V) e, outro em estágio inicial de diferenciação (Vd). **18.** Presença de amido na zona cambial, no floema e no xilema. **19-22.** Coleta de setembro de 2003. **19.** Câmbio ativo com células em diferenciação. Paredes tangenciais recém-formadas na zona cambial (setas). **20.** Detalhe em MET, com parede tangencial recém-formada (seta). **21.** Divisão anticlinal de uma cambial fusiforme. **22.** Divisões periclinais de uma fusiforme recentemente dividida anticlinalmente. Barra: 16 = 100 μm ; 17-18 = 50 μm ; 19 = 20 μm ; 20 = 10 μm ; 21-22 = 25 μm .

Fig. 23-28. Ilhéus, BA. 23-25. Coleta de novembro de 2003. **23-24.** Secções transversais. **23.** Câmbio inativo, células xilemáticas junto ao câmbio em estágios finais da diferenciação. **24.** Presença de amido na zona cambial. **25.** Secção radial. Observe as iniciais radiais (*). **26-28.** Coleta de dezembro de 2004. Secções transversais. **26.** Aspecto geral, onde se observa uma camada com muitas células xilemáticas em diferenciação, formadas após a reativação do câmbio. **27.** Detalhe da zona cambial, com as iniciais fusiformes (*). **28.** Fragmoplasto. Barra: 23-26 = 25 μm ; 24-25 = 50 μm ; 27 = 15 μm ; 28 = 20 μm .

O DESENVOLVIMENTO DO XILEMA SECUNDÁRIO EM PAU-BRASIL (*CAESALPINIA ECHINATA*, LEGUMINOSAE)

RESUMO

Neste trabalho foi estudado o desenvolvimento do xilema de *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae), o pau-brasil, espécie símbolo do Brasil. Para isso, foram realizadas coletas periódicas não destrutivas de amostras do tronco de três indivíduos, de populações localizadas em Ilhéus (BA), Campo Grande (MS) e Mogi Guaçu (SP). As amostras retiradas, contendo ritidoma, floema, câmbio e xilema. A partir das células do câmbio foi analisado o desenvolvimento do xilema, os elementos de vaso são as primeiras células a se diferenciarem, seguidas pelas células adjacentes. A primeira etapa da diferenciação dos elementos condutores é a expansão celular, seguida da deposição e lignificação da parede secundária. Há o rompimento do vacúolo, degradação do núcleo e a perda do conteúdo citoplasmático. Células parenquimáticas cristalíferas são radiais e axiais, onde as células axiais se dividem transversalmente até formarem longas séries. O parênquima axial paratraqueal ocorre geralmente em séries longitudinais de duas a quatro células, do mesmo tamanho do elemento de vaso. Conclui-se do presente trabalho, que a formação e diferenciação do xilema, mais especificamente do elemento de vaso, segue o padrão observado na literatura. Entretanto, vários passos complementares são documentados a partir do xilema de uma espécie arbórea.

Palavra-chave: *Caesalpinia echinata*, desenvolvimento do xilema, diferenciação do elemento de vaso

ABSTRACT

This work presents the study of the xylem development in *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae), pernambuco wood, the species symbol of Brazil. For that it was realized periodical collections in three individuals of populations occurring in Ilhéus (BA), Campo Grande (MS) and Mogi Guaçu (SP), in a range of different latitudes and rain regimes. Samples containing rytidom, phloem, cambium and xylem were fixed in glutaraldeid and embedded in Leica Historresin®, sectioned and stained with toluidin blue. From cambium cells, it was analyzed the development of vessel elements, their expansion up to their hydrolysis and perforation plate formation. These events were correlated with cytoplasmatic modifications. Lignification was also followed, where vessel elements are the first cells to go under lignification, followed by adjacent cell types. Citaliferous cells can be axial or radial. Axial cristaliferous cells subdivide transverselly to form parenchymatic strands. Procumbent radial cells become radial e contain crystals as well. Axial paratracheal parenchyma occur in longitudinal series (or strands) of fours cells, of the same size as vessel element. The occurrence of apotracheal axial parenchyma is not constant and when present, occur in lines of four cells width.

Key-words: *Caesalpinia echinata*, xylem development, vessel element

INTRODUÇÃO

Trabalhos abordando a anatomia do xilema secundário de espécies arbóreas são abundantes, mas em geral, são estudos relacionados a aspectos ecológicos, taxonômicos, ou voltados para características ligadas à utilização da madeira.

O desenvolvimento do xilema, segundo Bailey (1952), pode ser subdividido em diferentes etapas, resultando em seis regiões, que quando observadas em secção transversal do tronco, centripetamente, estão assim dispostas: 1. zona cambial, onde há a multiplicação celular; 2. zona de expansão celular; 3. zona de formação, zona de deposição de parede secundária e lignificação da parede secundária; 4. zona de células diferenciadas do alburno; 5. zona de transição entre o alburno e cerne; 6. zona de cerne. Neste trabalho foram analisadas as primeiras quatro regiões.

As células do xilema sofrem mudanças antes da deposição da parede secundária: os elementos de vaso aumentam de tamanho, as fibras se alongam e as células parenquimáticas se dividem. Entretanto, pouco se sabe em detalhe, sobre o que ocorre às células durante o processo de desenvolvimento e formação do xilema (Chaffey 2002), especialmente sobre a diferenciação dos elementos de vaso.

Podem-se citar os trabalhos de Amobi (1973), Vilalba (1985), Marcati (2000), Amano (2002), Marcati et al. (2006), Venugopal & Liangkuwang (2007), destes, Amano (2002) e Marcati et al. (2006) estudaram o desenvolvimento dos elementos de vaso. Uma das poucas fontes de informação sob os aspectos ultramicroscópicos sobre a diferenciação dos elementos de vaso é a publicação de Barnett (1981a), entre os temas abordados, podemos destacar, o desenvolvimento das células do xilema secundário (Barnett 1981b), o desenvolvimento da placa de perfuração em angiospermas (Meylan & Butterfield 1998) e, lignificação e xilogênese (Wardrop 1981).

Nos últimos vinte anos os estudos do xilema sofreram grandes avanços, com o desenvolvimento do modelo de *Zinnia*, que consiste na modificação *in vitro* de uma célula do mesofilo em um elemento traqueal. A partir deste modelo, muitos eventos da diferenciação dos elementos traqueais foram elucidados, através de estudos de transdiferenciação de células do mesofilo (Fukuda & Kobayashi 1989, Fukuda 1996, 1997, Fukuda et al. 1998, Obara et al. 2001, Groover & Jones 1999, Groover et al. 2007). Entretanto, segundo Chaffey (1999), esse não seria necessariamente um bom modelo para a formação de xilema secundário em espécies arbóreas, pois não há informações sobre a similaridades das etapas da diferenciação do modelo *in vitro* e em espécies arbóreas *in vivo*.

Com o seqüenciamento do genoma total de *Arabidopsis thaliana* (AGI, 2000) que possibilitou o mapeamento das expressões dos genes e seus fenótipos, muitas informações acerca da diferenciação do

xilema em espécies arbóreas surgiram (Turner et al. 2007) e genes reguladores da função e do desenvolvimento dos tecidos vasculares foram identificados (Zhao et al. 2005).

Muitos autores mencionam as similaridades entre *Arabidopsis* e *Populus* (Chaffey 2002, Chaffey et al. 2002, Turner et al. 2007), devido ao seu genoma relativamente pequeno, e muitas comparações do xilema secundário foram realizadas.

Mas somente a partir do seqüenciamento do genoma de *Populus* (Tuskan et al. 2006), uma espécie arbórea, surgiu a possibilidade em responder a questões mais pertinentes às espécies arbóreas sobre a formação do xilema secundário e a sazonalidade de crescimento (Jansson & Douglas 2007), pela análise do genoma de sendo possível indicar os genes que regulam o crescimento secundário (Groover 2005).

Embora os avanços de biologia molecular tenham auxiliado a elucidar numerosas questões relativas à formação e diferenciação das células do xilema, estudos anatômicos em espécies arbóreas adultas são escassos, devido especialmente às dificuldades de coleta. Deste modo, visando preencher esta lacuna, este trabalho tem como objetivo analisar a formação e o desenvolvimento do xilema, assim como os eventos envolvidos na diferenciação dos elementos de vaso em *Caesalpinia echinata*.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas nos meses de ativos do câmbio, com presença de células xilemáticas em diferenciação (Capítulo I) quando havia excedente hídrico no solo. Em tais períodos o câmbio estava em fase ativa (Capítulo I). As amostras foram coletadas seguindo a metodologia de Amano & Angyalossy (submetido), que consiste no uso de uma furadeira elétrica, formão e martelo, foram realizadas em árvores na Reserva da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS; na Reserva do Instituto Florestal do estado de São Paulo, Mogi Guaçu, SP; Fazenda Alegria, Ilhéus, BA.

Imediatamente após a coleta, as amostras foram subdivididas. Amostras de 2 cm³ foram fixadas em solução de FAA (Berlyn & Miksche 1976) por aproximadamente um mês, e amostras de 5 mm³ fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965) por uma semana. Após a fixação, as amostras foram lavadas em água corrente por várias horas.

Posteriormente, fragmentos de cerca de 5mm³, contendo as porções mais internas do floema, zona cambial e porções mais externas do xilema, foram desidratadas em série etanólica, incluídas e emblocadas em Historresina® (Leica Microsystem, Alemanha). Foram feitos secções transversais, longitudinais radiais e longitudinais tangenciais seriados, com aproximadamente 4 µm de espessura, em micrótomo rotativo Leica RM2145 (Leica Microsystem, Alemanha), utilizando-se navalhas de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina O 0,05% em tampão acetado pH 4,7 (O'Brien et al. 1965).

Para as observações em microscopia confocal foi utilizado o microscópio confocal Zeiss (LSM 510, MicroImaging, Inc.); para tal foram realizadas secções espessas a mão livre. As secções foram preparadas de acordo com metodologia sugerida por Kitin et al. (2000, 2003).

As descrições anatômicas do xilema seguiram a terminologia recomendada pela Associação Internacional dos Anatomistas de Madeira (IAWA Committe 1989). As características importantes do material foram registradas em fotomicroscópio Leica DMLB acoplado a equipamento digital de captura de imagem Leica DFC 320.

RESULTADOS

O câmbio ativo forma novas células floemáticas e xilemáticas (Fig. 1-2). Observa-se nessa fase a formação e diferenciação de várias camadas células. (Fig. 1). A diferenciação é centrífuga, isto é, as primeiras células a se diferenciarem são as mais internas (Fig.1).

Junto à zona cambial é possível identificar a célula que se diferenciara no elemento de vaso: essa célula tem um diâmetro radial maior que as demais (Fig. 3) e, gradualmente sofre uma expansão celular (Fig. 4). Os elementos de vaso são as primeiras células a completarem sua diferenciação, com deposição da parede secundária e posterior lignificação (Fig. 5, 8). Posteriormente, as células adjacentes ao elemento de vaso também completam sua diferenciação (Fig. 6, 9), até a completa diferenciação de todas as células do xilema (Fig. 7).

Em secção longitudinal, observa-se a diferenciação e os eventos citoplasmáticos relacionados à diferenciação do elemento de vaso (Fig. 10-13). No início da diferenciação celular, após a expansão, o elemento de vaso possui todas as organelas, observadas pelo tonoplasto presente e o citoplasma parietal (Fig. 10). Em seguida, após o rompimento do tonoplasto, observa-se o citoplasma ocupando quase todo o volume da célula, e o núcleo em uma posição central (Fig. 11). A parede secundária depositada se lignifica e as pontuações são formadas, mas parte do citoplasma e o núcleo ainda são observados nesse estágio de desenvolvimento (Fig. 12). Em estágio seguinte, o elemento de vaso já se encontra sem a presença do núcleo e de restos de citoplasma (Fig. 13).

A parede primária do elemento de vaso, no local onde será formada a futura placa de perfuração, torna-se mais espessa do que as paredes tangenciais e radiais no início da diferenciação do elemento de vaso, ainda quando em fase de parede primária (Fig. 14). Observa-se, nesta fase, o núcleo adjacente à parede primária espessada, bem como a região que corresponderá à futura borda da placa, diferencia-se por apresentar parede primária delgada (Fig. 14). Com a deposição da parede secundária e posterior lignificação, a região onde será formada a placa de perfuração apresenta-se ainda com a parede primária

bastante espessada (Fig. 9), evidenciando a lamela média entre as paredes primárias espessadas de dois elementos de vaso subjacentes (Fig. 15).

O parênquima axial paratraqueal é composto por séries longitudinais de duas (Fig. 2, 13) ou quatro células, estas séries são do mesmo comprimento do elemento de vaso (Fig. 2); estas são formadas quando o elemento de vaso ainda está em diferenciação, como observado na figura 2.

A formação de cristais de oxalato de cálcio ocorre no parênquima radial e axial (Fig. 1-25). No parênquima radial, ocorre em células procumbentes comuns (Fig. 19), e em células quadradas (Fig. 17-18), que se encontram tanto na margem (Fig. 17) quanto no corpo do raio, entre as células procumbentes (Fig. 18, 20). As células quadradas marginais podem se subdividir transversalmente (Fig. 16), formando uma série com dois cristais (Fig. 17). Séries axiais de cristais são formadas a partir de uma inicial fusiforme. A derivada fusiforme sofre divisões transversais sequenciais (Fig. 21), formando longas séries cristalíferas (Fig. 22-25). Durante a deposição e formação dos cristais, é possível observar a presença do núcleo na célula (Fig. 22). Séries axiais podem estar isoladas (Fig. 21-22) ou associadas a outras séries (Fig. 25), ou ainda, associadas aos raios, formando uma série contínua com as células cristalíferas da margem dos raios (Fig. 23-25).

DISCUSSÃO

Quando o câmbio produz muitas células, é possível observar a sua diferenciação gradual, que ocorre de forma centrífuga (Amano 2002, Marcati et al. 2006). As células são produzidas no sentido centrípeto, a partir das divisões periclinais das iniciais e derivadas cambiais.

As primeiras células a se diferenciarem são os elementos de vaso, como observado no presente trabalho, e isto se deve para que se mantenha o fluxo de condução de água, segundo Zimmermann (1983). Os elementos de vaso são os primeiros a completarem a diferenciação, seguidos pelas células adjacentes. Os resultados aqui corroboram o de outros autores que analisaram o desenvolvimento do xilema (Esau & Charvat 1978; Barnett 1981; Butterfield 1995, Amano 2002, Marcati et al. 2006).

Os elementos de vaso em diferenciação são altamente vacuolados, e com isso as organelas, inclusive o núcleo, se tornam periféricos. O núcleo é proeminente, provavelmente pela duplicação dos genes, para suprir a alta demanda na síntese da parede celular e do conteúdo citoplasmático (O'Brien 1981). Neste momento, os microtúbulos corticais têm uma orientação preferencialmente longitudinal na célula, que progressivamente muda para uma orientação transversal durante a expansão celular, provocando um aumento radial da célula (Funada 2002). Durante a formação da parede primária, a ausência de microtúbulos delimita a região das futuras pontoações (Funada et al. 1997, Uehara & Hogetsu 1993). Após a expansão da parede celular, os microtúbulos corticais se orientam para a deposição da parede secundária.

Todo elemento de vaso sofre a deposição de parede secundária, exceto as membranas de pontoação e as futuras placas de perfuração. Como também observado por Chaffey et al. (1997), a deposição da parede secundária é seguida da lignificação. Segundo Wardrop (1981), a lignificação se inicia nos cantos das células e segue, em seqüência centrípeta, pela camada intercelular (lamela média), parede primária, e por último, por toda a parede secundária.

A formação dos elementos de vaso e traqueídes são um típico exemplo de morte celular programada em plantas (Fukuda et al. 1998). Foi extensivamente estudada em *Zinnia*, através da transdiferenciação de células do mesofilo, por diversos autores (Fukuda 1996, Fukuda 1997, Fukuda et al. 1998, Obara et al. 2001, Groover & Jones 1999). A morte celular programada é um processo ativo e fisiológico que pode ser controlada pelas próprias células (Danon et al. 2000).

O primeiro evento na morte celular é a ruptura do vacúolo, momento chave na morte celular programada do elemento traqueal, segundo Fukuda (2000), e a partir desse momento o processo de autólise não é mais reversível. A ruptura do vacúolo provoca uma separação do seu conteúdo com o citoplasma (Groover et al. 1997). O vacúolo tem um papel muito importante como o sugerido por Wodzicki & Brown (1973), pois nele são produzidas enzimas hidrolíticas (Fukuda 2000), entre elas estão as nucleases e proteases, que posteriormente irão atuar no processo autolítico da célula e na degradação do núcleo (Pennel & Lamb 1997). O núcleo ainda é observado quando a parede celular está sofrendo o processo de lignificação como o observado nesse trabalho.

Murmanis (1978) observou em *Quercus rubra*, que as paredes terminais estão presentes durante o desenvolvimento do elemento de vaso e que estas se tornam mais espessas do que depois da expansão celular. O mesmo foi observado neste trabalho, e por Marcati et al. (2006) em *Cedrela fissilis*, onde os autores complementam que a região central é mais espessa em relação às margens. Segundo Esau et al. (1963) menciona que ocorre um abaulamento dessa parede composta de substâncias pécicas, particularmente da lamela média, o que foi comprovada por Jansen et al. (dados não publicados) num estudo em microscopia de transmissão. Benayoun et al. (1981) complementa que, além de pectinas, a região da futura placa de perfuração possui hemicelulose. A única parte renascente da parede terminal são as bordas da placa de perfuração que foram lignificadas (Marcati et al. 2006, Benayoun et al. 1981).

A hidrólise afeta todos os componentes não celulósicos, e também, as paredes primárias não lignificadas, o que resulta na formação da placa de perfuração, que é delimitada logo no início da diferenciação do elemento de vaso. Microtúbulos estão associados ao desenvolvimento da placa de perfuração simples formando um círculo em torno da futura placa, como observado em *Aesculus hippocastanum* e *Populus tremula* L. x *P. tremuloides* Michx. por Chaffey & Barlow (2002).

A hidrólise retira a pectina e a hemiceluloses das membranas da pontoação e o único remanescente é uma fina rede de microfibrilas de celulose (Evert 2006, Steven Jansen comunicação pessoal). Para

Benayoun (1983) a hidrólise da membrana da pontoação não faz parte da autólise geral da célula e, sim, ela é programada, pois moléculas hidrolíticas são observadas em testes citoquímicos, antes da completa diferenciação da parede secundária.

A formação de cristais em espécies arbóreas é um assunto pouco explorado. Eles são geralmente formados nos vacúolos, mas há casos de formação na parede celular e na cutícula (Evert 2006). Neste trabalho, observou-se que as células cristalíferas podem ser radiais e axiais. As células axiais se dividem transversalmente e formam séries parenquimáticas cristalíferas subdivididas, da forma como o demonstrado por Milanez (1949) em *Podocarpus*. Tal processo também ocorre com as células radiais quadradas. Nos raios, os cristais ocorrem principalmente nas células quadradas, mas também são observados nas células procumbentes, corroborando com os dados observados por Longhi (2005) e Angyalossy et al. (2005) para a espécie.

Os cristais são geralmente de oxalato de cálcio e ocorrem nos vacúolos, em células específicas (Webb 1999), estão presente em quase todos os grupos de plantas, com exceção em Cucurbitaceae, e algumas famílias de Liliales, Poales e Alismatidae (Prychid & Rudall 1999).

Os cristais de oxalato de cálcio estão relacionados à regulação da quantidade de cálcio nas plantas, segundo Kosterman & Franceschi (2000). O cálcio é um macronutriente essencial ao metabolismo das plantas. A falta de cálcio pode influenciar no desenvolvimento das células, como foi observado, em experimentos com *Populus tremula* x *P. tremuloides* por Lautern et al. (2007), que nos indivíduos submetidos à falta de cálcio, diferenciaram-se fibras mais curtas e vasos de menor diâmetro. Franceschi (1989), num estudo com *Lemna minor*, observou que os cristais são formados rapidamente quando exposto a um meio rico em cálcio e também podem ser dissolvidos quando a quantidade deste macronutriente é limitada.

Conclui-se do presente trabalho, que a formação e diferenciação do xilema, mais especificamente do elemento de vaso, segue o padrão observado na literatura. Entretanto, vários passos complementares são documentados a partir do xilema de uma espécie arbórea adulta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amano, E. & V. Angyalossy. submetido. A new sampling method for cambium studies in tropical trees. IAWA Journal.
- Amano, E. 2002. *Cordia trichotoma*, Boraginaceae: caracterização e sazonalidade na formação do xilema e do floema. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Angyalossy, V., Amano, E. & Alves, E.S. 2005. Madeiras utilizadas na fabricação de arcos instrumentos de corda: aspectos anatômicos. Acta Botanica Brasilica 19: 819-834.

- Arabidopsis Genome Initiative. 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. Nature 408: 796–815.
- Artschwager, E. 1950. The time factor in the differentiation of the secondary xylem and phloem in pecan. American Journal of Botany 37: 15-24.
- Bailey, I.W. 1952. Biological Processes in Formation of Wood. Science 115: 255-259.
- Barnett, J.R. 1981a. Xylem Cell Development. Castle House, Tunbridge Wells, Kent.
- Barnett, J.R. 1981b. Secondary Xylem Cell Development. In: J.R. Barnett (ed.), Xylem Cell Development: 47-95. Castle House, Tunbridge Wells, Kent.
- Benayoun, J. 1983. A Cytochemical Study of the Cell Wall Hydrolysis in the Secondary Xylem of Poplar (*Populus italica* Moench). Annals of Botany 52: 189-200.
- Benayoun, J., A.M. Catesson & Y. Czaninski. 1981. 1981. A cytochemical study of differentiation and breakdown of vessel end walls. Annals of Botany 47: 687-698.
- Berlyn, G.P. & J.P. Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames.
- Butterfield, B.G. 1995. Vessel element differentiation. In: M. Iqbal (ed.), The cambial derivatives: 93-106. Gerb. Borntrager, Berlin.
- Chaffey, N.J. & P. Barlow. 2002. Myosin, microtubules, and microfilaments: co-operation between cytoskeletal components during cambial cell division and secondary vascular differentiation in trees. Planta 214: 526-536.
- Chaffey, N.J. 1999. Cambium: old challenges – new opportunities. Trees 13: 138-151.
- Chaffey, N.J. 2002. Why is there so little research into the cell biology of the secondary vascular system of trees? New Phytologist 153: 213-223.
- Chaffey, N.J., E. Cholewa, S. Regan & B. Sundberg. 2002. Secondary xylem development in *Arabidopsis*: a model for a wood formation. Physiologia Plantarum 114: 594-600.
- Chaffey, N.J., P. Barlow & J.R. Barnett. 1997. Formation of bordered pits in secondary xylem vessel elements of *Aesculus hippocastanum* L.: an electron and immunofluorescent microscope study. Protoplasma 197: 64-75.
- Danon, A., V. Delorne, N. Mailhac & P. Gallois. 2000. Plant programmed cell death: A common way to die. Plant physiology and biochemistry 38: 647-655.
- Davis, J.D. & R.F. Evert. 1968. Seasonal development of the secondary phloem in *Populus tremuloides*. Botanical Gazette 129: 1-8.
- Derr, W.F. & R.F. Evert. 1967. The cambium and seasonal development of phloem in *Robinia pseudoacacia*. American Journal of Botany 54: 147-157.
- Deshpande, B.P. & T. Rajendrababu. 1985. Seasonal changes in the structure of the secondary phloem of *Grewia tiliifolia*, a deciduous tree from India. Annals of Botany 56: 61-71.

- Esau, K. & I. Charvat. 1978. On vessel member differentiation in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annals of Botany* 42: 665-677.
- Esau, K. 1963. Vessel development in celery. *Hilgardia* 10: 479-488.
- Evert, R.F. & B.P. Deshpande. 1969. Electron microscope investigation of sieve-element ontogeny and structure in *Ulmus americana*. *Protoplasma* 68: 403-432.
- Evert, R.F. 1960. Phloem structure in *Pyrus communis* L. and its seasonal changes. *University California Publication of Botany* 32: 127-194.
- Evert, R.F. 1963a. Ontogeny and structure of the secondary phloem in *Pyrus malus*. *American Journal of Botany* 50: 8-37.
- Evert, R.F. 1963b. The cambium and seasonal development of the phloem in *Pyrus malus*. *American Journal of Botany* 50: 149-159.
- Evert, R.F. 2006. *Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: their Structure, Function, and Development*. 3rd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Franceschi, V.R. 1989. Calcium oxalate formation is a rapid and reversible process in *Lemna minor* L. *Protoplasma* 148: 130-137.
- Fukuda, H. & H. Kobayashi. 1989. Dynamic organization of the Cytoskeleton during Tracheary-Element Differentiation 31: 9-16.
- Fukuda, H. 1996. Xylogenesis: initiation, progression and cell death. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 299–325
- Fukuda, H. 1997. Tracheary Element Differentiation. *The Plant Cell* 9: 1147-1156.
- Fukuda, H. 2000. Programmed cell death of tracheary elements as a paradigm in plants. *Plant Molecular Biology* 44: 245-253.
- Fukuda, H., Y. Watanabe, H.S. Aoyagi, M. Sugiyama, R. Yamamoto, T. Demura & A. Minami. 1998. Programming of Cell during Xylogenesis. *Journal of Plant Research* 11: 253-256.
- Funada, R. 2002. Immunolocalisation and visualisation of the cytoskeleton in gymnosperms using confocal laser scanning microscopy. In: N. Chaffey (ed.), *Wood formation in trees – Cell and molecular biology techniques*: 143–157. Taylor & Francis, London, New York.
- Funada, R., O. Furusawa, H. Imaizumi, K. Fukazawa & J. Ohtani. 1997. The Orientation and Localization of Cortical Microtubules in Differentiating Conifer Tracheids during Cell Expansion. *Plant and Cell Physiology* 38: 210-212.
- Groover, A. 2005. What genes make tree a tree? *Trends in Plant Science* 10: 1360-1385.
- Groover, A., & A.M. Jones. 1999. Tracheary Element Differentiation Uses a Novel mechanism Coordinating Programmed Cell Death and Secondary Cell Wall Synthesis. *Plant Physiology* 1999: 3375-384.
- Groover, A., N. DeWitt, A. Heidel & A.M. Jones. 1997. Programmed cell death of plant tracheary elements differentiating in vitro. *Protoplasma* 196: 197-211.

- IAWA Committee. 1989. List of microscopic features for hardwood identification. IAWA Bulletin 10: 219-332.
- Jansson, S. & C.J. Douglas. 2007. *Populus*: a model System for a Plant Biology. Annual Review of Plant Biology 58: 435-458.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology 27: 137-138.
- Kitin, P., R. Funada, Y. Sano & J. Ohtani. 2000. Analysis by confocal microscopy of the structure of cambium in the hardwood *Kalopanax pictus*. Annals of Botany 86: 1109-1117.
- Kitin, P., Y. Sano & R. Funada. 2003. Three-dimensional imaging and analysis of differentiating secondary xylem by confocal microscopy. IAWA Journal 24: 211-222.
- Kosterman, T.A. & V.R. Franceschi. 2000. Cell and calcium oxalate crystal growth is coordinated to archive high-capacity calcium regulation in plants. Protoplasma 214: 166-179.
- Lautern, S., B. Ehrling, E. Windeisen, H. Rennenberg, R. Matyssek & J. Fromm. 2007. Calcium nutrition has a significant influence on wood formation in poplar. New Phytologist 173: 743-752.
- Longhi, E.L. 2005. Pau-brasil e outras espécies nativas empregadas na confecção de arcos para instrumentos de corda: um estudo comparativo. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Marcati, C.R., V. Angyalossy, & R.F. Evert. 2006. Seasonal variation in wood formation of *Cedrela fissilis* (Meliaceae). IAWA Journal 27: 199-211.
- Meylan, B.A. & B.G. Butterfield. 1981. Perforation Plate Development in the Vessels of Hardwoods. In: J.R. Barnett (ed.), Xylem Cell Development: 96-114. Castle House, Tunbridge Wells, Kent.
- Millanez, F.R. 1949. Cristais de oxalato de cálcio em *Podocarpus lambertii* Klotz. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 9: 113-148.
- Mittler, R. & E.Lam. 1995. In Situ Detection of nDNA Fragmentation during the Differentiation of Tracheary Elements in Higher Plants. Plant Physiology 108: 489-493.
- Murmanis, L. 1978. Breakdown of end Walls in Differentiating Vessels of Secondary Xylem in *Quercus rubra* L. Annals of Botany 42: 679-682.
- Nakata, P.A. 2002. Calcium oxalate crystal morphology. Trends in Plant Science 7: 324.
- O'Brien, T.P. 1981. The primary xylem. In: J.R. Barnett (ed.), Xylem Cell Development: 14-46. Castle House, Tunbridge Wells, Kent.
- Obara, K., H. Kuriyama & H. Fukuda. 2001. Direct Evidence of Active and Rapid Nuclear Degradation Triggered by Vacuole Rupture during Programmed Cell Death in *Zinnia*. Plant Physiology 125: 615-626.
- O'Brien, T.P., N. Feder & M.E. McCully. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 368-373.
- Pennel, R.I. & C. Lamb. 1997. Programmed Cell Death in Plants. The Plant Cell 9: 1157-1168.
- Prychid, C.J. & Rudall, P.J. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: A review of their structure and systematics. Annals of Botany 84: 725-739.

- Rajput, K.S. & K.S. Rao. 1999. Seasonal anatomy of secondary phloem of teak (*Tectona grandis* L. Verbenaceae) growing in dry and moist deciduous forest. *Phyton* 38: 251-258.
- Turner, S., P. Gallois & D. Brown. 2007. Tracheary Element Differentiation. *Annual Review of Plant Biology* 58: 407-433.
- Tuskan, G.A., S. DiFazio, S. Jansson, J. Bohlmann, I. Grigoriev, U. Hellsten, N. Putnam, S. Ralph, S. Rombauts, A. Salamov, J. Schein, L. Sterck, A. Aerts, R.R. Bhalerao, R.P. Bhalerao, D. Blaudez, W. Boerjan, A. Brun, A. Brunner, V. Busov, M. Campbell, J. Carlson, M. Chalot, J. Chapman, G.L. Chen, D. Cooper, P.M. Coutinho, J. Couturier, S. Covert, Q. Cronk, R. Cunningham, J. Davis, S. Degroove, A. Déjardin, C. dePamphilis, J. Detter, B. Dirks, I. Dubchak, S. Duplessis, J. Ehlting, B. Ellis, K. Gendler, D. Goodstein, M. Gribskov, J. Grimwood, A. Groover, L. Gunter, B. Hamberger, B. Heinze, Y. Helariutta, B. Henrissat, D. Holligan, R. Holt, W. Huang, N. Islam-Faridi, S. Jones, M. Jones-Rhoades, R. Jorgensen, C. Joshi, J. Kangasjärvi, J. Karlsson, C. Kelleher, R. Kirkpatrick, M. Kirst, A. Kohler, U. Kalluri, F. Larimer, J. Leebens-Mack, J.-C. Leplé, P. Locascio, Y. Lou, S. Lucas, F. Martin, B. Montanini, C. Napoli, D.R. Nelson, C. Nelson, K. Nieminen, O. Nilsson, V. Pereda, G. Peter, R. Philippe, G. Pilate, A. Poliakov, J. Razumovskaya, P. Richardson, C. Rinaldi, K. Ritland, P. Rouzé, D. Ryaboy, J. Schmutz, J. Schrader, B. Segerman, H. Shin, A. Siddiqui, F. Sterky, A. Terry, C.-J. Tsai, E. Uberbacher, P. Unneberg, J. Vahala, K. Wall, S. Wessler, G. Yang, T. Yin, C. Douglas, M. Marra, G. Sandberg, Y. Van de Peer & D. Rokhsar. 2006. The Genome of Black Cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science* 313: 1596 – 1604.
- Uehara, K. & T. Hogetsu. 1993. Arrangement of cortical microtubules during formation of bordered pit in the tracheids of *Taxus*. *Protoplasma* 172: 145-153.
- Venugopal, N. & Liangukwang. 2007. Cambial activity and annual rhythm of xylem production of elephant apple tree (*Dillenia indica* Linn.) in relation to phenology and climatic factor growing in sub-tropical wet forest of northeast India. *Trees* 21:101-110.
- Vilalba, R. 1985. Xylem structure and cambial activity in *Prosopis flexuosa* DC. *IAWA Bulletin* n.s. 6: 119-130.
- Volk, G.M., V.J. Lynch-Holm, T.A. Kostman, L.J. Goss & V.R. Franceschi. 2002. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiote* leaves. *Plant Biology* 4: 34-45.
- Wardrop, A.B. 1981. Lignification and xylogenesis. In: J.R. Barnett (ed.), *Xylem Cell Development*: 115-152. Castle House, Tunbridge Wells, Kent.
- Webb, M.A. 1999. Cell-Mediated Crystallization of Calcium oxalate in Plants. *The Plant Cell* 11: 751-761.
- Wodzicki, T.J. & C.L. Brown. 1973. Organization and breakdown of the protoplast during maturation of Pine tracheids. *American journal of Botany* 60: 631-640.
- Zhao C., J.C. Craig, H.E. Petzold, A.W. Dickerman, & E.P. Beers. 2005. The Xylem and Phloem Transcriptomes from Secondary Tissues of the Arabidopsis Root-Hypocotyl. *Plant Physiology* 138: 803-818.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and ascent sap. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg New York, Tokyo.

Fig. 1-7. Diferenciação do xilema. **1.** Secção transversal. Diferenciação centrífuga do xilema (Xd). **2.** Secção radial. Elemento de vaso em diferenciação (V1). Note no xilema diferenciado, parênquima paratraqueal, em series de duas (*) ou quatro células (**); Zc: zona cambial. **3-7.** Secções transversais. **3.** Vaso em formação, em início de expansão (*). **4.** Vaso em expansão, com parede primária e núcleo (seta). **5.** Início da deposição de parede secundária no vaso. **6.** Vaso com a deposição de parede secundária completa e início de deposição de parede secundária nas células adjacentes (setas). **7.** Células completamente diferenciadas. Barra: 1-2 = 60 μm ; 3-7 = 20 μm . Zc: zona cambial.

Fig. 8-15. Diferenciação do elemento de vaso. Secções longitudinais. 8-9. Presença de lignina evidenciadas na microscopia confocal. 8. Lignificação de dois elementos de vaso e algumas células radiais adjacentes. 9. Elementos de vaso e células adjacentes lignificadas; elementos de vaso em fase final de diferenciação, com citoplasma e região da futura placa de perfuração com parede primária espessada (seta). 10. Membrana plasmática e tonoplasto presente, evidenciados pelo núcleo e demais organelas em posição parietal. 11. Citoplasma ocupando quase a totalidade da célula, núcleo em posição central. 12. Parede do elemento de vaso diferenciada com pontoações areoladas; núcleo e restos de citoplasma são visíveis. 13. Elemento de vaso diferenciado, sem conteúdo, e placas de perfuração formadas. 14. Parede primária espessada, onde será a futura placa de perfuração com núcleo adjacente; o limite da área da futura da placa de perfuração é indicado por setas. 15. Lamela média evidente (seta) e parede primária espessa na região da placa de perfuração. Barra: 8-9 = 40 μm ; 10-13 = 30 μm ; 14-15 = 25 μm .

Fig. 16-25. Diferenciação dos cristais. 16-24. Secções radiais. **16.** Células marginais quadradas do raio subdivididas devido a divisões transversais (setas). **17.** Xilema diferenciado, células quadradas com cristais, evidenciadas pela luz polarizada; a seta indica célula quadrada subdividida com cristais. **18.** Célula quadrada com cristal entre as células procumbentes do raio (seta). **19.** Células procumbentes com cristais. **20.** Cristais evidenciadas pela luz polarizada. **21.** Formação da série axial de cristais, através de sucessivas divisões transversais. **22.** Estágio posterior de diferenciação da série cristalífera. Note os cristais formados, porém as células ainda mantêm o núcleo (setas). **23.** Série axial em formação, tocando uma célula radial (seta). **24.** Série axial cristalífera associada a dois raios. Note que a célula da margem do raio, também, possui cristal prismático (seta). **25.** Secção tangencial. Várias séries cristalíferas são observadas; note uma série cristalífera em continuidade a um raio.(seta). Barra: 16-17: 20 μm ; 18 = 25 μm ; 19-25 = 30 μm .

PONTOAÇÕES GUARNECIDAS NOS ELEMENTOS DE VASO DE PAU-BRASIL (*CAESALPINIA ECHINATA*, LEGUMINOSAE)¹

RESUMO

As pontoações guarnecidas representam um caráter evolutivo, como demonstrado em análises filogenéticas recentes, caracterizando grupos monofiléticos em níveis hierárquicos mais elevados. Estudos sobre o desenvolvimento são importantes na compreensão da diversidade estrutural deste caráter, ainda pouco estudado sob este aspecto. Este trabalho tem como objetivo investigar o desenvolvimento de pontoações guarnecidas em *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae) e analisar sua estrutura em espécimes de diferentes regimes hídricos. Foram coletadas amostras nos estados da Bahia, São Paulo e Mato Grosso do Sul. Várias técnicas foram utilizadas, incluindo microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e transmissão, a fim de trazer informações sobre a formação das guarnições, e as variações em sua estrutura sob diferentes condições latitudinais. A partir dos resultados com *C. echinata*, observamos que: as guarnições são observadas nas pontoações, e são formadas durante o estágio final de diferenciação dos vasos; desenvolvem-se em áreas de concentração de citoplasma, antes da morte celular; mitocôndrias e vesículas estão associadas à formação das guarnições; são ramificadas e se formam na abertura externa, na abertura interna, na parede da cavidade interna da pontoação e na parede interna do elemento de vaso ao redor da pontoação. As guarnições da abertura externa apresentam-se similares quanto à forma e quantidade nos espécimes das três regiões coletadas. Entretanto, as da abertura interna são curtas e pouco ramificadas nas amostras da Bahia.

Palavras-chave: pontoações guarnecidas, desenvolvimento de guarnições, *Caesalpinia echinata*, Leguminosae

ABSTRACT

Vestured pits represent a conservative character that characterizes monophyletic groups in higher hierarchy level according to recent phylogenetic analyses. Studies about development are important to understand the structural diversity of the pits, although there are only a few. This study aimed to investigate the development of vestured pits in *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae). Collections were made in Bahia, São Paulo e Mato Grosso do Sul states. Several techniques were used, among light microscopy, scanning electron microscope and transmission, to provide new information about the vestures formation and differences in structure in different latitudes. From the results we concluded that vestures are formed during the final stages of vessel differentiation; they quickly develop in areas of high cytoplasm concentration, before the cell death; mitochondrias and vesicles are associated to vestures formation; vestures are more frequent in regions of cell wall irregularities. Regarding vestures structure, they are equal on the external pit, aperture however, inside the vessel element walls they occur in less quantity in the collections of Bahia State.

Key-words: vestured pits, vestures development; *Caesalpinia echinata*, Leguminosae

1-Trabalho desenvolvido em colaboração com Dr. Steven Jansen do Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew.

INTRODUÇÃO

As guarnições são caracterizadas por protuberâncias da parede secundária, freqüentemente associadas às pontoações areoladas nos elementos traqueais. Estas estruturas são, em sua maioria, ramificadas, ou de formato irregular, e podem estar associadas também à parede interna, incluindo a parede da cavidade da pontoação (Jansen et al. 1998). O termo guarnição e pontoação guarnecida foram introduzidos por Bailey (1933), que no estudo de 2660 espécies pertencentes a 152 famílias, observou que o termo usado até o momento para as guarnições não era adequado - “semelhante à crivos” - uma vez que se referiam à membrana da pontoação e não às protuberâncias na parede da pontoação.

Bailey (1933) classificou as guarnições em quatro tipos: sólido, coralóide, papiloso e filamentoso. A partir deste trabalho, outros autores ampliaram esta classificação (Côte & Day 1962; Nair & Mohan Ram 1989), sendo que Ohtani & Ishida (1976) elaboraram uma classificação mais complexa, englobando 15 tipos de guarnições, desde muito pequenas e não ramificadas, a muito ramificadas, formando uma rede.

As guarnições não são restritas às pontoações, e podem ocorrer em todas as células do xilema (Evert 2006; Jansen et al. 1998), associadas à parede interna dos elementos de vasos, às placas de perfuração simples (Kucera et al. 1977), à perfuração escalariforme (Butterfield & Meylan 1974), ao espessamento espiralado dos vasos (Meylan & Butterfield 1978), às pontoações do parênquima axial (Ohtani 1986), às paredes das fibras (Meylan & Butterfield 1974), e nas paredes das fibras septadas (Ohtani 1987).

A importância da ocorrência de pontoações guarnecidas na sistemática foi reconhecida, especialmente a partir de estudos estruturais com o uso de microscopia eletrônica de varredura (Scurfield & Silva 1970; Ohtani & Ishida 1976; Jansen et al. 1998, 2001). Concluiu-se que pontoações guarnecidas representam um caráter conservativo que caracteriza diversos grupos monofiléticos, como famílias inteiras ou até mesmo ordens (Myrtales, Gentianales, Fabales), além de ser um caráter filogeneticamente informativo dentro das recentes filogenias de Angiospermas (Jansen et al. 2001; 2004). Pontoações guarnecidas já foram descritas para as gimnospermas (Parameswaran & Liese 1974) e para dois grupos de monocotiledôneas (Parameswaran & Liese 1977, Hong & Killmann 1992).

Estudos do desenvolvimento têm um papel importante na compreensão da diversidade estrutural das pontoações que ocorrem nas paredes secundárias dos elementos condutores do xilema. Até o presente momento, o conhecimento sobre a formação e o desenvolvimento das pontoações guarnecidas está restrito a apenas três espécies de leguminosas: *Plathymenia foliosa*, *Goniorrhachis marginata* e *Amburana acreana* (Schmid e Machado 1963a, b, 1964).

Ohtani & Ishida (1976) sugerem que as guarnições são formadas pela superposição de material do protoplasma no estágio final da formação da parede secundária. Para Scurfield et al. (1970), as guarnições

podem ser formadas no processo terminal da morte celular, onde porções do protoplasma localizadas no canal da pontuação, têm a sua atividade prolongada. Entretanto, aspectos da formação e desenvolvimento destas estruturas são ainda muito pouco estudados e não se sabe com certeza como se originam as guarnições nas pontuações. Jansen et al. (1998), em uma ampla revisão sobre a ocorrência de pontuações guarnecidas em espécies lenhosas, concluem que estudos ultraestruturais são necessários para o entendimento destas estruturas.

Levando-se em consideração a importância estrutural e evolutiva deste caráter, esse trabalho tem como objetivo complementar e ampliar os estudos sobre a formação e o desenvolvimento das pontuações guarnecidas em *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae), uma espécie arbórea de importância histórica e econômica no Brasil, e analisar sua estrutura em espécimes de diferentes regimes hídricos.

MATERIAL E MÉTODOS

As áreas de estudo desse trabalho foram: a Estação Experimental do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (22°15'02"S/47°09'29"W, altitude de aproximadamente de 640 metros), localizado em Mogi Guaçu, no estado de São Paulo, região sudeste do país; a Fazenda Alegria (14°47'42"S/39°09'55"W, a 50 metros de altitude), localizada em Ilhéus, no estado da Bahia, região nordeste do país; e a Reserva da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (20°29'58"S/54°36'46"W, a 544m de altitude), localizado em Campo Grande, no estado do Mato Grosso do Sul, região centro-oeste do país.

O material foi coletado em árvores com o câmbio em fase ativa, durante o período chuvoso. Os dados climáticos foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) em Campo Grande, junto a Estação Meteorológica da Reserva do Instituto Florestal do estado de São Paulo, em Mogi Guaçu, SP, e junto ao Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)-Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), em Ilhéus, BA.

Em Mogi Guaçu, no estado de São Paulo, e Campo Grande no estado do Mato Grosso do Sul, possuem regimes hídricos semelhantes, possuem um período seco com duração de seis meses, tendo início em março ou abril e término em setembro ou outubro, quando se inicia o período de chuvas. Em Ilhéus, Bahia, há um período chuvoso bem acentuado de fevereiro a julho, porém os períodos chuvosos não tem precipitação acumulada mensal menor de 60 mm. Períodos de déficit hídrico no solo têm a duração muito curta quando presentes.

A coleta seguiu a metodologia de Amano & Angyalossy (submetido), que consiste na retirada de amostras com cerca de 2-3 cm³, utilizando uma furadeira sem fio, martelo e formão. Amostras de foram coletadas de três indivíduos de cada área. As amostras para a análise em microscopia de luz e microscopia

eletrônica de varredura foram fixadas em solução de FAA (Berlyn & Miksche 1976), e para microscopia eletrônica de transmissão em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965).

As amostras para microscopia de luz foram emblocadas em Leica Historresin[®] (Leica Microsystem, Alemanha) e seccionadas usando um micrótomo rotativo Reichert-Jung 2040 e coradas com azul de toluidina O (O'Brien et al. 1965).

Pequenas amostras para microscopia eletrônica de varredura foram partidas longitudinalmente, desidratadas em série alcoólica, e secas em temperatura ambiente, cobertas com ouro/paládio usando o metalizador Emitech k550 (Emitech Ltd., Reino Unido) e SCD 050 (Balzers Union AG, Liechtenstein), e examinadas com o microscópio eletrônico de varredura Hitachi S-4700 (Hitachi High Technologies Corp., Japão) e DSM 940 (Zeiss, West Germany).

Secções ultrafinas com cerca de 60nm foram seccionadas com um ultramicrotomo (Ultracut, Áustria) de amostras emblocadas em Spurr (Spurr 1969) e resina LR-White (London Resin Co, Reino Unido), coradas com citrato de chumbo e acetato de Uranila, usando o equipamento automático de ultra-coloração LKB Bromma 2168 (LKB-Producter AB, Suécia). Os cortes foram observados com microscópio eletrônico de transmissão, JEOL JEM-1210 (Jeol, Japão) em voltagem de 80 kV e as imagens digitais foram tiradas usando a câmera Mega View III (Soft Imaging System, Alemanha).

RESULTADOS

Em microscopia de luz, observa-se a zona cambial ativa e novas células xilemáticas em diferenciação entre elas, e vasos. Junto à zona cambial observam-se os elementos de vasos em início de diferenciação, que ainda não se expandiram tangencial e radialmente, e apresentam somente com a parede primária (Fig. 1-2).

A expansão e o aumento em diâmetro do elemento de vaso ocorre rapidamente, uma vez que próximos a zona cambial são observados os vasos de grande calibre; onde já se observa a deposição da parede secundária e sua lignificação (Fig. 1-2).

Em elementos de vaso completamente diferenciados, as pontoações areoladas são observadas em sua parede lateral (Fig. 3), as guarnições das pontoações são dificilmente observadas em microscopia de luz, somente observadas como pequenas projeções na abertura da pontoação na abertura das pontoações (Fig. 4). Em microscopia eletrônica de varredura são vistas as guarnições em detalhes (Fig. 5).

Sob microscopia eletrônica de transmissão (MET), em elementos de vaso com a parede celular com a parede primária e secundária já formadas, observa-se o vacúolo grande, organelas e todo o conteúdo citoplasmático na periferia da célula (Fig. 6). Em detalhe, observa-se o canal e a câmara da pontoação com

conteúdo citoplasmático (Fig. 7), onde algumas organelas são identificadas como mitocôndrias e vesículas alongadas (Fig. 8).

Após a ruptura do vacúolo, o conteúdo citoplasmático periférico se espalha pela célula; e nessa fase observam vesículas junto ao canal à câmara da pontoação (Fig. 9). Sucessivas aderências das vesículas na parede da câmara e no canal da pontoação promovem fusão entre elas, formando as futuras guarnições (Fig. 10). No final da formação das guarnições, observam-se partículas entre as mesmas (Fig. 11). Nesta fase, a membrana da pontoação sofre alterações tornando-se mais espessas, quando comparada com a fase inicial da aderência das vesículas (Fig. 9, 11)

As pontoações e suas guarnições estão completamente desenvolvidas quando as partículas não estão mais no canal da pontoação. Nessa fase são bem delimitadas, e envoltas por uma camada mais elétron-densa, bastante conspícua (Fig. 12-13).

Os elementos de vasos próximos à zona cambial não possuem guarnições na abertura externa da pontoação, nem na parede interna do elemento de vasos (Fig. 14-15). Em elementos de vaso mais distantes, internamente ao câmbio, já diferenciados, são observadas guarnições na abertura externa e interna da pontoação, na cavidade interna da pontoação e na parede interna do elemento de vaso ao redor da pontoação, onde as projeções são ramificadas, bastante elaboradas e cobrem toda a abertura externa e interna (Fig. 16-17).

Na abertura interna, apresentaram variação, sendo ramificadas e abundantes e presentes, também, na parede interna do elemento de vaso, ao redor da abertura interna da pontoação nas amostras coletadas em Campo Grande, MS (Fig. 17) e Mogi Guaçu, SP (Fig. 19), e curtas e pouco ramificadas, nas amostras coletadas em Ilhéus, BA (Fig. 18).

DISCUSSÃO

As guarnições que ocorrem em elementos de vaso vêm sendo estudadas por vários autores, porém há muita especulação sobre a sua possível origem e formação. São poucos os trabalhos que informam sobre a sua origem, destacando-se Bailey (1933) e Schmid & Machado (1964), como os únicos autores que estudaram a formação das guarnições a partir de células em diferenciação.

Os dados obtidos neste trabalho com *Caesalpinia echinata*, de que a formação das guarnições ocorre nos estágios finais do desenvolvimento do elemento de vaso, estão de acordo com os de Bailey (1933) e Schmid & Machado (1964). Após estudo feito a partir de cortes seriados do xilema em diferenciação, Bailey (1933) observou que as guarnições são formadas nos últimos estágios de desenvolvimento dos elementos traqueais pela atividade do citoplasma. Estas informações se contrapõem

ao que se assumia anteriormente ao trabalho de Bailey, de que as guarnições eram modificações pós-morte dos elementos traqueais, durante a diferenciação do alburno para o cerne.

O único relato existente sobre a formação das guarnições em ultraestrutura está restrito a três espécies de leguminosas: *Plathymenia foliosa*, *Goniorrhachis marginata* e *Amburana acreana* (Schmid & Machado 1963a, b, 1964). Os autores concluíram que as guarnições são originadas depois da completa diferenciação da parede secundária, pela ação de substâncias que atravessam a membrana plasmática e são depositadas na parede celular. Estas substâncias são possivelmente derivadas das vesículas de Golgi e preferencialmente depositadas na pontuação areolada e, em alguns casos, na parede interna do elemento de vaso (Schmid & Machado 1964).

Ohtani & Ishida (1976) sugerem que as guarnições são formadas pela superposição de material do protoplasma no estágio final da formação da parede secundária. Para Scurfield et al. (1970), as pontuações podem ser formadas no processo terminal da morte celular, onde partes do protoplasma, no canal da pontuação, têm a sua atividade prolongada. Essa atividade local prolongada possivelmente está relacionada com a ocorrência de um canal da pontuação estreito, que atrasa a retirada ou dissolução do conteúdo citoplasmático (Scurfield & Silva 1970). Esse acúmulo e retenção do conteúdo citoplasmático são comprovados pela presença de guarnições, não só nas pontuações, como também na borda da placa de perfuração e na parede interna do elemento de vaso, em sulcos onde há um acúmulo de citoplasma antes da morte celular. Tais características foram observadas em algumas famílias, como Vochysiaceae e Myrtaceae (Steven Jansen, comunicação pessoal).

Com os avanços na botânica e no uso de modelos, como o de *Zinnia*, onde uma célula do mesófilo se transforma em um elemento traqueal (Fukuda 1996, 1997; Groover et al. 1997), os estudos sobre o desenvolvimento de células do xilema progrediram e se ampliaram. Relacionando o sistema *Zinnia* com o desenvolvimento dos elementos de vaso em *Caesalpinia echinata*, observa-se que após a ruptura do tonoplasto, as pontuações ainda não possuem guarnições, contudo, estas são formadas neste intervalo, antes da degradação do núcleo. Segundo Obara et al. (2001), em *Zinnia*, o tempo de duração entre a ruptura do tonoplasto e a degradação do núcleo é de 20 minutos.

A composição química das guarnições ainda é um tema controverso. Alguns autores (Côté & Day 1962, Schmid 1965, Scurfield & Silva 1970, Mori et al. 1983, Ohtani et al. 1984), através de tratamentos químicos, verificaram a presença de lignina nas guarnições. Um forte indício que corrobora a presença de lignina nas guarnições foi a preservação destas em madeiras de *Terminalia* sp., coletadas numa canoa da Polinésia, com aproximadamente 1000 anos (Donalson & Singh 1990). Os autores atribuem a preservação das guarnições e da lamela média à alta concentração de lignina. A presença de lignina nas guarnições também foi verificada por Singh et al. (1993) em *Alstonia scholaris*, onde os autores observaram que uma bactéria que forma túneis por digerir a parede celular, não degrada as guarnições, e atribuem isso à

presença da lignina, porém, os autores mencionam que isso poder estar relacionado ao diâmetro das guarnições serem menores do que o diâmetro da bactéria. Contudo, a presença de lignina também pode ser evidenciada pela coloração com KMnO₄. Essa hipótese deve ser testada com outras espécies com pontoações mais largas, como sugerida por Jansen et al. (1998).

Ohtani et al. (1984) verificaram que, na composição das guarnições, ocorre uma substância parecida com lignina. Watanabe et al. (2006), estudando duas espécies de *Eucalyptus*, observaram compostos fenólicos nas guarnições, da classe dos polifenóis solúveis em meio alcalino, que embora similares à lignina, apresentam propriedades químicas diferentes. O mesmo trabalho também evidenciou a presença de polissacarídeos nas guarnições. Mori et al. (1983) relatam não só a presença de lignina como também a de polissacarídeos em *Albizia julibrissin* e *Robinia pseudoacacia*.

Muitos trabalhos concordam com a presença de lignina ou de compostos fenólicos nas guarnições, porém Ranjani & Krishnamurthy (1988), estudando 10 gêneros de *Caesalpinia*, grupo do qual faz parte a espécie aqui estudada, verificaram que as guarnições não são lignificadas, mas compostas principalmente por polissacarídeos carboxilados, como pectinas. Segundo Castro (1991), que analisou 14 espécies de *Prosopis*, as guarnições são protuberâncias de parede secundária recobertas por uma camada eletrodensa de polissacarídeos do tipo pectina e hemicelulose, estando ausente a lignina. Essa camada eletrodensa, mencionada por Castro (1991), é observada neste trabalho recobrindo as guarnições.

As pontoações guarneçadas foram registradas em várias famílias de angiospermas, sendo um caráter constante, quando presente. O valor taxonômico desse caráter foi avaliado por Bailey (1933), na análise de 152 famílias, onde 25 possuem pontoações guarneçadas e em apenas quatro delas esse caráter é inconstante, podendo estar presentes ou ausente.

Metcalf & Chalk (1983) descreveram a ocorrência de pontoações guarneçadas em 40 famílias e Carlquist (1988), em 46 famílias. Jansen et al. (2001), estudando a presença e a importância das pontoações guarneçadas na sistemática das eudicotiledôneas, observaram que estas caracterizam as ordens Myrtales e Gentianales *sensu* APG, além de várias famílias, incluindo Malpighiaceae, Polygonaceae, Brassicaceae e muitas das espécies de Fabaceae (Leguminosae).

Em Leguminosae, as pontoações guarneçadas não estão presentes em *Bauhinia* (Ranjani & Krishnamurthy 1988, Nair & Mohan Ram 1989, Jansen et al. 1998). Grupos da tribo Cassieae e da tribo Cercideae, pertencentes à subfamília Caesalpinoideae, não possuem guarnições, segundo Jansen et al. (1998). Na nova filogenia baseada no gene *trnL* de Caesalpinoideae (Bruneau et al. 2001), as pontoações guarneçadas surgiram duas vezes na família, uma no grupo Detarieae *s.l.*, e outra no grupo que inclui o que restou de Caesalpinoideae, incluindo as demais espécies da tribo Cassieae e a tribo Caesalpinieae, Mimosoideae e Papilionoideae (Wojciechowski 2003).

Há uma forte correlação entre a presença da pontuação guarneçada e o tipo de placa de perfuração, visto que todas as espécies que possuem guarnições possuem placa de perfuração simples em oposição à menor quantidade de guarnições em vasos com placas escalariformes (Jansen et al. 2003, 2004). As pontuações têm um papel importante no fluxo de água, onde as guarnições preenchem a câmara da pontuação e previnem a distorção da membrana da pontuação em resposta à diferença de pressão entre o vaso embolizado e o vaso funcional (Zweypfenning 1978, Choat et al. 2003). As guarnições limitam o espaço no qual a membrana da pontuação pode se distender em relação ao centro da câmara, e isso impede que os poros da membrana aumentem pelo distanciamento das microfibrilas, reduzindo a probabilidade da passagem de bolhas de um vaso para o outro (Choat et al. 2004). Porém, o benefício das guarnições pode estar comprometido pelo acréscimo na resistência do fluxo (Sperry 2003). Grupos com pontuações guarneçadas, como Gentianales, possuem vasos com diâmetro tangencial menor que outros, como Myrtales e Leguminosae. Neste caso, estes possuem guarnições menos elaboradas e não ramificadas, que possivelmente compensam o menor fluxo pelos vasos.

Alguns trabalhos relatam a ocorrência das guarnições em ambientes com algum estresse hídrico. Lindorf (1994) observou, num estudo realizado com 19 espécies na Venezuela, a presença de pontuações guarneçadas em um maior número de espécies provenientes de uma floresta seca em relação ao de uma floresta úmida.

As guarnições em *Copaifera langsdorffii* foram observadas em microscopia de luz, tanto em espécimes de floresta quanto de cerradão, por Marcatti *et al.* (2001). Já Lima (2006) analisou, em microscopia eletrônica de varredura, as guarnições das pontuações intervaseculares de *Enterolobium contortisiliquum*, em espécimes da caatinga e da mata, mas não observou nenhuma diferença entre os dois ambientes.

Resultados similares aos de Lindorf (194), mencionados acima, foram obtidos por Alves (1997). A autora, na análise da anatomia do lenho de espécies da flora brasileira em diferentes ambientes, observou uma tendência em relação à ocorrência da pontuação guarneçada não estar associada ao clima equatorial e superúmido, reforçando a relação positiva da pontuação guarneçada com ambientes secos. As pontuações guarneçadas ocorrem numa alta frequência na caatinga, em 50 % das espécies analisadas, enquanto que em floresta ombrófila mista ocorre em 38,9% das espécies.

No estudo do efeito da poluição atmosférica em *Tibouchina pulchra*, por Mazzoni-Viveiros (2000), foi observada a perda das guarnições nas pontuações e na parede interna dos elementos de vaso, em resposta ao estresse causado pela poluição, antes que outros sintomas visíveis fossem detectados. Esse caráter de perda das guarnições foi proposto pela autora como uma característica bioindicadora.

Neste trabalho, observamos que as guarnições são ramificadas e estão presentes de forma similar na abertura externa das pontuações areoladas dos elementos de vaso dos espécimes das três áreas

analisadas. Entretanto, as guarnições da abertura interna e da parede interna ao redor da abertura interna, variam nos espécimes de acordo com a região de origem. Assim, uma maior concentração de guarnições, que se apresentam ramificadas, é observada nas amostras de *Caesalpinia echinata* provenientes de Mogi Guaçu, SP, e de Campo Grande, MS, onde há um período prolongado de estresse hídrico. Nestas duas regiões há um período seco de quatro a seis meses. Enquanto que as guarnições curtas e pouco ramificadas são observadas nas amostras provenientes de Ilhéus, BA, que apresenta o período seco, quando presente, de no máximo dois meses de duração. Percebe-se assim, uma relação positiva entre uma maior concentração de guarnições com um ambiente mais seco. Tais dados dão suporte à tendência positiva na relação da presença de guarnições em ambientes secos encontrada por Alves (1997). A maior concentração de guarnições ramificadas da abertura interna da pontoação e da parede interna de elemento de vaso, em *Caesalpinia echinata*, das regiões com períodos de seca mais prolongado, auxiliariam no impedimento da distensão da membrana da pontoação, conferindo uma maior resistência para que bolhas de ar alcancem a câmara da pontoação, reduzindo a possibilidade de passagem das bolhas para outro vaso, como o mencionado por Choat et al. (2004).

Pouco ainda se sabe sobre as guarnições quanto a sua origem e desenvolvimento. Jansen et al. (2001) sugerem que surgiram várias vezes durante a evolução. Mais estudos sobre a presença desse caráter e sua ontogenia podem ajudar a esclarecer essas questões, juntamente com estudos sobre a sua composição química, que ainda é bastante inexplorado, para os grandes grupos e nas diferentes espécies. Essa somatória de informações contribuirá para o conhecimento de sua função e da evolução desse caráter nas angiospermas.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Kew Latin American Research Fellowships - Klarf, pela bolsa concedida na visita ao Jodrell Laboratory, Kew Gardens, Kew, Inglaterra. À Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, pela infraestrutura para as coletas. Ao Sr. Gaspar Lima do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pelos ensinamentos e esclarecimentos das técnicas de microscopia de transmissão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E.S. 1997. Anatomia do lenho de algumas famílias arbóreas da flora brasileira, de acordo com diferentes ambientes. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Amano, E. & V. Angyalossy. submetido. A new sampling method for cambium studies in tropical trees. IAWA Journal.

- Bailey, I.W. 1933. The cambium and its derivate tissues VIII. Structure, distribution and diagnostic significance of the vestured pits in dicotyledons. *Journal Arnold Arboretum* 14: 259-273.
- Berlyn, G.P. & J.P. Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames.
- Bruneau, A., F. Forest, P.S. Herendeen, B.B. Kliggaard & G.P. Lewis. 2001. Phylogenetic relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as inferred from chloroplast *trnL* intron sequences. *Systematic Botany* 26:487-514.
- Butterfield, B.G. & B.A. Meylan. 1974 Vestured vessel and fibre pits in *Persoonia toru* A.Cunn. (Proteaceae). *IAWA Bulletin* 1974: 10–15.
- Carlquist, S. 1988. Comparative wood anatomy: systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Castro, M.A. 1991. Ultrastructure of vestured on the vessel wall in some species of *Prosopis* (Leguminosae-Mimosoideae). *IAWA Bulletin* n.s. 12: 425-430.
- Choat B., M. Ball, J. Luy & J. Holtum. 2003. Pit membrane porosity and water stress-induced cavitation in four co-existing dry rainforest tree species. *Plant Physiology* 131: 41-48.
- Choat, B., S. Jansen, M.S. Zwieniecki, E. Smets & N.M. Holbrook. 2004. Changes in pit membrane porosity due to deflection and stretching: the role of vestured pits. *Journal of Experimental Botany* 55: 1569-1575.
- Côté, W. A. & A.C. Day. 162 Vestured pits—fine structure and apparent relationship with warts. *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* 45: 906–910.
- Donaldson, L.A. & A.P. Singh. 1990. Ultrastructure of *Terminalia* wood from an ancient Polynesian canoe. *IAWA Bulletin* n.s. 11 (2): 195-202.
- Evert, R.F. 2006. Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: their Structure, Function, and Development. 3rd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Fukuda, H. 1996. Xylogenesis: initiation, progression and cell death. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 299–325.
- Fukuda, H. 1997. Tracheary element differentiation. *Plant Cell* 9: 1147–1156.
- Groover, A., N. DeWitt, A. Heidel & A. Jones. 1997. Programmed cell death of plant tracheary elements differentiating in vitro. *Protoplasma* 196: 197–211.
- Hong, L.T. & W. Killmann. 1992. Some aspects of parenchymatous tissues in palm stem. In: J.P. Rojo, J.U. Aday, E.R. Barile, R.K. Araral & W.M. America (eds.), *Proceedings, 2nd Pacific Regional Wood Anatomy Conference*: 449-455. The Institute, Laguna, Filipinas.
- IAWA COMMITTEE. 1989. List of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bulletin* 10: 219-332.
- Jansen, S., P. Baas, P. Gasson & E. Smets. 2003. Vestured pits: do they promote safer water transport? *International Journal of Plant Sciences* 164: 405–413.
- Jansen, S., E. Smets & P. Bass. 1998. Vestures in woody plants: a review. *IAWA Journal* 19: 347- 382.

- Jansen, S., P. Baas & E. Smets. 2001. Vestured pits: their occurrence and systematic importance in eudicots. *Taxon* 50: 135-167.
- Jansen, S., P. Baas, P. Gasson, F. Lens & E. Smets. 2004. Variation in xylem structure from tropics to tundra: evidence from vestured pits. *PNAS* 101: 8833-8837.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Kucera L.J., B.A. Meylan & B.G. Butterfield. 1977. Vestured simple perforated plates. *IAWA Bulletin* 1: 3-6.
- Lima, R.S. 2005. Anatomia comparada do lenho de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae-Mimosoideae) em diferentes condições latitudinais. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande, Porto Alegre.
- Lindorf, H. 1994. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. *IAWA Journal* 15: 363-376.
- Marcati, C.R., Angyalossy-Alfonso, V. & Benetati, L. 2001. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae- Caesalpinoideae) de floresta e cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 311-320.
- Mazzoni-Viveiros, S.C. 2000. Diversificação do uso da anatomia: poluição atmosférica na Mata Atlântica. In: T.B. Cavalcanti & B.M.T. Walter (eds.), *Tópicos atuais em Botânica: Palestras convidadas do 51º Congresso Nacional de Botânica*: 101-106. Sociedade Botânica do Brasil / Embrapa-Cenargen, Brasília.
- Metcalf, C.R. & L. Chalk. 1983. *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- Meylan, B.A. & B.G. Butterfield. 1974. Occurrence of vestured pits in vessels and fibres of New Zealand woods. *New Zealand Journal of Botany* 12: 3-18.
- Meylan, B.A. & B.G. Butterfield. 1978. Occurrence of helical thickening in the vessels of New Zealand woods. *New Phytologist*. 81: 139-146.
- Mori, N., M. Fujita, H. Harada & H. Saiki. 1983. Chemical Composition of Vestured and Warts Examined by Selective Extraction on Ultrathin Sections. *Bulletin of the Kyoto University Forest* 55: 299-306.
- Nair, M.N.B. & H.Y. Mohan Ram. 1989. Vestured pits and vestured vessel member walls in some Indian dicotyledonous woods. *Botanical Journal of the Linnean Society in London* 100: 323-336.
- Obara, K., H. Kuriyama & H. Fukuda. 2001. Direct Evidence of Active and Rapid Nuclear Degradation Triggered by Vacuole Rupture during Programmed Cell Death in *Zinnia*. *Plant Physiology* 125: 615-626.
- O'Brien, T.P., N. Feder & M.E. McCully. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Ohtani, J. 1986. Vestures in axial parenchyma cells. *IAWA Bulletin* n.s. 7: 39.
- Ohtani, J. 1987. Vestures in septate wood fibres. *IAWA Bulletin* n.s. 8: 59.
- Ohtani, J. & S. Ishida. 1976. Study on the pit of wood cells using scanning electron microscopy. 5. Vestured pits in Japanese dicotyledonous woods. *Research Bulletins of the College Experiment Forests, College of Agriculture, Hokkaido University* 33: 407-435.

- Ohtani, J., B.A. Meylan & B.G. Butterfield. 1984. Vestured or warts – Proposed terminology. IAWA Bulletin n.s. 5: 3-8.
- Parameswaran, N. & W. Liese. 1974. Vestured pits in vessels and tracheids of *Gnetum*. IAWA Bulletin 1974: 3.
- Parameswaran, N. & W. Liese. 1977. Occurrence of warts in Bamboo species. Wood science and technology 11: 313-331.
- Ranjani, K. & K.V. Krishnamurthy. 1988. Nature of vestured in the vestured pits of some Caesalpinaceae. IAWA Bulletin n.s. 9 (1): 31-33.
- Schmid, R. 1965. The fine structure of pits in hardwoods. In: W.A. Côté (ed.), Cellular ultrastructure of woody plants: 291–304. Syracuse University Press, USA, New York.
- Schmid, R. & R.D. Machado. 1963a. Über den Feinbau der „verzierten“ Tüpfel bei der Gattung *Plathymenia*. Holz als Roh- und Werkstoff 21: 41-47.
- Schmid, R. & R.D. Machado. 1963b. Estrutura das pontoações guarnecidas de *Goniorrhachis marginata*, Taub. (Leg. Caes.). Separata dos Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 18: 285-292.
- Schmid, R. & R.D. Machado. 1964. Zur Entstehung und Feinstruktur skulpturierter Hoftüpfel bei Leguminosen. Planta 60: 612-626.
- Scurfield, G. & S.R. Silva. 1970. The vestured pits of *Eucalyptus regnans* F.Muell.: a study using scanning electron microscopy. Botanical Journal of the Linnean Society 63: 313–320.
- Scurfield, G., S.R. Silva & H.D. Ingle. 1970. Vessel wall structure: an investigation using scanning electron microscopy. Australian Journal of Botany 18: 301-312.
- Singh, A.P. & T. Nilson, G.F. Daniel. 1993. *Alstonia scholaris* vestured are resistant to degradation by tunnelling bacteria. IAWA Journal 14: 119-126.
- Sperry, J.S. 2003. Evolution of water transport and xylem structure. International Journal of Plant Science 164: 115-127.
- Spurr, A. 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. Journal of Utrastrural Ressearch 26: 31-49.
- Watanabe, Y., Y. Sano, T. Asada & R. Funada. 2006. Histochemical study of the chemical composition of vestured pits in two species of *Eucalyptus*. IAWA Journal 27: 33-43.
- Wojciechowski, M.F. 2003. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an early 21st century perspective. In: Klitgaard, B. B. & A. Bruneau. (eds.), Advances in Legume Systematics Part 10: 5-35. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Zweypfenning, R.C.V.J. 1978. An hypothesis on the function of vestured pits. IAWA Bulletin 1:13–15.

Fig. 1-5. 1-4. Microscopia de luz. **1.** Secção transversal. Xilema em diferenciação (Xd), elementos de vasos recém-formados somente com parede primária (V1), com a parede secundária com a parede secundária já depositada, em diferenciação (V2) e diferenciados (V). **2.** Secção radial. Elementos de vasos recém-formados em diferenciação (V1), e outros completamente diferenciados (V). **3.** Vaso diferenciado com pontoações areoladas. **4.** Detalhe das pontoações areoladas e alternas, guarnições observadas como pequenas projeções (setas). **5.** Microscopia eletrônica de varredura. Detalhe das guarnições na pontoação areolada. Barra: 1-3 = 70 μm ; 4 = 10 μm ; 5 = 1 μm .

Fig. 6-13. Microscopia eletrônica de transmissão. 6-11. Elemento de vaso em diferenciação. 6. Pontoações entre um elemento de vaso e duas células parenquimáticas. 7. Observe o citoplasma periférico denso. 8. Detalhe do canal da pontoação do elemento de vaso (C), com mitocôndria (Mi) e vesículas. Não são observadas guarnições. Estágios sequenciais da formação das guarnições. 9. Vesículas (Ve) no canal (C) e na câmara da pontoação (Ca) em pontoações intervasculares. 10. Estágio inicial da formação das guarnições onde vesículas são aderidas na parede da câmara da pontoação (seta). 11. Guarnições formadas antes da hidrólise celular. 12. Guarnições formadas. 13. Detalhe da camada elétron densa que reveste as guarnições. Barra: 6 = 8 μm ; 7 = 4 μm ; 8, 11 = 1,5 μm ; 9 = 1,2 μm ; 10, 12 = 1,0 μm ; 13 = 0,5 μm . Mp: membrana da pontoação; P₂: parede secundária; Va: vacúolo.

Fig. 14-19. 14-17. Amostras de Campo Grande, MS. **14.** Elementos de vaso em diferenciação, observe a abertura externa das pontuações sem guarnições. **15.** Parede interna dos elementos de vaso em diferenciação. **16-17.** Pontuações diferenciadas com as guarnições. **16.** Vista da parede interna do vaso. **17.** Vista externa. **18.** Parede interna do elemento de vaso de amostra coletada em Ilhéus, BA. **19.** Parede interna do elemento de vaso de amostra coletada em Mogi Guaçu, SP. Barra: 14 = 15 μm ; 15 = 6,0 μm ; 16 = 3,0 μm ; 17 = 4,0 μm ; 18-19 = 2,0 μm .

ANATOMIA DO LENHO DE PAU-BRASIL (*CAESALPINIA ECHINATA*, LEGUMINOSAE) EM DIFERENTES AMBIENTES

RESUMO

A madeira de pau-brasil foi intensamente explorada desde o descobrimento do Brasil, primeiro para a extração de corantes, e posteriormente para a confecção de instrumentos musicais, principalmente arcos de instrumentos de corda. Foram analisadas amostras pau-brasil provenientes do nordeste e sudeste do país, de indivíduos plantados, com idades semelhantes. Este trabalho tem como objetivo comparar a madeira dessas duas populações. Para isso foram retiradas, através de método não destrutivo, amostras de cinco indivíduos de cada área de coleta. As principais diferenças observadas foram: a inconstante presença das camadas de crescimento, maior número de vasos solitários nos indivíduos proveniente do nordeste, assim como maior quantidade de confluências no parênquima paratraqueal. A estratificação dos raios foi um caráter que predominou nos indivíduos do nordeste, porém, também está presente nos indivíduos do sudeste. Quanto aos dados quantitativos, foram analisados estatisticamente, através de teste t e teste U, os seguintes parâmetros: diâmetro tangencial do vaso, relação entre diâmetro e comprimento do vaso, frequência de vaso por mm² e espessura da parede da fibra. Todos estes parâmetros analisados apresentaram-se significativamente diferentes. Com relação a outros, entretanto, como comprimento de raios, embora as amostras da região nordeste apresentem uma tendência a serem mais largos que amostras da região sudeste, estatisticamente não há diferenças. Este trabalho traz informações sobre a similaridade de madeiras de *Caesalpinia echinata* plantadas fora do seu ambiente natural, contribuindo assim com um melhor conhecimento para o seu uso.

Palavras-chave: pau-brasil, *Caesalpinia echinata*, anatomia da madeira, anatomia ecológica do lenho

ABSTRACT

The wood of Pernambuco wood intensely was exploited since the discovery of Brazil, first for the extraction of pigments, and later for the confection of musical instruments, mainly bows for string instruments. Pernambuco wood samples, proceeding from Northeastern and Southeastern of Brazil, from plantations of trees with similar ages had been analyzed here. This work aims to compare the wood of these two populations. For that samples of five individuals had been collected through a non destructive method, of each area. The main differences were the presence of the growth layers, greater number of solitary vessels in the individuals from the Northeastern, as well as larger amounts of confluences in paratracheal parenchyma. Rays stratification is predominant in individuals from the Northeastern, however, also present in individuals from the Southeastern. Regarding quantitative data, the following parameters were analyzed statistically through t test and U test: vessel tangential diameter, ratio between vessel diameter and length, vessels frequency per mm² and fiber wall thickness. All the parameters were significant different. Regarding others, however, as width of rays, samples from the Northeastern have a trend to be wider than samples of the Southeastern region, however not statistically different. This work brings information on the similarity of secondary xylem of planted Pernambuco wood out of its natural habitat, thus contributing to a better knowledge for its use.

Key-words: pernambuco wood, *Caesalpinia echinata*, wood anatomy, ecological wood anatomy

INTRODUÇÃO

A madeira de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) foi intensamente explorada desde o descobrimento do Brasil, inicialmente para a extração de corante. A popularização do pau-brasil na Europa, a partir do século XVI, deveu-se principalmente às variadas matrizes obtidas de seus pigmentos, e não tanto à qualidade de sua pigmentação. Pelo tratamento ácido com vinagre ou fermento, os artesãos obtinham tons de vermelho, e através de sua alcalinização com cinzas, eram gerados os tons arroxeados (Rezende et al. 2004). Sabe-se que a brasilina ($C_{16}H_{14}O_5$), o corante presente na madeira do pau-brasil, precursor da brasileína, assume a coloração vermelho-coral após oxidação (Mainieri et al. 1983).

Posteriormente, a madeira de pau-brasil começou a ser explorada para a confecção de instrumentos musicais, principalmente arcos de instrumentos de corda, sendo extensivamente procurada no exterior, por apresentar as características ideais de ressonância, densidade, durabilidade, beleza, extensão da curvatura, do peso, da espessura e de preciosas qualidades tonais, tornando-a insubstituível na confecção dos arcos de violino (Bueno 2002, Angyalossy et al 2005).

Apesar do consenso entre produtores, de que o pau-brasil é a melhor madeira para a fabricação de arcos (Matsunaga et al. 1996), Wegst, em 2006, estudando madeiras usadas em instrumento musicais, questiona o porquê da madeira de pau-brasil ser a preferida em relação a outras espécies. Relacionando a velocidade de propagação do som, o coeficiente de radiação do som, e a densidade, entre outros parâmetros, o autor observou que a madeira de pau-brasil preenche todos os requisitos necessários para a confecção de arcos de violino, apresentando os parâmetros ideais.

A denominação vulgar de “pau-brasil”, segundo Mainieri (1960), engloba, na verdade, quatro gêneros diferentes de plantas produtoras de madeira duras e pesadas, reunindo, erroneamente sob o mesmo nome, madeiras que apresentam coloração avermelhada quando recém cortada, a saber: *Brosimum paraense* (Moraceae), *Colubrina rufa* e *Rhamnidium glabrum* (Rhamnaceae) e três espécies de *Sickingia* (Rubiaceae).

No período do descobrimento do Brasil, o pau-brasil era abundante na costa brasileira, ocorrendo desde o Rio Grande do Norte até o Rio de Janeiro, em regiões tropicais e subtropicais (Aguiar & Pinho 1996). Atualmente, não se tem informações precisas acerca da distribuição nem do tamanho das populações remanescentes (Bueno 2002). Segundo o autor, algumas áreas foram confirmadas nos últimos 20 anos, sendo elas concentradas nos estados de Pernambuco, sul da Bahia e no Rio de Janeiro.

De acordo com Lewis (1998), *Caesalpinia echinata* não apresenta táxons infra-específicos, embora muitas populações mostrem diferenças marcantes no tamanho e na forma dos folíolos, na cor da madeira e no hábito. Três diferentes morfotipos de *C. echinata* estão sendo estudados por especialistas brasileiros

(Andre Amorim, comunicação pessoal) e no futuro talvez a espécie possa ser subdividida em subespécies ou variedades. O primeiro morfotipo, o mais comum, apresenta comparativamente os menores folíolos e o cerne de coloração alaranjada, sendo encontrado em muitas localidades ao longo da costa brasileira. O segundo difere pouco do primeiro, apresentando, contudo, folíolos um pouco maiores e cerne com coloração laranja avermelhado. Deste morfotipo são conhecidos apenas representantes cultivados nos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo. O terceiro morfotipo apresenta folíolos muito grandes e cerne vermelho escuro, sendo encontrados naturalmente, até o momento, apenas em uma localidade na Bahia (Lewis 1998).

O presente estudo tem como objetivo comparar indivíduos plantados num bosque experimental e numa plantação na sua área de ocorrência natural, visando ampliar o conhecimento do primeiro descrito acima, em diferentes ambientes. Abordando a similaridade ou diferenças, quantitativas e qualitativas, dessas madeiras pode-se avaliar o uso destas, em substituição aos espécimes nativos remanescentes.

MATERIAL E MÉTODOS

As áreas de estudo desse trabalho foram a Estação Experimental do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (22°15'02"S/47°09'29"W, altitude de aproximadamente de 640 metros), localizado em Mogi Guaçu, no estado de São Paulo, região sudeste do país, e a Fazenda Alegria (14°47'42"S/39°09'55"W, a 50 metros de altitude), localizada em Ilhéus, no estado da Bahia, região nordeste do país.

Os dados climáticos foram fornecidos pela Estação Experimental de Mogi Guaçu do Instituto Florestal do Estado de São Paulo (Fig. 1), e pelo Departamento de Climatologia do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)-Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) de Ilhéus, BA (Fig. 2). Para a confecção do diagrama climático foram utilizados os dados de temperatura e pluviosidade da referida estação. O diagrama foi confeccionado de acordo com a metodologia de Walter & Lieth (1960), para a análise do regime hídrico das duas áreas.

Foram realizadas coletas de cinco espécimes de cada região (Tabela 1) e, devido às restrições de coleta, por se tratar de uma espécie em extinção, utilizou-se um método não-destrutivo para a retirada das amostras (Amano & Angyalossy submetido), que consiste no uso de uma furadeira sem fio, martelo e formão, o que limitou o estudo e a análise somente do alburno. Foram analisadas aqui, amostras pau-brasil, provenientes do nordeste e sudeste do país, de indivíduos plantados com idades semelhantes.

Após a coleta, o material foi imediatamente fixado em FAA (Berlyn & Miksche 1976) e em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965), e colocado no dissecador à vácuo por aproximadamente 30 dias. Após a fixação, as amostras foram lavadas em água corrente por várias horas.

Amostras, previamente amolecidas, foram seccionadas com aproximadamente 15 µm de espessura, em micrótomo de deslize Leica SM2000R (Leica Microsystem, Alemanha). As secções foram posteriormente, clarificadas em água sanitária 50% e coradas com safranina 1% em etanol 50% e azul de astra 1% em etanol 50% (Buckatsch 1972, modificado). Todos as secções foram desidratados em série etanólica e acetato de butila, e montadas em lâminas permanentes com resina sintética: Bálsamo do Canadá ou Entellan®.

Para a verificação da composição dos cristais, foi utilizada a metodologia citada por Chamberlain (1932), e para dissociação dos elementos celulares, adotou-se a metodologia citada por Franklin (1945). O material macerado referente ao xilema foi corado com safranina 1% em etanol 50%.

As descrições anatômicas do xilema seguiram a terminologia recomendada pela Associação Internacional dos Anatomistas de Madeira (IAWA Committe 1989). A análise quantitativa dos elementos celulares do xilema foi realizada com o auxílio do equipamento de digitalização acoplado ao microscópio e o programa KS100-Zeiss (Carl Zeiss MicroImaging Inc, Alemanha). Foram realizadas 30 medições de cada parâmetro. Os resultados das biometrias são apresentados da seguinte forma: (valor mínimo) - média – (valor máximo) ± desvio padrão. Para a análise estatística foi utilizado o programa SystatSystat Software Inc. (Califórnia, Estados Unidos), onde foram realizados os teste de Tukey (*t*), usado para dados paramétricos e o teste de Mann-Whitney (*U*), para dados não paramétricos.

As características importantes do material foram registradas em fotomicroscópio Leica DMLB acoplado a equipamento digital de captura de imagem Leica DFC 320 (Leica Microsystem, Alemanha).

Tabela 1. Relação dos indivíduos utilizados para retirada de amostras de *Caesalpinia echinata* coletados em Ilhéus (Bahia) e em Mogi Guaçu (São Paulo).

local	nº do indivíduo	DAP (cm)	Altura (m)
Ilhéus, BA	I1	68	25
Ilhéus, BA	I2	55	22
Ilhéus, BA	I3	72	28
Ilhéus, BA	I4	48	22
Ilhéus, BA	I5	52	20
Mogi Guaçu, SP	M1	14	7
Mogi Guaçu, SP	M2	16	9
Mogi Guaçu, SP	M3	16	8
Mogi Guaçu, SP	M4	28	10
Mogi Guaçu, SP	M5	16	9

RESULTADOS

DADOS QUALITATIVOS

As características anatômicas mais importantes de *Caesalpinia echinata* estão sumarizadas na Tabela 2.

A camada de crescimento não é uma característica constante nas amostras de *Caesalpinia echinata*, estando presente em alguns espécimes (Fig. 3-6, Tabela 2). Foi observada em quatro espécimes de São Paulo e em um da Bahia, sendo caracterizada pelo parênquima apotraqueal marginal, geralmente com 1 a 2 células de largura (Fig. 4,6), podendo ter três em alguns casos (Fig. 3,5).

Vasos pouco visíveis a olho nu, porosidade difusa, solitários e múltiplos de dois, ou mais (Fig. 7-12, Tabela 2), raramente com mais de cinco. As amostras da Ilhéus (BA) possuem vasos geralmente solitários e múltiplos de dois a três (Fig. 7-9), já as amostras de Mogi Guaçu (SP), possuem vasos solitários, múltiplos de dois e múltiplos de mais de três, distribuídos igualmente (Fig. 10-12). Possuem placa de perfuração simples (Fig. 27-31), geralmente transversais, ou levemente inclinadas, podendo apresentar apêndices curto (Fig. 27, 29) ou longo (Fig. 30) em uma das extremidades. Foram observados vasos cegos, apresentando placa de perfuração em uma só extremidade e a outra extremidade, afilada, sem placa de perfuração (Fig. 29).

As pontoações intervasculares são alternas nas amostras coletadas em ambas as regiões, são arredondadas, apresentando guarnições. As pontoações raio-vasculares são similares às intervasculares.

O parênquima axial, além do apotraqueal marginal eventualmente presente, é do tipo paratraqueal e varia nos espécimes de acordo com a região (Tabela 2). Nas amostras de Ilhéus (BA) predomina o parênquima aliforme (Fig. 9), formando confluências que podem ser curtas (Fig. 8) ou longas com até oito células de largura (Fig. 7). Nos espécimes de Mogi Guaçu (SP), o parênquima é predominantemente vasicêntrico (Fig. 11-12), ou vasicêntrico a aliforme (Fig. 10), podendo formar pequenas confluências (Fig. 10-12). Formado por séries de duas células ou quatro células; quando são em número de quatro células, cada célula tem a metade do comprimento da célula axial na série de duas células, formando, portanto, séries de mesmo comprimento (Fig. 32, 34).

Raios homogêneos, compostos por células procumbentes (Fig. 13-19). Com duas a três células de largura, raros com quatro nos espécimes de Ilhéus (BA) (Fig. 13-15); predominantemente bisseriados nas amostras de Mogi Guaçu (SP) (Fig. 16-18). A estratificação é observada principalmente nas amostras de Ilhéus (Fig. 13-15, Tabela 2), e em duas amostras de Mogi Guaçu (Fig. 18., Tabela 2). Os demais espécimes apresentam raios não estratificados (Fig. 16-17).

Fibras libriformes de paredes espessas a muito espessas (Fig. 7-12). Foram observadas fibras curtas (Fig. 33-35), que podem possuir apenas uma das porções terminais afiladas (Fig. 33, 35).

Cristais prismáticos estão presentes em todas as amostras analisadas, principalmente em séries do parênquima axial, mas também em algumas células radiais. No parênquima axial estão presentes em células subdivididas formando séries longas (Fig. 22, 24, 26) ou curtas (Fig. 33-34, 36); variam em quantidade de acordo com a região: abundantes nas amostras coletadas em Ilhéus (BA) (Fig. 25-26) e menos freqüentes nas amostras coletadas em Mogi Guaçu (SP) (Fig. 23-24). Nos raios são observadas nas células quadradas, localizadas tanto na margem do raio como no corpo (Fig. 20-21), e eventualmente em células procumbentes.

Foram observadas células parenquimáticas com crescimento intrusivo (Fig. 37), chegando a formar cavidade intrusiva (Fig. 38), assim como células disjuntivas com projeções curtas (Fig. 39).

DADOS QUANTITATIVOS

As médias, desvio padrão, valores máximos e mínimos dos valores obtidos pelas medições e contagens estão apresentadas nas Tabela 3, Tabela 4 e Tabela 5. E a comparação entre as análises estatísticas teste t e teste U, estão na Tabela 6. Os dois tipos de teste não apresentaram diferenças no resultado das análises, parâmetros com e sem diferença significativa.

A Tabela 3 apresenta os dados referentes aos elementos de vaso, como: diâmetro tangencial, comprimento, relação diâmetro-comprimento, diâmetro da pontuação intervascular e freqüência de vasos por milímetro quadrado. Os parâmetros, diâmetro do elemento de vaso (Fig. 40), a relação diâmetro-comprimento (Fig. 42) e a freqüência de vasos por milímetro quadrado (Fig. 44) apresentaram diferença significativa entre as amostras de Ilhéus (BA) e Mogi Guaçu (SP) (Tabela 6). Nas amostras de Ilhéus os vasos são maiores e menos freqüentes. O comprimento dos vasos é similar entre as amostras das duas regiões (Fig. 41), entretanto os valores do diâmetro tangencial fazem com que a relação diâmetro-comprimento (Fig. 42) também seja significativamente. O diâmetro das pontuações intervasculares é similar entre as amostras das duas regiões (fig. 43).

Na Tabela 4 estão os dados referentes à largura, altura e freqüência dos raios. Os três parâmetros não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nas amostras das duas regiões - Mogi Guaçu e Ilhéus (Fig. 47-49, Tabela 6). Entretanto, apesar da largura dos raios, tanto em número de células como em micrômetros, não apresentarem diferenças estatisticamente significativas, observa-se nos gráficos (Fig. 45-46) uma tendência de raios mais largos nas amostras de Ilhéus, BA.

Os dados referentes às fibras estão na Tabela 5. Somente o parâmetro espessura da parede (Fig. 50, Tabela 6) apresenta diferença estatisticamente significativa entre os espécimes de Mogi Guaçu e Ilhéus.

Entretanto, ao se analisar o diâmetro do lume da fibra e seu comprimento, respectivamente nas figuras 51 e 52, observa-se uma tendência para valores maiores nas amostras de Ilhéus (BA).

DISCUSSÃO

As características anatômicas observadas estão de acordo com o mencionado por (Mainieri 1960; Mainieri et al. 1983; Détienne & Jacquet 1983; Richter 1988; Longhi 2005; Angyalossy et al. 2005). No entanto, houve algumas variações entre as amostras provenientes das duas áreas, e mesmo entre os espécimes de uma mesma região. Tais características provavelmente estão relacionadas às condições ambientais e individuais.

As camadas de crescimento em pau-brasil se mostraram inconstantes nos indivíduos analisados, estando presentes na maioria das amostras coletadas em Ilhéus (BA), e geralmente ausentes nas amostras coletadas em Mogi Guaçu (SP). Longui (2005) também relata essa variação de presença e ausência de camadas na espécie. Quando presentes, estão delimitadas por parênquima marginal, em linhas ou faixas, como já observada por outros autores, como Mainieri (1960), que as descreveu como pouco visíveis, enquanto Richter (1988) e Smith (1994) mencionam que são distintas. Smith (1994) ainda acrescenta que a camada é também delimitada por uma faixa composta por várias fibras de paredes mais espessas e lume de menor diâmetro. Segundo Smith et al. (1997), as camadas de crescimento em pau-brasil são anuais.

Camadas de crescimento foram observadas por diversos autores em espécies tropicais, e sabe-se que podem ser formadas em períodos de estresse, como por exemplo o estresse hídrico, tanto por alagamento ou por déficit hídrico no solo (Worbes 1995). Segundo esse autor, um período de dois a três meses com precipitação menor que 60 mm, propicia a formação de uma camada de crescimento anual. O estudo de Alves & Angyalossy-Alfonso (2000), com 491 espécies arbóreas da flora brasileira, demonstrou a presença de camadas de crescimento, em 48% delas. Marcati et al. (2006) demonstraram a presença de diferentes tipos de camadas de crescimento em espécies do cerrado. Das 41 espécies estudadas pelas autoras, as camadas estavam ausentes em apenas 6 % das espécies, e relacionando com o comportamento fenológico, observaram que espécies sempre-verdes e decíduas e semi-decíduas têm proporção de presença e ausência de camadas de crescimento similares.

Os vasos têm arranjo difuso, com 50% de vasos solitários e uma frequência maior nas amostras de Ilhéus. Esses dados são similares aos encontrados por Lima (2006) para a espécie *Enterolobium contortisiliquum*, onde amostras provenientes da região Sul do país possuem vasos múltiplos em maior quantidade do que em amostras da região Nordeste.

O maior diâmetro tangencial dos vasos foi observado nas amostras de pau-brasil coletadas na Bahia, onde o clima é quente e úmido, sem um período de seca anual ou com um período seco de no máximo dois meses. Os vasos das amostras de Mogi Guaçu apresentam menor diâmetro e o clima na região caracteriza-se por apresentar um período anual seco e frio. Os vasos maiores observados nos espécimes de Ilhéus promovem uma maior eficiência na condução da água, porém os vasos mais freqüentes e de menor diâmetro são mais seguros em relação à embolia. Shu-min et al. (2207) observou em quatro espécies de leguminosas de uma zona árida, vasos muito estreitos (20-44 μm) e com uma freqüência muito alta (79-122 por mm^2).

Segundo Zimmermann (1982), vasos de menor diâmetro e curtos são mais seguros na condução da água, enquanto que vasos de maior diâmetro e longos são mais eficientes. Não há diferenças significativas nos valores de comprimento dos elementos de vaso entre as amostras de Mogi Guaçu e Ilhéus aqui estudadas. Porém os vasos das amostras de Mogi Guaçu são mais estreitos, o que corrobora com o observado na literatura (Graaff & Baas 1974; Baas et al. 1983; Dickison & Phend 1985; Aguilar-Rodríguez et al. 2006), onde esta característica está ligada ao fato da região possuir um período seco de seis meses, maior que em Ilhéus, onde tem a duração de dois meses. Outra característica, em relação à segurança da condução de água, é a maior quantidade de vasos múltiplos nas amostras de Mogi Guaçu. Segundo Alves & Angyalossy-Alfonso (2000), a formação de grupos de vasos pode ser entendida como uma estratégia para aumentar a segurança na condução hidráulica durante períodos de seca, pois promovem caminhos alternativos para o transporte da água no xilema, em casos de ocorrência de embolismo (Zimmermann, 1983).

Pontoações intervasculares alternas e de contorno arredondado são comuns a vários grupos dentro da família Leguminosae. Não foram observadas diferenças significativas no diâmetro da pontoação nas amostras de Ilhéus em relação às amostras de Mogi Guaçu. Marcati et al. (2001) comparando amostras de *Copaifera langsdorffii* em floresta e cerrado, observaram que as pontoações são maiores na floresta, porém mencionam que para muitos pesquisadores, esse caráter é considerado conservativo para a espécie, o gênero ou mesmo a família e a ordem. As guarnições estão presentes em uma parte do grupo Leguminosae (Jansen et al. 2001), estando presentes em pau-brasil. As diferenças entre as espécies, de acordo com as regiões coletadas, estão citadas no Capítulo III. Muitos autores relacionam a presença de pontoações guarnecidas com estresse hídrico, em ambientes que possuem período seco (Carlquist 1982, 1988; Machado et al. 1997; Alves & Angyalossy-Alfonso 2000).

Em geral, Leguminosae possuem placas de perfuração simples (Metcalf & Chalk 1950). Segundo Alves & Angyalossy-Alfonso (2000), 95% das espécies estudadas na flora brasileira possuem placas de perfuração simples, consideradas mais eficientes quando o fluxo de água é maior (Wheeler & Baas 1991).

O parênquima axial apresentou também uma variação em quantidade entre as amostras de Mogi Guaçu e Ilhéus, o que comprova o já mencionado por Angyalossy et al. (2005) em pau-brasil, onde as autoras correlacionam a latitude e os fatores climáticos com as características do parênquima axial. O parênquima axial está presente em maior quantidade com a menor latitude, caracterizado pelo parênquima aliforme confluyente, às vezes formando longas confluências, como observado nas amostras de Ilhéus. E o parênquima axial mais escasso está relacionado a ambientes mais secos e de maior latitude, como em Mogi Guaçu, onde os espécimes apresentaram parênquima formando curtas confluências.

Segundo Wheeler & Baas (1991), o parênquima paratraqueal é mais comum em espécies de regiões tropicais do que em espécies de regiões temperadas. A relação direta da abundância do parênquima com latitudes menores também foi observada para espécies tropicais por outros autores (Baas 1973; Baas & Zhang 1986; Baas & Schweingruber 1987; Alves & Angyalossy-Alfonso 2002).

Quanto ao parênquima radial, os espécimes apresentaram algumas diferenças qualitativas e quantitativas. A estratificação dos raios em pau-brasil foi observada por muitos autores, porém inconstante ou irregular (Mainieri 1960; Mainieri et al. 1983; Smith 1994; Longui 2005; Angyalossy et al. 2005). Neste trabalho, essa variação também foi observada, tanto nos indivíduos coletados em Ilhéus como em Mogi Guaçu, apresentaram raios estratificados e não estratificados.

A estratificação é bastante utilizada na identificação de madeiras e está presente em diversos grupos, o que sugere que tenha surgido várias vezes na evolução. Entretanto, a sua presença tende a caracterizar certos grupos, como as Malvales e muitas das Berberidales (Calquist, 1988). A presença de raios estratificados não é constante, nem entre espécimes da mesma área, embora presentes em quatro indivíduos de Ilhéus, e em um indivíduo de Mogi Guaçu, o que indicaria uma tendência da sua presença em indivíduos de pau-brasil em latitudes menores ou ambientes mais úmidos.

As amostras de Mogi Guaçu possuem raios com uma a duas células de largura, e em Ilhéus, de três a quatro. Embora a largura dos raios entre as duas áreas não seja estatisticamente significativa, há a tendência de serem mais largos nas amostras de Ilhéus. Lima (2006) não observou variação na largura do raio de *Enterolobium contortisiliquum* entre indivíduos coletados no estado da Paraíba e Rio Grande do Sul. Alves (1997) e Alves & Angyalossy-Alfonso (2002), que encontraram relação de raios mais estreitos com menores latitudes, analisaram várias espécies e não a variação em uma mesma espécie. Mais trabalhos são necessários sobre este quesito.

As fibras são libriformes, com paredes mais espessas nos espécimes de Mogi Guaçu, o se deve ao ambiente mais seco, corroborando Barajas-Morales (1985), que verificam o mesmo, comparando uma floresta úmida e uma seca, observando que as espécies de floresta seca tinham fibras com paredes mais

espessas. Tais resultados foram similares aos encontrados por Lima (2006) e Alves & Angyalossy-Alfonso (2002).

A presença de cristais na família Leguminosae foi observada por Gomes & Muñiz (1986), Gourlay & Grime (1994), Ceccantini (1996), Luchi (1998), Marcati et al. (2001), Longui (2005). Em diferentes ambientes estes podem ocorrerem em diversos tipos celulares. Os cristais podem ser características suficientes para a identificação de madeira (Evert 2006), como já mencionado por Chattaway (1955), de acordo com tipo e a localização no tecido.

As células cristalíferas estão presentes nas amostras de ambas as regiões, porém, mais abundantes nas amostras de Ilhéus. A ocorrência de maior quantidade de cristais em menores latitudes também foi observada em *Ilex* (Baas 1973), *Acacia melanoxylon* (Wilkins & Papassotiriou 1989) e *Enterolobium contortisiliquum* (Lima 2006). Com relação ao ambiente, a presença de cristais foi observada em ambientes de menor estresse hídrico como na família Rosaceae, observada por Zhang et al. (1992). Contudo, muitos autores relacionam a presença de cristais com ambientes secos (Barajas-Morales 1985, Lima 2006).

Conclui-se, neste trabalho, que as diferenças observadas no diâmetro dos vasos, na distribuição e quantidade de parênquima axial, na estratificação dos raios, são parâmetros que devem ser considerados quando se busca responder por que a qualidade madeira de pau-brasil varia quando se utilizam diferentes amostras provenientes de regiões distintas. Os fatores ambientais devem ser levados em consideração nos trabalhos de plantio de reflorestamento da espécie para este fim.

AGRADECIMENTOS

A Silvana Hammerer pelo auxílio na confecção das secções histológicas e a Ms. Licléia Rodrigues, pelo auxílio nas análises estatísticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, F.F.A. & Pinho, R.A. 1996. Pau brasil – *Caesalpinia echinata* Lam. Folheto 18. São Paulo, Instituto de Botânica.
- Aguilar-Rodríguez, S., T. Teresa Terrazas & L. López-Mata. 2006. Anatomical wood variation of *Buddleja cordata* (Buddlejaceae) along natural range in Mexico. *Trees* 20: 253-261.
- Alves, E.S. & Angyalossy, V. 2000. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. 1. Growth rings and vessels. *IAWA Journal* 21: 3-30.
- Alves, E.S. 1997. Anatomia do lenho de algumas famílias arbóreas da flora brasileira, de acordo com diferentes ambientes. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

- Alves, E.S. & Angyalossy, V. 2002. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. 2. Axial parenchyma, rays and fibres. IAWA Journal 23: 391-418.
- Amano, E. & V. Angyalossy. submetido. A new sampling method for cambium studies in tropical trees. IAWA Journal.
- Angyalossy, V., Amano, E. & Alves, E.S. 2005. Madeira utilizadas na fabricação de arcos instrumentos de corda: aspectos anatômicos. Acta Botanica Brasilica 19: 819-834.
- Baas, P. & Schweingruber, F.H. 1987. Ecological trend in the wood anatomy of trees, shrubs and climbers from Europe. IAWA Bulletin 8: 245-274.
- Baas, P. & Zhang, X. 1986. Wood anatomy of trees and shrubs from China. I. Oleaceae. IAWA Bulletin 7: 195-220.
- Baas, P. 1973. The anatomy of *Ilex* (Aquifoliaceae) and its ecological and phylogenetic significance. Blumea 21: 193-258.
- Baas, P., Werker, E. & Fahn, A. 1983. Some ecological trends in vessel characters. IAWA Bulletin 4: 141-159.
- Barajas-Morales, J. 1985. Wood structural differences between trees of two tropical forests in México. IAWA Bulletin 6: 355-364.
- Berlyn, G.P. & J.P. Miksche. 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames.
- Bueno, E. 2002. Pau-brasil. Axis Mundi, São Paulo.
- Bukatsch, F. 1972. Bemerkungem zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. Mikrokosmos. 6: 255.
- Carlquist, S. 1988. Comparative wood anatomy - systematic ecological and evolutionary aspects of dicotyledonean wood. Springer Verlag, Berlin.
- Carlquist, S. 1982. Wood anatomy of *Illicium* (Illiciaceae). Phylogenetical, ecological and functional interpretations. American Journal of Botany 69: 1587-1598.
- Ceccantini, G.T. 1996. Anatomia ecológica do lenho de espécies de cerrado e mata: *Casearia sylvestris* Sw. E *Machaerium villosum* Vog. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Chamberlain, C.J. 1932. Methods in plant histology. 5^a ed. Chicago. The University of Chicago Press.
- Détienne, P. & Jacquet, P. 1983. Atlas d'identification des bois de l'amazone et des régions voisines. Nogent-sur-Marne, Centre Technique Forestier Tropical.
- Dickison, W.C. & Phend, K.D. 1985. Wood anatomy of the Styracaceae: evolutionary and ecological considerations. IAWA Bulletin 6: 3-22.
- Evert, R.F. 2006. Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: their Structure, Function, and Development. 3rd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Franklin, G.L. 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. Nature 155: 51.
- Gomes, A.V. & Muñiz, G.I.B. 1986. Wood structure and ultrastructure of *Prosopis caldenia*, *P. chilensis* and *P. juliflora* and influence of ecological factors. *Prosopis* International Conference, FAO: 195-216.

- Gourlay, I.D. & Grime, G.W. 1994. Calcium oxalate crystals in African *Acacia* species and their analysis by scanning proton microprobe (SPM). *IAWA Journal* 15: 137-148.
- Graaff, N.A. van der & Baas, P. 1974. Wood anatomical variation in relation to latitude and altitude. *Blumea* 22: 101-121.
- IAWA Committee. 1989. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. E.A. Wheeler; P. Baas & P. Gasson (eds.). *IAWA Bulletin* 10: 219-332.
- Jansen, S., P. Baas & E. Smets. 2001. Vestured pits: their occurrence and systematic importance in eudicots. *Taxon* 50: 135-167.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Lewis, G.P. 1998. A revision of the Poiciellina - Erythrostemon Group. Kew, Royal Botanic Garden.
- Lima, R.S. 2005. Anatomia comparada do lenho de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae-Mimosoideae) em diferentes condições latitudinais. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande. 112pp.
- Longhi, E.L. 2005. Pau-brasil e outras espécies nativas empregadas na confecção de arcos para instrumentos de corda: um estudo comparativo. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Luchi, A.E. 1998. Periodicidade de crescimento em *Hymenaea courbaril* L. e anatomia ecológica do lenho de espécies de mata ciliar. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Machado, S.R., Angyalossy-Alfonso, V. & Morretes, B.L. 1997. Comparative wood anatomy of root and stem in *Styrax camporum* (Styracaceae). *IAWA Journal* 18:13-25.
- Mainieri, C. 1960. Estudo macroscópico de madeiras conhecidas por Pau brasil. Instituto de Pesquisa Tecnológica. Publicação 612. IPT, São Paulo.
- Mainieri, C., J.P. Chimento & V. Angyalossy. 1983. Manual de identificação das principais madeiras comerciais brasileiras. São Paulo, Promocet.
- Marcatti, C.R., Angyalossy-Alfonso, V. & Benetati, L. 2001. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae- Caesalpinoideae) de floresta e cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 311-320.
- Marcatti, C.R., J.S. Oliveira & S.R. Machado. 2006. Growth rings in Cerrado Woody species: occurrence and anatomical markers. *Biota Neotropica* 6: <http://www.Biotaneotropica.org.br/v6n3/PT/abstract?article+bn00206032006>.
- Matsunaga, M., Sugiyama, M., Minato, K. & Norimoto, M. 1996. Physical and mechanical properties required for violin bow materials. *Holzforschung* 50: 511-517.
- Metcalfe, C.R. & L. Chalk. 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford.
- Rezende C.M., V.F.S. Corrêa, A.V.M. Costa, B.C.S. Castro & R.J.V. Alves. 2004. Constituintes químicos voláteis das flores e folhas do pau-brasil (*Caesalpinia echinata*, Lam.). *Química Nova* 27: 414-416.
- Richter, H.G. 1988. Holz als Rohstoff für den Musikinstrumentenbau. Germany, Moeck Verlag Celle.

- Shu-mim, Y., J. Ze-hui, R. Hai-qing & I. Furukawa. 2007. Anatomical variations in wood among four native species of Leguminosae grown in arid areas of China. *Forest Studies in China* 9: 39-44.
- Smith, R.B. 1994. Periodicidade do crescimento do tronco de cinco espécies no sul da Bahia. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Smith, R.B., E.A.M. Silva, P.T. Alvim & M. Maestri. 1997. Periodicidade do crescimento do tronco de cinco espécies no sul da Bahia, Brasil. *Agrotrópica* 9: 99-106.
- Walter, H. & H. Lieth. 1960. *Klimadiagramm weltatlas*. Fisher Verlag. Jena.
- Wegst, U.G.K. 2006. Wood for sound. *American Journal of Botany* 93: 1439–1448.
- Wheeler, E.A. & Baas, P. 1991. A survey of the fossil record for dicotyledonous wood and its significance for evolutionary and ecological wood anatomy. *IAWA Bulletin* 12: 275-332.
- Wilkins, A.P. & Papassotiriou, S. 1989. Wood anatomical variation of *Acacia melanocalyx* in relation to latitude. *IAWA Bulletin* 10: 201-207.
- Worbes, M. 1995. How to measure growth dynamics in tropical trees. A review. *IAWA Journal* 16: 337-351.
- Zhang, S.Y., P. Baas & M. Zandee. 1992. Wood structure of the Rosaceae in relation to ecology, habit and phenology. *IAWA Bulletin* n.s. 13(3):307-349.
- Zimmermann, M.H. 1982. Functional xylem anatomy of angiosperms trees. In: P. Baas (ed.). *New Perspectives in Wood Anatomy*. The Hague, Martinus Nijhoff Publishers.
- Zimmermann, M.H. 1983. *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlin, Springer Verlag.

Tabela 2. Principais características qualitativas dos espécimes de *Caesalpinia echinata* coletados em Ilhéus (Bahia) e em Mogi Guaçu (São Paulo).

espécimes	cc	vasos			parênquima axial				parênquima radial	cristais	
		agrupamento (%)			apotraqueal	paratraqueal					
		solitários	múltiplos de 2	de mais		vasicêntrico	aliforme	confluente			faixas
Ilhéus 1	-	50	30	20	-		+	+		estratificado	+
Ilhéus 2	+	60	30	10	marginal		+	+	+	não estratificado	++
Ilhéus 3	+	60	20	20	marginal		+	+		estratificado	+
Ilhéus 4	+	40	40	20	marginal		+	+		estratificado	+++
Ilhéus 5	+	60	30	10	marginal		+	+		estratificado	++
Mogi Guaçu 1	+	40	40	20	marginal	+			+	não estratificado	+
Mogi Guaçu 2	-	50	30	20	-		+			não estratificado	+
Mogi Guaçu 3	-	40	30	30	-	+				estratificado	+
Mogi Guaçu 4	-	40	30	30	-	+		+		estratificado	+
Mogi Guaçu 5	-	40	30	30	-	+		+		não estratificado	+

cc: camada de crescimento; - ausente; + presente; ++ frequentes; +++ muito frequentes

Tabela 3. Dados quantitativos dos vasos de *Caesalpinia echinata* coletados em Ilhéus (Bahia) e em Mogi Guaçu (São Paulo).

espécimes	vaso				
	diâmetro	comprimento	relação diâmetro/comprimento	diâmetro da pontoação	frequência por mm ²
Ilhéus 1	(101,9)- 79,1 -(53,3) ± 12,4	(388,4)- 288,1 -(206,1) ± 38,7	(0,7)- 0,4 -(0,1) ± 0,1	(3,7)- 5,3 -(6,7) ± 0,7	(17)- 12,5 -(7) ± 2,1
Ilhéus 2	(79,7)- 62,3 -(49,1) ± 9,1	(323,9)- 249,5 -(103,1) ± 43,9	(1,0)- 0,4 -(0,1) ± 0,2	(3,6)- 4,7 -(5,9) ± 0,4	(16)- 9,9 -(5) ± 2,6
Ilhéus 3	(114,0)- 86,6 -(60,3) ± 12,3	(353,2)- 280,1 -(193,9) ± 40,5	(0,4)- 0,3 -(0,2) ± 0,1	(4,7)- 5,8 -(6,9) ± 0,6	(19)- 13,3 -(10) ± 2,7
Ilhéus 4	(82,8)- 65,9 -(50,8) ± 10,1	(354,3)- 294,9 -(249,4) ± 25,2	(0,6)- 0,4 -(0,2) ± 0,1	(5,2)- 6,1 -(7,2) ± 0,5	(18)- 9,6 -(6) ± 3,2
Ilhéus 5	(110,3)- 77,0 -(25,4) ± 16,4	(382,7)- 310,4 -(151,9) ± 43,4	(1,8)- 0,4 -(0,2) ± 0,3	(3,8)- 5,3 -(6,6) ± 0,6	(19)- 14,6 -(11) ± 2,1
Média	(114, 0)-74,2-(25,4) ± 15,1	(388,4)-277,4-(103,1) ± 43,4	(1,8)-0,4-(0,1) ± 0,2	(7,3)-5,4-(3,6) ± 0,7	(19,0)-12-(5,0) ± 3,2
Mogi Guaçu 1	(77,9)- 56,0 -(28,2) ± 13,1	(366,6)- 308,5 -(168,2) ± 52,0	(0,9)- 0,4 -(0,2) ± 0,1	(4,0)- 5,0 -(6,3) ± 0,6	(24)- 16,5 -(11) ± 2,6
Mogi Guaçu 2	(73,0)- 58,0 -(38,6) ± 8,6	(316,3)- 254,6 -(195,4) ± 38,0	(0,4)- 0,3 -(0,1) ± 0,1	(4,8)- 6,0 -(7,4) ± 0,7	(20)- 14,5 -(10) ± 2,4
Mogi Guaçu 3	(77,1)- 54,1 -(29,0) ± 10,2	(303,2)- 236,1 -(164,9) ± 34,2	(0,6)- 0,4 -(0,2) ± 0,1	(3,6)- 5,0 -(6,0) ± 0,6	(24)- 17,2 -(12) ± 3,0
Mogi Guaçu 4	(75,7)- 58,9 -(38,2) ± 9,4	(421,5)- 319,6 -(269,6) ± 38,0	(0,5)- 0,3 -(0,2) ± 0,1	(3,6)- 4,7 -(6,1) ± 0,6	(24)- 18,4 -(14) ± 2,8
Mogi Guaçu 5	(71,5)- 54,0 -(37,3) ± 10,0	(361,8)- 301,7 -(222,2) ± 34,3	(0,5)- 0,3 -(0,1) ± 0,1	(4,3)- 6,0 -(7,3) ± 0,7	(24)- 16,2 -(10) ± 3,8
Média	(77,9)-56,2-(28,2) ± 10,4	(421,5)- 284,1 -(164,9) ± 51,2	(0,9)-0,3-(0,1) ± 0,1	(7,4)-5,3-(3,6) ± 0,8	(24,0)-16,6-(10,0) ± 3,2

Tabela 4. Dados quantitativos do parênquima radial de *Caesalpinia echinata* coletados em Ilhéus (Bahia) e em Mogi Guaçu (São Paulo).

espécimes	parênquima radial				
	largura		altura		frequência por mm
	um	nº de células	um	nº de células	
Ilhéus 1	(28,4)- 21,0 -(14,2) ± 3,9	(3)- 2,1 -(1) ± 0,6	(278,9)- 188,0 -(113,7) ± 31,5	(18)- 13 -(8) ± 2,5	(11)- 8,3 -(7) ± 1,1
Ilhéus 2	(32,0)- 25,5 -(15,8) ± 4,4	(4)- 2,4 -(1) ± 0,6	(327,7)- 214,6 -(122,1) ± 52,5	(18)- 13,2 -(5) ± 3,3	(10)- 7,8 -(6) ± 1,1
Ilhéus 3	(34,9)- 23,6 -(14,9) ± 4,8	(4)- 2,5 -(2) ± 0,6	(336,5)- 216,1 -(159,8) ± 41,4	(18)- 12,2 -(6) ± 3,0	(11)- 8,2 -(6) ± 1,0
Ilhéus 4	(27,8)- 17,6 -(9,2) ± 4,0	(3)- 1,8 -(1) ± 0,5	(197,0)- 157,5 -(122,6) ± 19,2	(19)- 10,1 -(4) ± 3,3	(12)- 9,4 -(8) ± 1,1
Ilhéus 5	(28,6)- 18,2 -(7,6) ± 4,9	(3)- 2,1 -(1) ± 0,6	(250,7)- 184,2 -(94,2) ± 38,0	(19)- 12,2 -(4) ± 4,5	(13)- 9,9 -(8) ± 1,2
Média	(34,9)-21,2-(7,6) ± 5,3	(4,0)-2,2-(1,0) ± 0,6	(336,6)-192,1-(94,2) ± 43,5	(19,0)-12,2-(3,0) ± 3,4	(13,0)-8,2-(2,0) ± 1,4
Mogi Guaçu 1	(33,3)- 19,5 -(9,0) ± 4,5	(3)- 1,9 -(1) ± 0,5	(286,3)- 201,7 -(128,0) ± 40,3	(21)- 14,2 -(9) ± 3,2	(13)- 9,5 -(7) ± 1,6
Mogi Guaçu 2	(23,7)- 17,2 -(9,8) ± 3,2	(2)- 1,8 -(1) ± 0,6	(281,7)- 187,4 -(110,9) ± 36,2	(17)- 11,8 -(7) ± 2,6	(14)- 9,8 -(8) ± 1,4
Mogi Guaçu 3	(30,9)- 21,4 -(16,1) ± 3,5	(3)- 2,1 -(1) ± 0,5	(224,7)- 167,1 -(122,3) ± 25,0	(16)- 11,7 -(3) ± 3,1	(19)- 9,6 -(7) ± 2,1
Mogi Guaçu 4	(28,4)- 20,2 -(8,8) ± 4,9	(3)- 1,8 -(1) ± 0,7	(293,8)- 210,0 -(156,0) ± 32,9	(17)- 12,1 -(8) ± 2,3	(10)- 8,1 -(7) ± 0,9
Mogi Guaçu 5	(33,3)- 21,1 -(14,0) ± 3,9	(3)- 2,1 -(1) ± 0,4	(321,0)- 206,2 -(115,2) ± 42,9	(19)- 14,1 -(8) ± 2,5	(17)- 8,2 -(6) ± 1,9
Média	(33,3)-19,9-(8,8) ± 4,3	(3,0)-1,9-(1,0) ± 0,5	(321,1)-194,5-(110,9) ± 38,9	(21,0)-12,8-(4,0) ± 2,9	(19,0)-9,1-(2,0) ± 1,8

Tabela 5. Dados quantitativos das fibras libriformes de *Caesalpinia echinata* coletados em Ilhéus (Bahia) e em Mogi Guaçu (São Paulo).

espécimes	Fibras libriformes		
	espessura da parede	lume	comprimento
Ilhéus 1	(6,9)- 5,2 -(4,1) ± 0,7	(3,0)- 1,9 -(1,2) ± 0,5	(1,6)- 1,1 -(0,8) ± 0,2
Ilhéus 2	(7,1)- 5,1 -(3,7) ± 0,8	(4,0)- 2,0 -(1,3) ± 0,5	(1,2)- 0,9 -(0,6) ± 0,1
Ilhéus 3	(7,2)- 5,1 -(3,5) ± 0,8	(2,6)- 1,9 -(0,9) ± 0,4	(1,6)- 1,1 -(0,7) ± 0,2
Ilhéus 4	(5,7)- 4,4 -(3,3) ± 0,7	(4,4)- 1,9 -(0,7) ± 0,8	(2,0)- 1,1 -(0,8) ± 0,2
Ilhéus 5	(6,1)- 4,8 -(3,5) ± 0,6	(3,5)- 2,5 -(1,8) ± 0,5	(1,4)- 1,1 -(0,8) ± 0,1
Média	(2,0)-1,1-(0,6) ± 0,2	(4,4)-2,0-(0,7) ± 0,6	(7,2)-4,9-(3,3) ± 0,8
Mogi Guaçu 1	(7,7)- 6,1 -(4,5) ± 0,8	(2,6)- 1,6 -(1,0) ± 0,4	(1,4)- 1,0 -(0,7) ± 0,2
Mogi Guaçu 2	(6,9)- 5,6 -(4,0) ± 0,7	(3,2)- 1,7 -(0,7) ± 0,5	(1,3)- 1,0 -(0,6) ± 0,2
Mogi Guaçu 3	(7,8)- 6,2 -(4,6) ± 0,7	(3,0)- 1,7 -(1,0) ± 0,4	(1,3)- 1,1 -(0,7) ± 0,1
Mogi Guaçu 4	(7,1)- 5,9 -(4,0) ± 0,8	(2,7)- 1,6 -(0,6) ± 0,4	(1,3)- 1,0 -(0,6) ± 0,2
Mogi Guaçu 5	(7,6)- 5,5 -(3,7) ± 1,1	(3,4)- 2,0 -(1,0) ± 0,5	(1,3)- 1,0 -(0,8) ± 0,1
Média	(1,4)-1,0-(0,6) ± 0,2	(3,4)-1,7-(0,6) ± 0,5	(7,8)-5,9-(3,7) ± 0,9

Tabela 6. Dados referentes ao teste t e teste U para os diferentes parâmetros analisados de amostras de *Caesalpinia echinata* coletadas em Ilhéus (Bahia) e em Mogi Guaçu (São Paulo).

Parâmetros	Teste t (p)	Teste U (p)	Diferença significativa para ambos os testes
Diâmetro tangencial do elemento de vaso (um)	0,014	0,009	+
Comprimento do elemento de vaso (um)	0,918	0,754	-
Relação diâmetro x comprimento (um)	0,028	0,028	+
Diâmetro da pontuação intervascular (um)	0,785	0,602	-
Frequência do elemento de vaso por mm ²	0,006	0,016	+
Largura do raio (um)	0,462	0,602	-
Largura do raio (n° de células)	0,103	0,917	-
Comprimento do raio (um)	0,863	0,094	-
Comprimento do raio (n° de células)	0,436	0,917	-
Frequência do raio por mm	0,567	0,675	-
Espessura da parede da fibra (um)	0,002	0,009	+
Diâmetro do lume (um)	0,062	0,076	-
Comprimento da fibra (mm)	0,331	0,117	-

1

2

Fig. 1-2. Diagrama climático e dados fenológicos. 1. Mogi Guaçu, SP. 2. Ilhéus, BA.
 Período hídrico: ■ excedente, ▨ reposição/perda de água no solo, ::::: déficit hídrico no solo.

Fig. 3-6. Camadas de crescimento. **3-5.** Amostras coletadas em Ilhéus, Bahia. **3-4.** Camada de crescimento presente, demarcada pelo parênquima em linha marginal (seta). **5.** Camada de crescimento caracterizada pela linha marginal com cerca de três células de largura (seta). **6.** Secção transversal, da amostra coletada em Mogi Guaçu, São Paulo. A seta indica o parênquima marginal com uma a duas células de largura. Barra: 3,4 = 0,5 cm; 5 = 150 μ m; 6 = 30 μ m.

Fig. 7-12. Secções transversais do lenho de pau brasil. **7-9.** Amostras coletadas em Ilhéus, Bahia. Vasos solitários e múltiplos. **7.** Parênquima aliforme formando confluências longas (I2). **8.** Parênquima aliforme formando confluências curtas (I3). **9.** Parênquima aliforme formando confluências curtas (I5). **10-12.** Amostras coletadas em Mogi Guaçu, São Paulo. Vasos solitários e múltiplos. **10.** Parênquima vasicêntrico a aliforme (M2). **11.** Parênquima vasicêntrico com confluências curtas (M4). **12.** Parênquima vasicêntrico com confluências curtas (M5). Barra = 80 μ m.

Fig. 13-18. Secções tangenciais do lenho de pau brasil. **13-15.** Amostras coletadas em Ilhéus, Bahia. **13.** Raios estratificados com três a quatro células de largura (I4). **14.** Raios não estratificados com duas a três células de largura (I2). **15.** Raios estratificados com duas células de largura (I5). **16-18.** Amostras coletadas em Mogi Guaçu, São Paulo. **16.** Raios não estratificados com duas células de largura (M2). **17.** Raios não estratificados com duas células de largura (M1). **18.** Raios estratificados com duas células de largura (M4). Barra = 60 μm .

Fig. 19-26. Secções longitudinais da madeira de pau brasil. **19-22.** Secções radiais. **19.** Raios homogêneos constituídos por células procumbentes (I5). **20-21.** Cristais prismáticos em células quadradas marginais radiais e em células procumbentes do corpo do raio (I2). **21.** Sob luz polarizada. **22.** Parênquima axial em série cristalífera, com quinze células contendo cristais. **23-26.** Secções tangenciais. **23-24.** Amostras coletadas em Mogi Guaçu, São Paulo (M3). **23.** Cristais em séries parenquimáticas axiais (setas). **24.** Sob luz polarizada (setas). **25-26.** Amostras coletadas em Ilhéus, Bahia (I4). **25.** Cristais em séries parenquimáticas axiais em abundância. **26.** Sob luz polarizada. Barra: 19 = 50 μm ; 20-21 = 12 μm ; 22 = 25 μm ; 23-26 = 35 μm .

Fig. 27-39. Macerado do lenho de pau brasil. **27-31.** Elementos de vaso. **27.** Elemento de vaso de grande calibre, placa de perfuração simples transversal, com um pequeno apêndice em uma extremidade. **28.** Elemento de vaso com parênquima axial adjacente formando uma série parenquimática com quatro células. **29.** Elementos de vaso, de grande calibre à esquerda da figura e pequenos, à direita. Vaso cego com uma das extremidades afiladas (seta). **30.** Elemento de vaso com placa de perfuração simples e um grande apêndice em uma extremidade. **31.** Elemento de vaso de pequeno calibre. **32-34.** Séries parenquimáticas. **32.** Séries parenquimáticas com duas e quatro células por série; fibra com uma extremidade não afilada. **33-34.** Uma das células da série encontra-se subdividida contendo cristais. **35.** Fibras curtas com apenas uma das extremidades afiladas. **36.** Série parenquimática com nove células contendo cristais. **37.** Crescimento intrusivo em célula parenquimática. **38.** Cavidade intrusiva em célula parenquimática (seta). **39.** Células disjuntivas (setas). Barra: 27-38 = 50 μ m, 39 = 35 μ m.

Fig. 40-44. Gráfico com os dados quantitativos dos elementos de vaso em pau-brasil em Mogi Guaçu, SP e Ilhéus, BA. **40.** Diâmetro tangencial do elemento de vaso. **41.** Comprimento do elemento de vaso. **42.** Relação diâmetro x comprimento do elemento de vaso. **43.** Diâmetro da pontuação. **44.** Frequência de vaso por mm².

Fig. 45-49. Gráfico com os dados quantitativos dos raios em pau-brasil em Mogi Guaçu, SP e Ilhéus, BA. **45.** Largura do raio (μm). **46.** Largura do raio (em número de células). **47.** Altura do raio (μm). **48.** Altura do raio (em número de células). **49.** Freqüência de raio por mm.

Fig. 50-52. Gráfico com os dados quantitativos das fibras em pau-brasil em Mogi Guaçu, SP e Ilhéus, BA. **45.** Espessura da parede da fibra (μm). **51.** Diâmetro do lume da fibra (μm). **52.** Comprimento da fibras (mm).

ESTRUTURA E DESENVOLVIMENTO DO FLOEMA EM PAU-BRASIL (*CAESALPINIA ECHINATA*, LEGUMINOSAE)

RESUMO

A árvore de pau-brasil, nativa da costa brasileira, foi intensamente explorada, ao longo da colonização do Brasil, dada a importância da sua madeira. Devido a sua importância econômica, o lenho já foi descrito por diversos autores, porém não há registros sobre o floema da espécie. O presente trabalho aborda a estrutura e a formação do floema na espécie. O ritidoma possui de duas a três peridermes. A presença de uma feloderme esclerificada é citada pela primeira vez para a espécie, bem como a presença de lenticelas. No floema de pau-brasil não foi detectada a presença de marcadores de crescimento. O floema é composto por uma porção condutora e uma não condutora. O floema condutor corresponde de 1/4 a 1/6 do floema secundário total. Os elementos de tubo crivado distribuem-se de forma solitária ou formando grupos, alternando-se com células do parênquima axial, acarretando um arranjo tangencial alternado entre esses dois tipos celulares. As paredes terminais dos elementos de tubo crivado são transversais a inclinadas, com placa crivada composta. Cada elemento crivado está associado geralmente a uma ou, eventualmente, duas séries axiais, de duas ou quatro células companheiras. Os elementos de tubo crivado, no início de sua diferenciação, possuem núcleo e proteína-P não dispersa. Posteriormente, a placa crivada começa a diferenciar, e a calose é depositada ao redor do crivo. O núcleo se degenera, e a placa se diferencia. O início de formação do floema não condutor é caracterizado pela perda do núcleo da célula companheira, seguido pela deposição da calose definitiva nas placas crivadas, início de diferenciação de esclereídes e conseqüente inatividade destes. Posteriormente há o colapso dos elementos condutores, aumento das células parenquimáticas e dos espaços intercelulares. As esclereídes são envolvidas por células cristalíferas.

Palavra-chave: *Caesalpinia echinata*, floema, desenvolvimento, diferenciação, elemento de tubo crivado, periderme, feloderme esclerificada.

ABSTRACT

Pernambuco wood tree, native of Brazilian coast, was intensely exploited during Brazilian colonization, given its wood properties. Due to its economical importance, wood was already described by several authors however there are not many studies about the species phloem. The present work studies phloem structure and formation in the species. The rhytidom has two to three periderms. Phloem is composed by a conductive and non conductive portion. The conductive phloem corresponds from 1/4 to 1/6 of the secondary phloem. Sieve tube elements are solitary or forming groups, forming an alternate tangential arrangement with parenchyma cells. Terminal walls are transverse to obliquous, with composed sieve plates. Each sieve element is usually associated to one or, rarely, two axial series, of two to four companion cells. The sieve tube elements, in the beginning of differentiation, possess nucleus and non disperse protein-P. Later on, the sieve plate begins to differentiate, and callose is deposited around the sieves. Nucleus degenerates, and plate differentiate. Non conductive phloem is characterized by deposition of definite callose in the sieve plates, leading to inactivity in conduction. Afterwards there is the collapse of conductive elements, followed by increase of parenchyma cells and intercellular spaces. In non conductive phloem sclereids are observed with crystalliferous cells around. The presence of growth markers was not detected in Pernambuco wood phloem.

Key words: *Caesalpinia echinata*, phloem, development, sieve tube elements, differentiation, periderm, sclerified feloderm

INTRODUÇÃO

Caesalpinia echinata Lam. (Leguminosae) é a espécie símbolo do Brasil, de grande importância histórica. A árvore de pau-brasil foi intensamente explorada no período do descobrimento, durante o século XVI, para a extração de corante e, atualmente, a sua madeira é utilizada na fabricação de arcos para instrumentos de corda. Devido a sua importância econômica, o lenho já foi descrito por vários autores (Mainieri 1960; Mainieri et al. 1983; Détienne & Jacquet 1983; Richter 1988; Longhi 2005; Angyalossy et al. 2005), porém, não há registros sobre o floema da espécie.

Em aspectos gerais, existem poucos estudos sobre o floema em espécies arbóreas no Brasil, quando comparados aos realizados com o xilema, principalmente no que se refere à sazonalidade e ao desenvolvimento. Os estudos abordando aspectos do floema realizados no Brasil são mais voltados para aspectos estruturais da casca, descritivos ou relacionados à taxonomia. Dentre estes estudos, podemos citar: Angyalossy-Alfonso (1983, 1987), que estudou a anatomia da casca de várias espécies de *Eucalyptus*, com fins taxonômicos; Alves (1996) realizou um estudo descritivo da casca de *Cecropia glazioui*; Angyalossy-Alfonso & Richter (1991) realizaram estudos da casca de espécies de *Buchenavia*, com fins taxonômicos para o gênero; várias espécies de Leguminosae foram estudadas por Costa *et al.* (1997); duas espécies de *Eugenia* foram analisadas a fim de encontrar caracteres diagnósticos para separação entre elas por Soffiatti & Angyalossy-Alfonso (1999); e uma análise comparada da casca de raiz e de caule em *Stryrax camporum* foi apresentada por Machado et al. (2005).

Os estudos de desenvolvimento do floema são freqüentes com espécies temperadas. Um dos pioneiros nesta área foi realizado por Evert (1960), onde o autor analisou, em *Pyrus communis* (Rosaceae), a formação e a diferenciação das células floemáticas até a perda da funcionalidade dos elementos crivados, durante vários anos.

Posteriormente, seguindo esta mesma linha de pesquisa, outras espécies foram estudadas, como: *Robinia pseudoacacia* (Derr & Evert 1967); *Populus tremuloides* (Davis & Evert 1968); *Pinus banksiana* (Alfiere & Evert 1968); *Ulmus americana* (Evert & Deshpand 1969); *Larix laricina*, *Abies balsamea*, *Picea mariana* (Alfiere & Evert 1973).

Os trabalhos com espécies tropicais são escassos, e podemos citar dois trabalhos, realizados na Índia, referentes a estudos da sazonalidade do floema secundário de *Grewia tiliifolia* (Malvaceae) (Deshpande & Rajendrababu 1985) e *Tectona grandis* (Verbenaceae) (Rajput & Rao 1999). Para as espécies brasileiras, o primeiro estudo de sazonalidade de formação do floema e diferenciação do elemento de tubo crivado foi realizado por Angyalossy (2006), com seis espécies: *Caesalpinia echinata* (Leguminosae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae), *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae), *Copaifera langsdorffi* (Leguminosae), *Stryrax camporum* e *S. ferrugineus* (Styracaceae). Nesse trabalho, os dados obtidos com *Caesalpinia echinata* não

foram esclarecedores quanto à presença de marcadores de crescimento no floema, bem como somente alguns dados quanto à diferenciação dos elementos de tubo crivados são apresentados. Especificamente com relação ao desenvolvimento dos elementos de tubo crivado, não existem outros trabalhos na literatura com espécies brasileiras.

Assim sendo, a estrutura da casca e o desenvolvimento do floema de *Caesalpinia echinata* são investigados neste trabalho, visando detectar a presença de camadas de crescimento no floema da espécie, e analisar detalhadamente a formação e o desenvolvimento dos elementos de tubo crivado, contribuindo para preencher esta lacuna nos estudos de desenvolvimento e formação dos elementos celulares do floema em espécies brasileiras.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas nos meses de ativos do câmbio, com presença de células xilemáticas em diferenciação (Capítulo I) quando havia excedente hídrico no solo. Em tais períodos o câmbio estava em fase ativa (Capítulo I). As amostras foram coletadas seguindo a metodologia de Amano & Angyalossy (submetido), que consiste no uso de uma furadeira elétrica, formão e martelo, foram realizadas em árvores na Reserva da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS; na Reserva do Instituto Florestal do estado de São Paulo, Mogi Guaçu, SP; Fazenda Alegria, Ilhéus, BA.

Após a coleta, o material foi imediatamente fixado em FAA (Berlyn & Miksche 1976) e em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965), e colocado no dissecador a vácuo por aproximadamente 30 dias. Após a fixação, as amostras foram lavadas em água corrente por várias horas.

As amostras de 5mm³ foram desidratadas em série etanólica, incluídas e emblocadas em Leica Historresin® (Leica Microsystem, Alemanha). Foram feitas secções transversais, longitudinais radiais e longitudinais tangenciais seriadas, com aproximadamente 4µm de espessura, em micrótomo rotativo Reichert-Jung 2040, utilizando-se navalhas de vidro. As secções foram corados com azul de toluidina 0,05% em tampão acetado pH 4,7 (O'Brien et al. 1965).

Para a verificação da composição dos cristais foi utilizada a metodologia citada por Chamberlain (1932), utilizando ácido acético glacial para o teste de carbonato de cálcio, e ácido nítrico 10%, para o teste de oxalato de cálcio. Os cristais foram também detectados pela birrefringência sob luz polarizada.

As características relevantes do material foram registradas em fotomicroscópio Leica DMLB acoplado a equipamento digital de captura de imagem Leica DFC 320 (Leica Microsystem, Alemanha).

RESULTADOS

A casca em pau-brasil é composta por floema secundário e ritidoma (Fig. 1). O ritidoma é composto por duas a três peridermes (Fig. 1). São observadas lenticelas nas porções externas à periderme (Fig. 2). O floema secundário é composto por uma porção condutora, mais próxima ao câmbio e uma não condutora, mais externa (Fig. 3).

Não são observados marcadores de crescimento nos espécimes analisados nas três regiões de coleta. Quanto à sazonalidade de formação do floema, esta é anual em *Caesalpinia echinata*, ocorrendo nos períodos ativos do câmbio. Neste período são observados os elementos de tubo crivado em diferenciação. Em contrapartida, no período inativo do câmbio, as células floemáticas estão diferenciadas, junto à zona cambial, não se observando-se todos os elementos de tubos crivados diferenciados, não havendo nenhum processo de diferenciação nessa fase.

O floema condutor está composto por elementos de tubo crivados associados às células companheiras, parênquima floemático e raios. A região de floema condutor é muito reduzida, se comparada à região do floema não condutor, sendo a proporção de 1:4 a 1:6 (Fig. 1).

Os elementos de tubo crivados e as células do parênquima axial apresentam um arranjo tangencial alternado, observando-se, na secção transversal, faixas parenquimáticas, consistindo de duas a cinco células de largura dispostas radialmente, alternadas com grupos de dois a três elementos de tubo crivados arranjados tangencialmente (Fig. 4). Esta organização alternada de faixas com grupos de elementos de tubo crivados e faixas de células parenquimáticas pode faltar em alguns espécimes. Em alguns casos, os elementos de tubo crivado e as células do parênquima floemático apresentam uma distribuição difusa, sem um arranjo característico (Fig. 3).

Os elementos de tubo crivado são solitários a múltiplos de dois a cinco (Fig. 4-5). Variam pouco de comprimento (Fig. 5); são, geralmente, mais largos no sentido radial e tangencial do que as células parenquimáticas que os circundam (Fig. 4). Apresentam a forma poligonal a circular (Fig. 4) e as paredes terminais são inclinadas, com placas crivadas oblíquas compostas por várias áreas crivadas (Fig. 5-6) e, eventualmente, transversais (Fig. 6).

Em secção transversal, cada elemento de tubo crivado está associado a geralmente uma ou, eventualmente, duas células companheiras, com citoplasma denso, localizadas nos vértices de cada elemento (Fig. 4, 12, 13). As células companheiras, em secção longitudinal, podem formar séries de duas (Fig. 6) ou quatro células, muitas vezes acompanhando o contorno do elemento crivado.

A diferenciação dos elementos de tubo crivado é observada nas células próximas ao câmbio (Fig. 12). O futuro elemento de tubo crivado possui parede nacrada (Fig. 12,13), um núcleo evidente (Fig. 7-9) um grande vacúolo que mantém o citoplasma periférico (Fig. 7). Nesse estágio inicial do desenvolvimento, a

proteína-P é do tipo não dispersa, sendo observada como um bloco (Fig. 9,14) com formato retangular, em secção tangencial (Fig. 8). Ocorre, então, a degradação do núcleo e a proteína-P vai se tornando dispersa, com aspecto filamentoso (Fig. 9-10). Ocorre a formação das placas crivadas nas regiões terminais das células; nos estágios iniciais, não há presença de calose envolvendo os crivos, porém as áreas crivadas já se encontram delimitadas (Fig. 15). Quando o elemento de tubo crivado completa a sua diferenciação, a placa crivada possui suas áreas crivadas bem delimitadas, observando-se os crivos envolvidos por calose (Fig. 16).

Os raios são multisseriados, com duas a três células de largura, reproduzindo a forma e o número das iniciais radiais (Fig. 11). Nota-se, também, nas células parenquimáticas radiais, a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio (Fig. 18). Os cristais prismáticos podem ser solitários ou formar grupos. Essas células cristalíferas são observadas no floema condutor, no entanto, aparecem com maior frequência no tecido não condutor, também nos raios (Fig. 18).

As células do parênquima axial floemático, quando distribuídas de maneira difusa, estão justapostas aos elementos de tubos crivados, não possibilitando a formação de espaços intercelulares (Fig. 4-5). Quando estão dispostas em fileiras radiais, apresentam forma retangular quando vistas em secção transversal, com arestas arredondadas. Formam séries longitudinais radiais de quatro células e, em alguns casos, de apenas duas células (Fig. 5).

O início da perda da função dos elementos de tubo crivado ocorre com a perda do citoplasma da célula companheira (Fig. 17), seguida do depósito de calose definitiva junto à placa crivada, obstruindo-a totalmente (Fig. 18). Concomitantemente, ocorre o aumento do volume das células parenquimáticas e o aumento dos espaços intercelulares (Fig. 17, 21).

Em fase mais adiantada da perda da função, os elementos de tubo crivado encontram-se totalmente colapsados (Fig. 19-20), as células companheiras já perderam seu conteúdo citoplasmático, e os espaços intercelulares são proeminentes.

Em regiões mais afastadas do floema não condutor, ocorre o processo de dilatação dos raios (Fig. 1,2, 21). Essa dilatação ocorre através de intensas divisões anticlinais, de células radiais (Fig. 21), observando-se na região próxima à periderme apenas algumas células axiais, sendo todo o tecido restante constituído pela região de células resultantes do processo de dilatação (Fig.2).

No início do processo de dilatação dos raios, células do parênquima floemático diferenciam-se em esclereídes, que se dispõem no floema não condutor, formando grupos (Fig. 22). Células parenquimáticas do floema axial não condutor dilatam (Fig. 23), muitas delas formando cristais prismáticos (Fig. 24). Posteriormente as células centrais desses grupos iniciam a deposição da parede secundária (Fig. 25), com posterior lignificação (Fig. 26). As células centrais são as primeiras a se diferenciarem, seguidas das células adjacentes (Fig. 26-27).

O ritidoma é composto por duas a três peridermes (Fig. 1). As lenticelas estão presentes, e são formadas pelo felogênio da lenticela, acima da periderme (Fig. 2, 28-29). A feloderme da lenticela é formada para o interior com várias camadas de células e, para o exterior, em seção transversal, é observada a alternância de três camadas de células complementares com uma camada de células oclusivas (Fig. 29).

A periderme é observada em detalhe nas figuras 30-31. O súber possui muitas camadas de células com paredes espessas. Em seção transversal, as células do súber são menores no eixo radial, são compactas sem espaços intercelulares (Fig. 30-31). A feloderme possui cerca de 20 camadas de células, várias delas contendo cristais prismáticos (Fig. 31-33). As células das camadas mais internas da feloderme possuem a parede secundária muito espessa e lignificada (Fig. 32-33). A feloderme é caracterizada pela disposição radial de seu conjunto de células por toda a extensão da periderme, formando fileiras radiais distinguidas por suas células mais externas, voltadas para o felogênio, com paredes primárias e as mais internas extremamente lignificadas, formando esclereídes (Fig. 1-2, 32-33).

DISCUSSÃO

O floema de *Caesalpinia echinata* é caracterizado por possuir uma porção condutora e uma não condutora. A porção condutora do floema consiste de elementos de tubo crivado ativos, por onde há o transporte de fotoassimilados, hormônios, substâncias sinalizadoras, entre outras (Van Bel 2003). No floema não condutor, como a terminologia já diz, não há mais transporte devido à perda da função de seus elementos de tubo crivado. Tal classificação segue o proposto por Angyalossy (2006), que estudou o desenvolvimento do floema de seis espécies brasileiras. A autora, seguindo Esau (1967), questiona o uso do termo “floema colapsado” adotado para o floema não condutor, visto que esse termo se refere somente aos elementos condutores, não levando em consideração a existência das células parenquimáticas axiais, íntegras e funcionais. Sabe-se que a perda da condução ocorre anteriormente ao colapso do elemento de tubo crivado, como será discutido posteriormente.

Conclui-se que a sazonalidade de formação e diferenciação do floema é anula, coincidindo com o período de excedente hídrico, que é sazonal (Capítulo I), e que essa fase de diferenciação é concomitantemente com a diferenciação do xilema (Capítulo II).

Não se sabe muito sobre o sincronismo do desenvolvimento do xilema e do floema, especialmente para as espécies brasileiras, devido às poucas espécies estudadas. Em algumas, o floema e o xilema têm o período de diferenciação sincronizado, como o observado neste trabalho com *Caesalpinia echinata*, e também em outras espécies brasileiras, como *Cordia trichotoma* (Amano 2002), *Cedrela fissilis*, *Citharexylum myrianthum* e *Copaifera langsdorffii* (Angyalossy 2006), *Tectona grandis* (Rajput & Rao 1998), *Tilia americana* (Evert 1962), e *Vitis riparia* (Davis & Evert 1970). Outras espécies, não possuem

sincronização na diferenciação do xilema e do floema, como em *Salix fragilis* e *Acer pseudoplatanus* (Lawton 1976), onde o xilema se diferencia antes do floema. Em outras espécies, o floema inicia a diferenciação antes do xilema, como por exemplo, *Pyrus malus* (Evert 1963), *Polyalthia longifolia* (Ghouse & Hashmi 1978), *Populus tremuloides* (Davis & Evert 1968), Pinus (Alfieri & Evert (1968), *Acer negundo* (Tucker & Evert 1969) e *Rhododendron arboreum* (Paliwal & Paliwal 1990), *Pterocarya stenoptera* (Zhen-jue et al. 1992).

A diferenciação de um elemento de tubo crivado envolve uma série de eventos. Ocorrem mudanças citológicas (Esau 1967), concomitantemente a modificações da parede celular, onde se inclui a diferenciação das áreas crivadas e da placa crivada.

Em muitas espécies, a parede do elemento de tubo crivado consiste de duas camadas morfológicamente distintas, sendo a mais interna, mais espessa, com um aspecto brilhante, denominada de parede nacarada (Evert 2006), como observada nos elementos em diferenciação em *Caesalpinia echinata*. Esta, porém, não é visível em elementos de tubo crivados diferenciados, o seu desaparecimento ou não durante a diferenciação do elemento de tubo crivado já foi relatado por Esau & Cheadle (1958).

Nos primeiros estágios de desenvolvimento do elemento de tubo crivado é observada a proteína-P não dispersa. A proteína-P está presente em angiospermas, não tendo relatos de sua ocorrência em gimnospermas e pteridófitas (Cronshaw & Sabins 1990), anteriormente foi chamada de “slime” (Esau 1939) e, assim, definida por Esau & Cronshaw em 1967. Segundo Behnke (1991), em seu levantamento em 350 famílias, a proteína-P não dispersa está presente em 41 famílias, tornando-se claro no estudo que a distribuição taxonômica desse caráter está restrita a apenas algumas superordens. Em Leguminosae foi descrita como tipo cristalóide (Cronshaw & Sabins 1990), ou em forma de feixe, por Behnke (1991), é considerada um caráter taxonômico de Leguminosae, e está presente em todas as espécies da família já estudadas (Behnke & Pop 1981, Evert 1990). Durante a diferenciação dos os elementos de tubo crivado, a proteína-P se torna dispersa, tornando-se uma rede distribuída ao longo do lume da célula.

Em estágios posteriores, observa-se a placa crivada em diferenciação. Segundo Catesson (1982), em estudo da parede celular do elemento de tubo crivado em *Acer* e *Populus*, a parede terminal onde vai ser formada a placa crivada possui diferenças estruturais e citoquímicas em relação às paredes laterais, o que torna os crivos distintos entre os das áreas crivadas e os das placas crivadas. Estas últimas são geralmente terminais (Evert 2006), e mesmo quando ainda não estão diferenciadas, é possível observar a região das futuras áreas crivadas. Em *Caesalpinia echinata*, observou-se o estágio final de diferenciação da placa crivada, através do depósito da calose ao redor dos crivos. As observações aqui apontadas corroboram com as de Esau et al. (1962) para *Robinia*, *Tetracera* e *Vitis*.

A placa crivada é geralmente composta em Caesalpinoideae (Costa et al. 1997), como o observado em *Caesalpinia echinata*. Segundo a classificação de Den Outer (1983) para o floema secundário, esta seria

do tipo mais primitivo, por serem placas oblíquas e compostas por mais de 10 áreas crivadas. Relacionada ao elemento de tubo crivado estão às células companheiras, que seguindo a mesma classificação proposta por Den Outer (1983), são especializadas por estarem em séries com o mesmo comprimento que o elemento de tubo crivado.

Segundo Barlow & Lück (2006), através de uma revisão da bibliografia e de fotomicrografias, analisaram o padrão de desenvolvimento do floema secundário em espécies temperadas, e observaram uma repetição radial na sequência de distribuição dos três tipos celulares do floema - elemento de tubo crivado, célula companheira e parênquima. Esse padrão não foi encontrado em *Caesalpinia echinata*, pois as camadas de parênquima não têm uma circunferência tangencial regular, nem são contínuas, não sendo, portanto, relacionadas com camadas de crescimento na espécie. Apesar de haver uma tendência à uma repetição radial sequencial, através de uma alternância entre camadas de células parenquimáticas e camadas com tubos crivados e células companheiras, essa alternância não é constante em todos os espécimes analisados, o que não caracteriza um padrão para a espécie.

Muitos trabalhos têm demonstrado a presença de camadas de crescimento no floema secundário de gimnospermas e angiospermas lenhosas. As camadas de crescimento podem ser detectadas pelas seguintes características: presença de elementos crivados de menor diâmetro tangencial, como em Pinaceae (Alfiere & Evert 1968, 1973); camadas delimitadas por elementos de tubo crivados terminais de menor diâmetro radial (Schneider 1955; Artschwager 1950; Derr & Evert 1967; Davis & Evert 1970; Deshpande & Rajendrababu 1985; Rajput & Rao 1998; Amano 2002; Angyalossy 2006); floema inicial e tardio (Evert 1963; Tucker & Evert 1969; Deshpande & Rajendrababu 1985).

O estudo de Angyalossy (2006), relaciona a presença de marcadores no floema secundário com as camadas de crescimento no xilema do tipo anel semi-poroso, presente em *Cedrela fissilis* e *Citharexylum myrianthum*, característica também presente em *Cordia trichotoma* (Amano 2002). *Copaifera langsdorffii*, por outro lado, possui camadas de crescimento do tipo parênquima terminal (Marcati et al. 2001), mas não apresenta marcador no floema, do mesmo modo como o observado em *Caesalpinia echinata* (Capítulo IV).

Com a delimitação das camadas de crescimento no floema é possível inferir a sua longevidade. Esau (1950, 1969) menciona que os elementos de tubo crivado de dicotiledôneas de regiões temperadas são funcionais por uma única estação, tornando-se não-funcionais na mesma estação em que são formados os novos.

A funcionalidade dos elementos de tubo crivado por mais de uma estação foi observada para em *Grewia tiliaefolia*, funcionais por um a dois anos (Deshpande & Rajendrababu 1985), em *Dalbergia balansae*, por 8-12 meses e *D. szemanoensis* por 9-11 meses (Zhen-jue et al. 1994). Para espécies brasileiras foi constatada uma longevidade de 14-25 meses em *Cordia trichotoma* (Amano 2002), de 12-26 meses em

Cedrela fissilis e de 4-12 meses em *Citharexylum myrianthum* (Angyalossy 2006). Como em *Caesalpinia echinata* não há marcadores de crescimento, não se pode inferir a longevidade dos tubos crivados.

O início da perda de função dos elementos de tubo crivado inicialmente com a perda da atividade da célula companheira, através da degeneração de seu núcleo, seguida pelo depósito da calose definitiva, junto à placa crivada, obstruindo-a completamente (Evert 1963; Davis & Evert 1968; Tucker & Evert 1969; Lawton & Lawton 1971; Rogers 1981; Deshpande & Rajendrababu 1985; Rajput & Rao 1998; Angyalossy 2006). Neste momento, o fluxo é interrompido. Além da perda da função célula companheira e conseqüentemente do elemento de tubo crivado, o floema condutor sofre outras mudanças como: células parenquimáticas expandem-se, aumentando os espaços intercelulares, esclereídes se diferenciam e o tecido parenquimático radial sofre dilatação. O evento seguinte, ou em paralelo, corresponde ao colapso dos elementos de tubo crivado e a perda da calose definitiva.

Concomitante com o início da perda de função dos elementos condutores, observa-se, também, o início da dilatação dos raios, através de divisões anticlinais das células radiais, que progride do centro em direção ao exterior, assumindo uma configuração de cunhas, que sofrem fusão na região próxima à periderme. A dilatação dos raios ocorre para acomodação do aumento em circunferência do tronco, com aumento radial e tangencial das células parenquimáticas radiais e axiais, e até mesmo a divisão destas (Evert 2006). Há ainda relatos sobre a formação de um meristema, denominado por Schneider (1955) de “meristema de dilatação do raio”, localizado na porção mediana deste, como o observado por Amano (2002) em *Cordia trichotoma* e mostrado em *Tilia americana* por Evert (2006).

Foi observado o aumento do número de células com cristais no floema não condutor, corroborando Esau (1969), que menciona o aumento, no floema não condutor, da ocorrência de substâncias ergásticas, como cristais e tanino,.

As esclereídes são diferenciadas a partir de células parenquimáticas axiais no início do floema não condutor, formando agrupamentos, esse caráter ocorre na maioria das amostras. As esclereídes normalmente possuem cristais, como o observado por Furuno (1990) num estudo da estrutura da casca em 55 espécies de angiospermas do Japão.

A periderme em pau-brasil segue o padrão descrito para a espécie por Tavares (2005). Porém a autora observou cristais na feloderme nos espécimes que ocorrem em áreas mais poluídas, e a ausência destes, na área controle da cidade de São Paulo. No presente trabalho, tal resultado não é confirmado, visto que os cristais ocorrem nas amostras das três áreas de estudo. Resultados similares quanto à feloderme foram observados em *Acacia raddiana*, por Arzee et al. (1970), que constataram a feloderme com muitas camadas de células, contendo cristais, que podem ou não se lignificar.

A esclerificação de todas ou algumas das camadas da feloderme é comum em espécies tropicais, podendo ocorrer ainda uma alternância entre camadas de células lignificadas e células com parede delgadas

(Evert 2006). Em alguns casos, a função de proteção pode ser exercida pela feloderme e não pelo súber (Evert 2006). Diferentes graus de lignificação da feloderme foram vistos em 25 % dos 32 gêneros de Annonaceae (Junikka & Koek-Noorman 2007), onde as células lignificadas variavam de algumas células isoladas até todas as células da feloderme.

As lenticelas em *Caesalpinia echinata* são do tipo mais especializado, de acordo com Evert (2006), pois possuem camadas oclusivas que contêm o tecido complementar. Em *Picea abies* geralmente é produzida uma camada oclusiva por ano, no final do verão, rompida pela produção de novas camadas de células complementares no início da primavera (Rosner & Kartush 2003).

O presente trabalho traz resultados inéditos sobre a formação e o desenvolvimento do floema, em especial dos elementos de tubo crivado em *C. echinata*, bem como em relação ao sistema de revestimento, preenchendo uma importante lacuna no entendimento da casca de espécies tropicais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfieri, F.J. & R.F. Evert. 1968. Seasonal development of the secondary phloem in *Pinus*. American Journal of Botany 55: 518-528.
- Alfieri, F.J. & R.F. Evert. 1973. Structure and seasonal development of secondary phloem in Pinaceae. Botanical Gazette 134: 17-25.
- Alves, E.S. 1996. Estudo anatômico da casca de *Cecropia glaziovii* Sneth Cecropiaceae. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 15: 55-62.
- Amano, E. & V. Angyalossy. submetido. A new sampling method for cambium studies in tropical trees. IAWA Journal.
- Amano, E. 2002. *Cordia trichotoma*, Boraginaceae: caracterização e sazonalidade na formação do xilema e do floema. Dissertacao de mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Angyalossy et al. 2005
- Angyalossy, V. 2006. O floema secundário em espécies arbóreas. Tese de livre-docência. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Angyalossy, V., E.A. mano & E.S. Alves. 2005. Madeira utilizadas na fabricação de arcos instrumentos de corda: aspectos anatômicos. Acta Botanica Brasilica 19: 819-834.
- Angyalossy-Alfonso, V. & H.G. Richter. 1991. Wood and bark anatomy of *Buchenavia* Eichl. (Combretaceae). IAWA Bull. 12: 123-141.
- Angyalossy-Alfonso, V. 1983. Caracterização anatômica da madeira e casca das principais espécies de *Eucalyptus* do estado de São Paulo. Silvicultura 28: 720-725.

- Angyalossy-Alfonso, V. 1987. Caracterização anatômica do lenho e da casca das principais espécies de *Eucalyptus* L'Hérit. cultivadas no Brasil. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Artschwager, E. 1950. The time factor in the differentiation of the secondary xylem and phloem in pecan. *American Journal of Botany* 37: 15-24.
- Arzee, T., Y. Waisel & N. Liphshitz. 1970. Periderm Development and Phellogen Activity in the Shoots of *Acacia raddiana* Savi. *New Phytologist* 69:395-398.
- Barlow, P.W. & J. Lück. 2006. Patterned cell development in the secondary phloem of dicotyledons trees: a review and a hypothesis. *Journal of Plant Research* 119: 271-291.
- Behnke, H.D. 1991. Nondispersive protein bodies in sieve elements; a survey and review of their origin, distribution and taxonomic significance. *IAWA Bulletin n.s.* 12: 143-175.
- Behnke, H-D. & L. Pop. 1981. Sieve-element plastids and crystalline phloem-protein in Leguminosae: Micromorphological characters as an aid to the circumscription of the family and subfamilies. In: R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.), *Advances in legume systematics, Part 2*: 707–715. Royal Botanic Gardens, Kew, London.
- Catesson, A.M. 1982. Cell Wall Architecture in the Secondary Sieve Tubes of *Acer* and *Populus*. *Annals of Botany* 49: 131-134.
- Costa, C.G., V.T.R., Coradin, C.M. Czarneski, & B.A.S. Pereira. 1997. Bark antomy of arborescent Leguminosae of cerrado and gallery forest of central Brazil. *IAWA Journal* 18: 385-399.
- Cronshaw, J. & D.D. Sabins. 1990. Phloem Proteins. In: H.D. Behnke & R.D. Sjolund (eds.), *Sieve Elements, Comparative Structure, Induction and Development*: 255-283.
- Davis, J.D. & R.F. Evert. 1968. Seasonal development of secondary phloem *Populus tremuloides*. *Botanical Gazette* 129: 1-8.
- Davis, J.D. & R.F. Evert. 1970. Seasonal development of secondary phloem in wood vines. *Botanical Gazette* 131: 128-138.
- Den Outer, R.W. 1983. Comprative study of the secondary phloem of some woody dicotyledons. *Acta Botanica Neerlandica* 32: 29-38.
- Den Outer, R.W. 1986. Storied structure of the secondary phloem. *IAWA Bulletin n.s.* 7: 47-51.
- Derr, W.F. & R.F. Evert. 1967. The cambium and seasonal development of phloem in *Robinia pseudoacacia*. *American Journal of Botany* 54 (2): 147-157.
- Deshpande B.P. & T. Rajendrababu. 1985. Seasonal changes in the structure of the secondary phloem of *Grewia tiliaefolia*, a deciduous tree from India. *Ann. Bot.* 56: 61-71.
- Détienne, P. & P. Jacquet. 1983. Atlas d'identification des bois de l'amazone et des régions voisines. Nogent-sur-Marne, Centre Technique Forestier Tropical.
- Esau, K. & Cronshaw, J. 1967. Tubular components in cells of healthy and tobacco mosaic virus infected *Nicotiana*. *Virology* 33: 26-35.

- Esau, K. & V.I. Cheadle. 1958. Wall thickening in sieve elements. PNAS 44: 546-553.
- Esau, K. 1939. Development and struture of the phloem tissue. Bot. Rev. 5: 373-432.
- Esau, K. 1950. Development and struture of the phloem tissue. II Bot. Rev. 16: 67-114.
- Esau, K. 1967. Plant Anatomy. 2^a. ed. John Wily & Sons, Inc., New York.
- Esau, K. 1969. The phloem. In: Zimmermann W, Ozenda P, Wulff HD, (eds) Encyclopedia of plant anatomy, vol. 5, pt 2. Borntraeger, Berlin, Stuttgart.
- Esau, K., V.I. Cheadle & E.B. Risley. 1982. Development of sieve-plate pores. Botanical Gazette 123: 233-243.
- Evert, R.F. & Deshpand, B.P. 1969. Electron microscope investigation of sieve-element ontogeny and structure in *Ulmus americana*. Protoplasma 68: 403-432.
- Evert, R.F. 1960. Phloem structure in *Pyrus communis* L. and its seasonal changes. Univ. California Publ. Bot. 32: 127-194.
- Evert, R.F. 1962. Some aspects of phloem development in *Tilia americana*. University of California Publications in Botany 32: 127-196.
- Evert, R.F. 1963. The cambium and seasonal development of the phloem in *Pyrus malus*. Amer. Jour. bot. 50: 149-159.
- Evert, R.F. 1990. Dicotyledons. In: Behnke, H.D. & Sjoulund, R.D. 1990. Sieve Elements. Compative Struture, Induction and Development. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. p. 103-137.
- Evert, R.F. 2006. Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: their Structure, Function, and Development. 3rd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Furuno, T. 1990. Bark structure of deciduous broad-leaved trees grow in the San'in Region, Japan. IAWA Bulletin n.s. 11: 239-254.
- Ghouse, A.K.M. & Hashmi, S. 1978. Seasonal cycle of vascular differentiation in *Polyalthia longifolia* (Annonaceae). Beitr. Biol. Pflanzen 54: 375-380.
- Junikka, L. & J. Koek-Noorman. 2007. Anatomical structure of barks in Neotropical genera of Annonaceae. Annals of Botanici Fennici 44: 79-132.
- Lawton, J. R. & Lawton, J. R. S. 1971. Seasonal variations in secondary phloem of some forest trees from Nigeria. The New Phytologist 70: 187-196.
- Lawton, J.R. 1976. Seasonal variation in the secondary phloem from the main trunks of willow and sycamore trees. New Phytol. 77: 761-771.
- Longhi, E.L. 2005. Pau-brasil e outras espécies nativas empregadas na confecção de arcos para instrumentos de corda: um estudo comparativo. Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Machado, S.R., C.R. Marcati, B.L.Morretes & V. Angyalossy. 2005. Comparative bark anatomy of root and stem in *Styrax camporum* Pohl. (Styracaceae). IAWA Journal 26: 477-488.
- Mainieri, C. 1960. Estudo macroscópico de madeiras conhecidas por Pau brasil. Instituto de Pesquisa Tecnológica. Publicação 612. IPT, São Paulo.

- Mainieri, C., Chimelo, J.P. & Angyalossy, V. 1983. Manual de identificação das principais madeiras comerciais brasileiras. São Paulo, Promocet.
- Marcati, C.R., Angyalossy-Alfonso, V. & Benetati, L. 2001. Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae- Caesalpinoideae) de floresta e cerrado. Revista Brasileira de Botânica 24: 311-320.
- Paliwal, S. P. & G. S. Paliwal. 1990. Influence of climatic variations on the seasoned behaviour of the vascular cambium of some Himalayan trees. III. Rhododendron arboreum Smith. Phytomorphology 40: 257-271.
- Rajput K.S. & Rao, K.S. 1998. Seasonal anatomy of secondary phloem of teak (*Tectona grandis* L. Verbenaceae) growing in dry and moist deciduous forests. Phytomorphology 38: 251-258.
- Richter, H.G. 1988. Holz als Rohstoff für den Musikinstrumentenbau. Germany, Moeck Verlag Celle.
- Rogers, S. 1981. Seasonal Variation in Radial Growth and Phloem Activity of *Terminalia ivorensis* A. Chev Annals of Botany 47: 603-610.
- Rosner, S. & B. Kartush. 2003. Structural changes in primary lenticels of Norway spruce over the seasons. IAWA Journal 24: 105-116.
- Schneider, H. 1955. Ontogeny of lemon tree bark. American Journal of Botany 42: 893-905.
- Soffiatti, P. & V. Angyalossy-Alfonso. 1999. Estudo anatômico comparativo do lenho e da casca de duas espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). Revista Brasileira de Botânica 22: 175-184.
- Tavares, R.A.D. 2005. Poluição atmosférica da cidade de São Paulo e a periderme caulinar no pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam. – Leguminosae/Caesalpinoideae). Dissertação de Mestrado. Instituto de Botanica, São Paulo.
- Tucker, C.M. & Evert, R.F. 1969. Seasonal development of secondary phloem in *Acer negundo*. Amer. Jour. Bot. 56: 275-284.
- Van Bel, A.J.E. 2003. The phloem, a miracle of ingenuity. Plant, Cell and Environment 26: 125-149.
- Zhen-jue, Z., C. Zhong-ren & Z. Yong-tian. 1994. Periodicity of cambium activity and seasonal changes of the secondary phloem in two species of *Dalbergia*. Acta Botanica Sinica 36: 300-304.
- Zhen-jue, Z., C. Zhong-ren, L. Jin-yi & Z. Yong-tian. 1992. Seasonal variations of secondary phloem development in *Pterocarya stenoptera* and its relation to feeding *Kerria yunnanensis*. Acta Botanica Sinica 34: 682-687.

Fig. 1-3. Secções transversais da casca de pau brasil. **1.** Aspecto geral. **2.** Região externa do floema não-condutor (Fnc). Periderme (Pe) composta por feloderme (Fd), felôgênio e súber (S). Note a s lenticelas (L). **3.** Floema condutor (Fc) e parte do floema não condutor (Fnc). **4.** Floema condutor. Note a alternância de elementos de tubo crivado (Etc) e células parenquimáticas (P). Barra: 1 = 200 μ m; 2 = 100 μ m; 3 = 100 μ m; 4 = 50 μ m. Fc: floema condutor; Fnc: floema não condutor; Ri: ritidoma composto por três peridermes; X: xilema; Zc: zona cambial.

Fig. 5-11. Floema de pau brasil. **5-6.** Secções radiais. **5.** Floema evidenciando a alternância de elementos de tubo crivado com séries de células parenquimáticas. **6.** Placa crivadas compostas oblíquas e transversais (seta) na parede terminal do elemento de tubo crivado; note, também, as áreas crivadas na parede lateral. **7.** Elemento de tubo crivado no início do desenvolvimento, com citoplasma periférico, incluindo o núcleo (seta). **8.** Proteína-P não dispersa (seta). **9.** Detalhe do núcleo (n) em fase de degradação e da proteína-P tornando-se não dispersa, com aspecto filamentososo. **10.** Detalhe da proteína-P dispersa com aspecto filamentososo. **11.** Elemento de tubo crivado diferenciado, com placa crivada inclinada, composta. Barra: 5 = 70 μm ; 6 = 50 μm ; 7-8, 11 = 35 μm ; 9-10 = 15 μm . Elemento de tubo crivado (Etc); núcleo (n); proteína-P (Pp); raio (R); zona cambial (Zc).

Fig. 12-20. Secções transversais do floema de pau brasil. **12.** Floema em diferenciação. **13.** Detalhe de um elemento de tubo crivado com parede nacarada e citoplasma periférico. **14.** Elemento de tubo crivado evidenciando a proteína-P não dispersa. **15.** Detalhe de dois elementos de tubo crivado com placa crivada em diferenciação. **16.** Elemento de tubo crivado diferenciado; note os crivos da placa crivada envoltos por calose (seta). **17.** Elementos de tubo crivados não condutores e célula companheira sem citoplasma (Cc). **18.** Cristais prismáticos no raio do floema não condutor (seta). **19.** Grupo de elementos de tubo crivado não condutores com suas células companheiras sem citoplasma. **20.** Início do colapso dos elementos de tubo crivado. **21.** Colapso total dos elementos de tubo crivado. Barra: 12-17 = 25 μ m; 13-16, 19-21 = 15 μ m; 18 = 100 μ m. Etc: Elemento de tubo crivado.

Fig. 22-27. Diferenciação das esclereídes no floema não condutor. Secções transversais. **22.** Células do parênquima floemático diferenciam-se em esclereídes (*), que se dispõem no floema não condutor, formando grupos. A seta indica o início da dilatação dos raios. **23.** Esclereídes diferenciando-se a partir de células parenquimáticas axiais. **24.** Cristais prismáticos (setas). **25.** Células centrais das esclereídes iniciam a deposição da parede secundária. **26.** As células centrais do grupamento de esclereídes diferenciadas. **27.** Grupo de esclereídes com as células centrais diferenciadas e as marginais em diferenciação.

Fig. 28-33. Periderme e lenticela. Secções transversais. **28.** Periderme. **29.** Lenticelas. Felogênio da lenticela, feloderme para o interior e, alternância de células complementares entre as células oclusivas (setas). **31.** Detalhe do felogênio (setas). Súber com muitas camadas de células com paredes espessas. **32.** Feloderme com cristais prismáticos; células em fileiras radiais: as mais internas com parede primária, as mais internas, esclerificadas. **33.** Cristais de oxalato de cálcio e parede secundária lignificada evidenciada pela luz polarizada. Barra; 28-29 = 50 µm; 30 = 20 µm; 31-33 = 10 µm. Fd: Feloderme; Fg: felogênio; Fnc: floema não condutor; S: Súber.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os dados obtidos neste trabalho, conclui-se que:

- A atividade do câmbio é indicada pela presença de figuras mitóticas e fragmoplastos, mas também pelas paredes tangencias recém-formadas nas células da zona cambial, que se mostrou um bom parâmetro de comprovação indireta.
- O número de células que constitui a zona cambial, nos períodos ativo e inativo do câmbio, não apresentaram diferenças significativas. Portanto, este trabalho demonstra que esse parâmetro não deve ser ter seu uso generalizado como indicador da atividade cambial em espécies arbóreas. Sugere-se, até, que não seja usado como parâmetro indireto.
- O câmbio tem atividade sazonal nas duas áreas estudadas. Nos espécimes da Bahia, o período em que o câmbio está ativo é mais longo, cerca de dez meses, do que nos espécimes localizados em São Paulo, onde o câmbio é ativo por cerca de seis meses.
- A atividade cambial está principalmente relacionada à precipitação. Observou-se uma relação entre a atividade cambial e a disponibilidade hídrica no solo nas duas áreas. Há um período de parada de atividade do câmbio, induzido por um período seco com duração de dois meses ou mais. A reativação da atividade do câmbio ocorre após um mês do início das chuvas, quando já há reposição de água no solo.
- Nos espécimes de Mogi Guaçu foi observada uma forte relação entre a reativação do câmbio e a brotação de folhas.
- Não foram encontradas relações significativas entre a atividade do câmbio e o fotoperíodo nas duas áreas.
- A formação e a diferenciação das células xilemáticas e floemáticas são sincronizadas, isto é acontecem simultaneamente.
- A formação e a diferenciação do xilema, mais especificamente dos elementos de vaso, segue o padrão observado na literatura. Vários estágios complementares na diferenciação do elemento de vaso e das

outras células xilemáticas de uma espécie arbórea, que até então pouco estudados, são documentados neste trabalho.

- As guarnições são observadas nas pontoações, e são formadas durante o estágio final de diferenciação dos vasos. A formação das guarnições ocorre entre a ruptura do vacúolo e a degradação do núcleo.
- As guarnições da abertura externa apresentam-se similares nos espécimes das três regiões coletadas: são projeções longas e ramificadas. Entretanto, as da abertura interna são curtas e pouco ramificadas nas amostras da Bahia, região com menor período seco.
- O xilema secundário possui camadas de crescimento, delimitadas por linhas de parênquima marginal, porém a ocorrência destas não é constante, não sendo observada em todas as amostras. Não foi comprovada a sua formação anual.
- Quanto ao xilema, há um maior número de vasos solitários nos indivíduos proveniente de Ilhéus (BA), assim como uma maior confluência do parênquima paratraqueal. A estratificação dos raios é um caráter que predomina nos indivíduos do nordeste, porém, é de ocorrência menor nos indivíduos do sudeste.
- Na comparação entre as características quantitativas do lenho entre amostras de *Caesalpinia echinata* de Mogi Guaçu (SP) e Ilhéus (BA), algumas apresentam diferenças significativas para alguns parâmetros, como: diâmetro tangencial do vaso, relação diâmetro-comprimento de vasos, frequência de vasos por mm² e espessura da parede da fibra.
- O floema condutor corresponde de 1/4 a 1/6 do floema secundário. No floema secundário de *Caesalpinia echinata* não foi detectada a presença de marcadores de crescimento.

“Ninguém pode voltar atrás e fazer um novo começo,
mas qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim...”

Chico Xavier