Ecofisiologia de plantas da Amazônia

2 - Anatomia foliar e ecofisiologia de **Bertholletia excelsa** Humb. & Benpl. (Castanha-do-pará) - Lecythidaceae.

Moacyr E. Medri (*)
Eduardo Lleras (**)

Resumo

Variações anatômicas nas folhas de **Bertholletia excelsa** (Castanha-do-pará) coletadas a diferentes alturas da mesma árvore são apresentadas aqui. Encontrou-se que da base para a copa da árvore (com as condições tornando-se gradualmente mais xéricas) o número de estômatos/mm² aumentou, o mesófilo tornou-se mais espesso, as folhas diminuiram de tamanho e o número de vasos aumentou. Estes resultados diferem do que foi encontrado para **Pogonophora schomburgkiana** (Leite & Lleras, 1978) onde as diferenças estatisticamente significantes foram entre os estratos basal e médio, enquanto em **Bertholletia** foram entre os estratos médio e apical. Isto foi considerado como refletindo diferenças em condições de crescimento e não no mecanismo de variação fenotípica (porém, não quer isso implicar que não exista esta diferença). Comparação dos resultados aqui apresentados com os de Medri (1977) para **Hevea brasiliensis**, sugere que esta espécie é fenotipicamente mais plástica (em folhas) que **Bertholletia excelsa**, pois em geral os caracteres apresentaram uma faixa de variação mais ampla. Sugere-se que algumas espécies de alta sensitividade fenotípica poderão, com o tempo, ser utilizadas como bioindicadores.

Introdução

Esta é mais uma contribuição ao estudo da ecofisiologia de plantas da Amazônia. Além de continuar testando os postulados da lei de Zalenski (vide Lleras, 1978) quanto a xerofitismo e as observações de Salisbury (1927) como interpretadas por Lleras (1977, 1978), visa contribuir também à determinação fenotípica de uma espécie de valor econômico.

Tentamos assim, formar uma base de informações sobre variações fenotípica de espécies econômicas para determinar se é viável, usando nossos conceitos e métodos, a seleção de indivíduos que apresentam fenótipos melhor adaptados às condições xéricas ou oligotróficas, condições estas que são bem freqüentes na Amazônia. Os aspectos teóricos sobre o assunto já foram discutidos pelo segundo autor (Lleras, 1977, 1978).

Material e método

Sendo que nosso objetivo visou demonstrar a variação fenotípica de um mesmo genótipo, escolhemos ao acaso uma árvore de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Castanha-do-pará) localizada numa plantação na Colônia Rosa de Maio, Manaus, Amazonas. A árvore escolhida apresenta uma altura de 18m, com a copa começando a 6m acima do solo. Foram tomadas amostras em três estratos: a 6, 12 e 18m, sempre na periferia da copa. Para efeitos de comparação, foram coletadas cinco folhas de plantulas. A escassez destas impossibilitou acompanhar todos os passos da pesquisa. No adulto, foram coletadas 50 folhas em cada estrato. A área foliar foi medida para todas as folhas com planímetro K+E. De cada estrato foram escolhidas ao acaso 5 folhas para estudo anatômico. Em cada uma das folhas escolhidas determinou-se o ponto médio do comprimento da lâmina a nível da nervura central e o ponto médio da largura entre a nervura central e a margem para cada lado. Cada um dos três pontos assim determinados serviu como o centro de um quadrado de 1 cm de lado. Estes logo foram removidos para estudo anatômico. O segmento retirado a nível da nervura central, assim como um dos segmentos laterais, foi seccionado transversalmente com micrótomo de congelação (secções de 10-12 μm), coloridos em Astrablau-fucsina e montados em bálsamo do Canadá. O terceiro

(*) — Fundação Universidade do Amazonas e Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
(**) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

segmento (lateral) foi dissociado em água clorada para estudos epidérmicos. De cada folha também foram feitas secções transversais de pecíolo a nível de metade do comprimento do mesmo.

Para estudos epidérmicos, 4 medições foram feitas em cada folha. Secções de nervura central, pecíolo e lâmina foliar afastada da nervura foram desenhadas em câmara clara sobre papel vegetal. Os desenhos dos diferentes tecidos foram cortados, reunidos para as cinco folhas de cada estrato e os pesos comparados percentualmente com os pesos somados dos cinco desenhos para cada estrato da árvore. Tentou-se fazer pesagem individual para cada folha, o que teria possibilitado análise estatística; porém, os pesos individuais foram tão baixos que a sensibilidade da balança não deu margem de confiança nas observações. O número de elementos de xilema (vasos) foi contado em duas lâminas (campos) para cada uma das folhas estudadas a nível da nervura central. A análise estatística foi feita utilizando o Teste de Mann-Whitney U (Siegel, 1956).

Resultados e discussão

Sendo que a anatomia estritamente dita está sendo realizada por G. T. Prance & Scott Mori na revisão da família para *Flora Neotropica* consideramos aqui somente aspectos adaptativos da folha desde o ponto de vista anatomo-ecológico.

Área foliar

A área foliar não foi determinada para plântulas, devido a falta de material. As áreas foliares para as 50 folhas em cada um dos três estratos da árvore adulta podem ser observadas na tabela I.

A comparação estatística entre as áreas de folhas coletadas a 6 e 12m não foi significativa ($p=0,19$). Porém, comparando área foliares de folhas a 6 ou 12m com folhas a 18m, as diferenças foram altamente significativas ($P < 0,00003$) nos dois casos.

É interessante notar que os resultados aqui apresentados são bem diferentes aos observados por Leite & Lleras (1978) em *Pogono-*

TABELA 1 — Bertholletia excelsa. **Área foliar em três diferentes alturas da árvore**

Folha \ Altura	Área Foliar / cm²		
	6m	12m	18m
1	327	135	88
2	776	118	176
3	362	147	63
4	146	141	110
5	251	213	84
6	125	164	92
7	167	288	129
8	53	255	105
9	240	229	86
10	202	181	137
11	211	227	93
12	280	197	98
13	246	123	136
14	250	171	143
15	292	145	134
16	259	106	140
17	261	101	24
18	132	184	32
19	155	185	59
20	175	217	76
21	670	139	59
22	115	158	56
23	132	208	40
24	202	171	78
25	58	336	88
26	17	201	87
27	205	192	201
28	110	367	60
29	160	152	166
30	256	317	201
31	363	251	128
32	264	91	165
33	303	62	165
34	564	87	160
35	83	204	42
36	290	16	107
37	322	213	135
38	132	241	127
39	292	685	99
40	122	511	153
41	46	247	150
42	290	230	158
43	140	170	144
44	228	247	80
45	275	268	194
46	127	202	114
47	183	203	206
48	203	241	50
49	247	247	86
50	26	154	122
$\bar{X}$	226,7	206,7	113,1

phora schomburgkiana Miers., na qual a diferença maior (estatisticamente significativa) foi entre a base e o meio da árvore, sendo que o meio e o ápice não apresentaram áreas significativamente diferentes (Fig. 1).

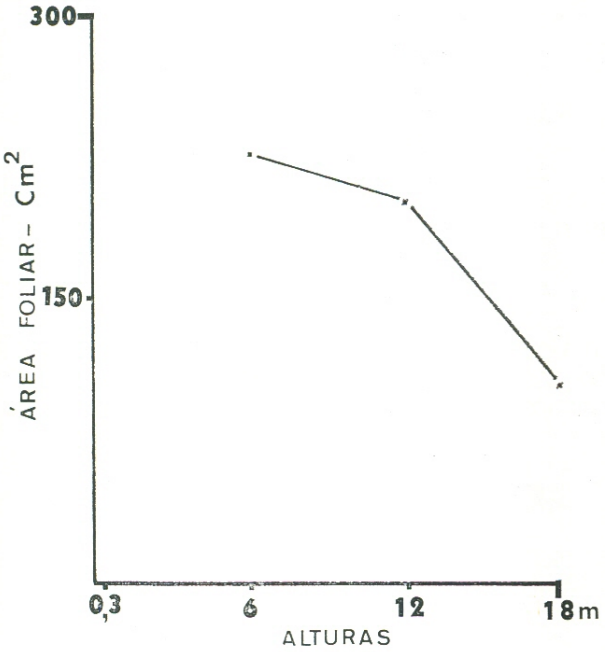

Fig. 1 — **Bertholletia excelsa.** Área foliar em três estratos de uma árvore (6, 12 e 18m).

NÚMERO DE ESTÔMATOS

Houve um incremento geral no número estomático/mm² da base para o ápice da árvore, assim como um incremento altamente significativo entre a plântula e as folhas a 6m de altura ($p < 0,00003$). Entre folhas a 6 e 12m também foi altamente significativo ($p < 0,00003$); porém, não houve diferença significativa entre folhas a 12 e 18m ($p=0,36$) (Fig. 3, Tab. 2). Como no caso anterior, a situação difere daquela observada em *Pogonophora schomburgkiana,* na qual a maior diferença ocorreu entre a base e o meio.

O tamanho das células epidérmicas diminuiu com a altura (Fig. 2) de maneira semelhante ao ocorrido na espécie acima citada (Leite & Lleras, 1978) e em *Hevea brasiliensis* (Medri, 1977).

TABELA 2 — Bertholletia excelsa **Número estomático em plântula (0,3m) e em três estratos de árvore adulta. (6, 12, 18m). Números ordenados de menor a maior como usados no teste Mann-Whitney U.**

Alturas / Nº Campos	N.º de Estômatos/mm²			
	0,3m	6m	12m	18m
1	326	389	493	508
2	341	397	532	580
3	365	429	548	580
4	366	469	564	612
5	374	477	580	636
6	381	477	588	643
7	381	484	620	644
8	389	485	628	651
9	397	500	643	651
10	397	516	660	652
11	405	524	667	652
12	413	528	723	660
13	421	548	724	675
14	429	556	731	676
15	453	556	739	707
16	453	572	755	708
17	461	588	763	715
18	469	604	779	731
19	469	612	818	747
20	533	643	867	763
$\bar{X}$	441,15	517,7	671,1	659,5

NÚMERO DE VASOS (Tabela 3, Fig. 3).

A frequência de elementos de xilema da nervura central aumenta progressivamente com a altura de maneira semelhante ao ocorrido em *Hevea brasiliensis* (Medri, 1977). A diferença mais significativa foi entre plântulas e folhas a 6m ($p < 0,00003$). Entre 6 e 12m a diferença é maior ($p=0,0029$) que entre 12 e 18m ($p=0,017$). A Fig. 3 mostra esquematicamente o incremento em elementos de xilema e número de estômatos.

PECÍOLO, NERVURA E MESÓFILO

Tanto os pecíolos quanto as nervuras principais são mais desenvolvidos nos estratos mais elevados da planta. Eles apresentam um aumento sucessivo no número de feixes vasculares com a altura. Os pecíolos a 0,3m (plântulas) são ligeiramente esféricos, pas-

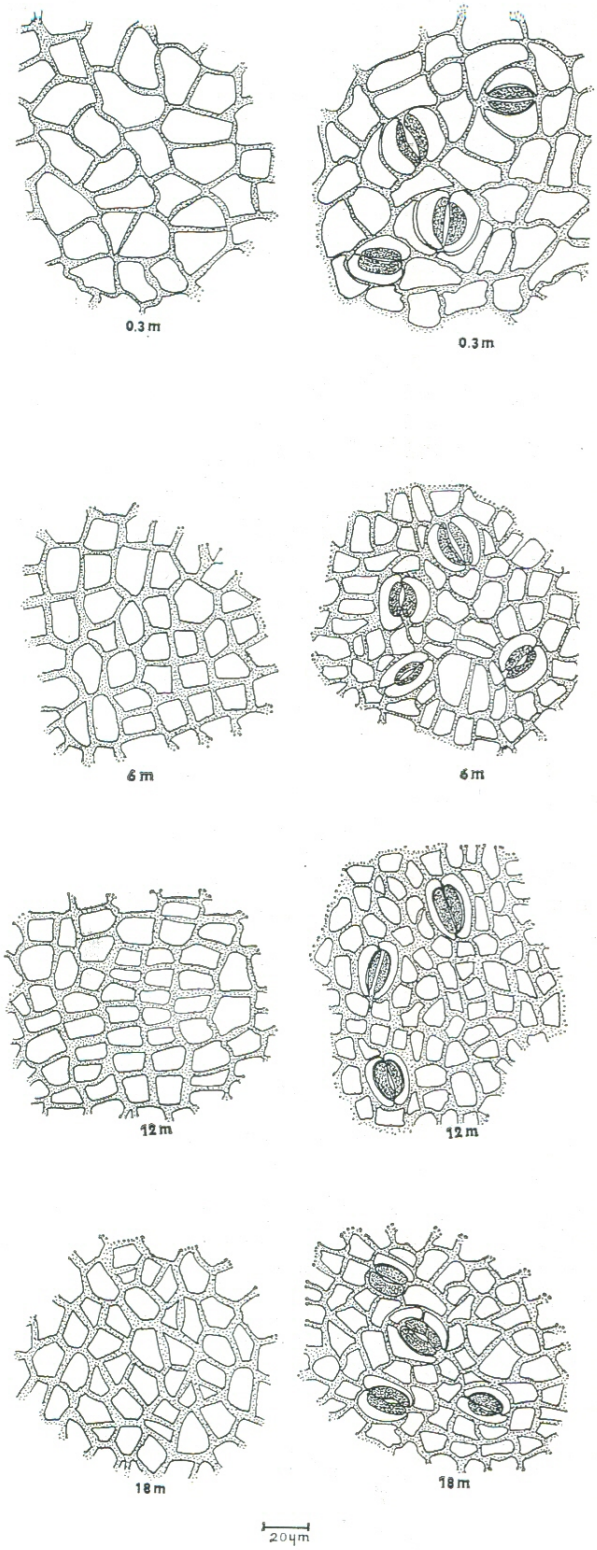

Fig. 2 — **Bertholletia excelsa.** Epidermes superior (esquerda) e inferior (direita) de plântula (0,3m) e adulto (6-18m). As alturas são as indicadas na figura.

TABELA 3 — Bertholletia excelsa. **Freqüência de elementos de xilema em nervura central em plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m)**

Altura / N.º de Nervuras	Freqüência de elementos de xilema			
	0,3m	6m	12m	18m
1	224	459	531	582
2	208	427	487	510
3	242	487	535	596
4	266	473	552	609
5	244	506	581	576
6	252	541	540	588
7	235	520	547	576
8	236	543	537	586
9	242	422	576	572
10	212	438	542	535
$\bar{X}$	236,1	481,6	542,8	573,0

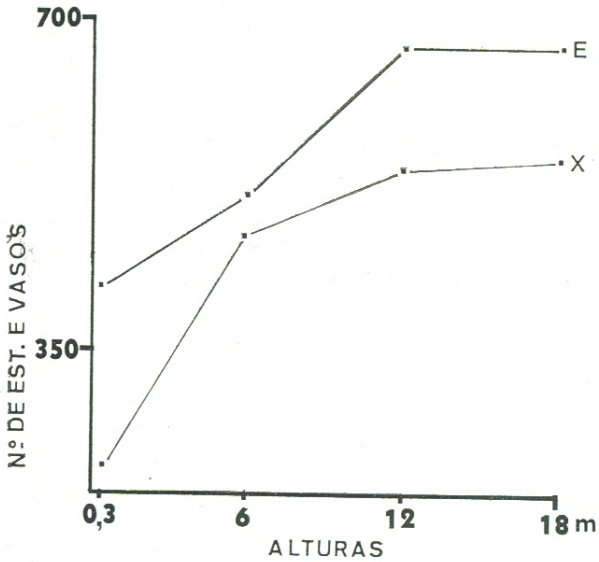

Fig. 3 — **Bertholletia excelsa.** Número de estômatos/mm² e elementos de vaso (total da nervura central) em plântula (0,3m) e adulto a diversas alturas (6, 12 e 18m).

sando à forma de meia lua em estratos superiores (12 e 18m) (Fig. 4). As nervuras, que a 0,3m (plântulas) são bem salientes na face inferior por apresentarem-se esféricas nos estratos superiores tornam-se menos salientes por terem formas elípticas, terminando suavemente o contato com a lâmina (Fig. 4).

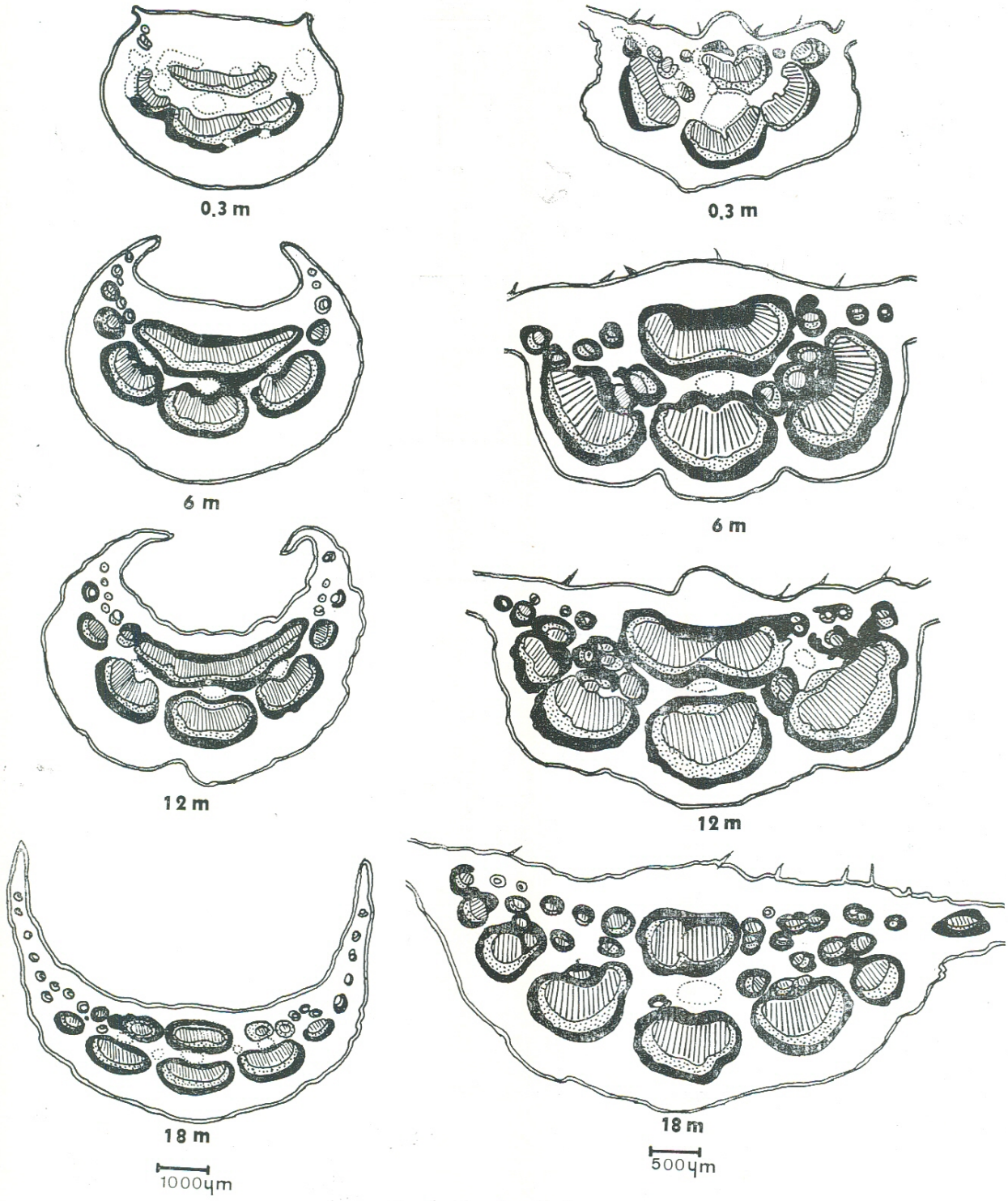

Fig. 4 — **Bertholletia excelsa.** Corte transversal de pecíolos (esquerda) e nervuras (direita) em plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m). Áreas em branco, parênquimas; áreas rodeadas por linhas pontilhadas, lacunas; áreas pretas, tecido de sustentação; áreas pontilhadas, floema; áreas com traços, xilema.

O estudo de tecidos em pecíolos e nervuras revela um aumento nas percentagens de xilema, tecido mecânico e floema com a altura da folha, enquanto há um decréscimo nas percentagens de parênquimas e de lacunas. O tecido epidérmico não apresenta diferenças marcadas (Figs. 5,6; Tab. 4).

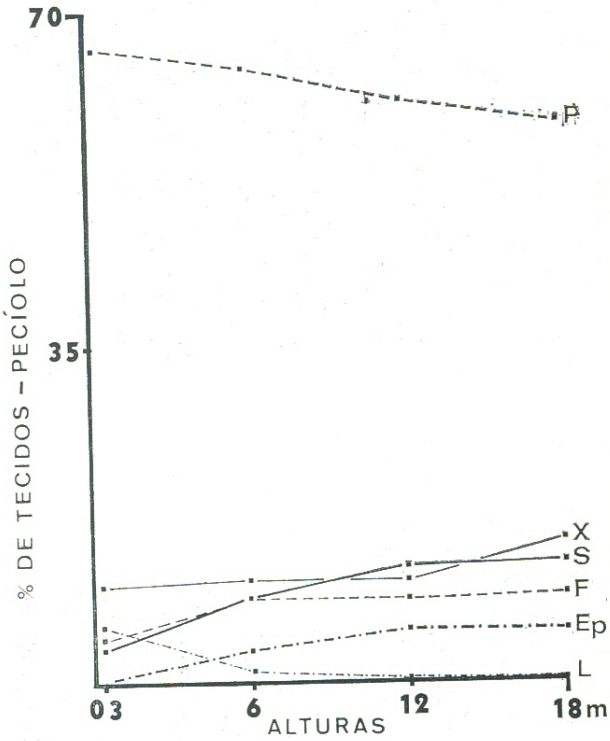

Fig. 5 — **Bertholletia excelsa.** Percentagens de tecidos em pecíolos de plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m). P, parênquima; X, xilema; S, sustentação; F, floema; Ep, epiderme; L, lacuna.

O mesófilo apresenta aumento marcado em espessura com a altura da folha na planta. Nos estratos inferiores as células paliçádicas apresentam uma relação comprimento-largura 5:1 aproximadamente, sendo que na copa da árvore esta relação passa a 8:1 aproximadamente. Em geral a largura permanece constante entre 12-14 m. Além de aumentar em comprimento, o parênquima paliçádico é monosseriado nos estratos inferiores, passando a bisseriado nos estratos da copa. Observa-se no mesófilo de plântulas grande quantidade de lacunas enquanto que nos estratos a 6,12 e 18m elas diminuem (Fig. 7).

TABELA 4 — Bertholletia excelsa. **Médias de percentagens de tecidos em diferentes partes da folha em plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m)**

Parte Folha	Tecidos \ Alturas	$\bar{X}$ de % de tecidos 0,3m	6m	12m	18m
Pecíolo	Epideme	1,87	4,43	5,18	4,92
	Parênquimas	67,95	65,36	60,82	58,50
	Sustentação	4,37	8,64	12,23	12,38
	Xilema	10,10	10,70	10,70	15,15
	Floema	4,87	8,64	8,44	8,49
	Lacunas	7,40	2,11	1,30	1,19
N. Central	Epideme	10,6	6,7	8,0	7,2
	Parênquimas	45,6	35,6	29,7	25,4
	Sustentação	8,5	28,6	29,5	31.7
	Xilema	22,8	21,8	24,0	27,0
	Floema	5,4	6,2	8,2	8,0
	Lacunas	6,9	1,0	0,4	0,2
Lâmina	Paliçádico	18,9	41,28	43,91	46,4
	Lacunoso	49,3	37,7	34,0	32,9
	Epiderme e Cutícula	13,28	13,88	15,0	15,0
	Lacunas	18,4	7,1	7,1	6,0

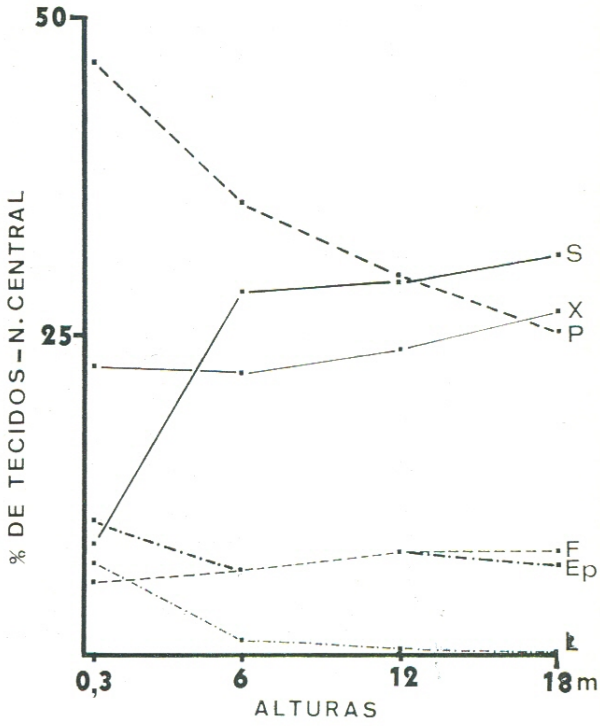

Fig. 6 — **Bertholletia excelsa.** Pencentagens de tecidos em nervuras centrais de plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m). P, parênquima; X, xilema; S, sustentação; F, floema; Ep, epiderme; L, lacuna.

As percentagens de parênquima paliçádico aumentam com a altura da folha na planta, enquanto há decréscimo com as percentagens de parênquima lacunoso, estabelecendo uma correlação negativa entre eles (Fig. 8 Tab. 4).

Conclusões gerais

Em termos gerais, os resultados deste trabalho apoiam os postulados de Zalenski para condições xéricas. Zalenski (vide Maxi-

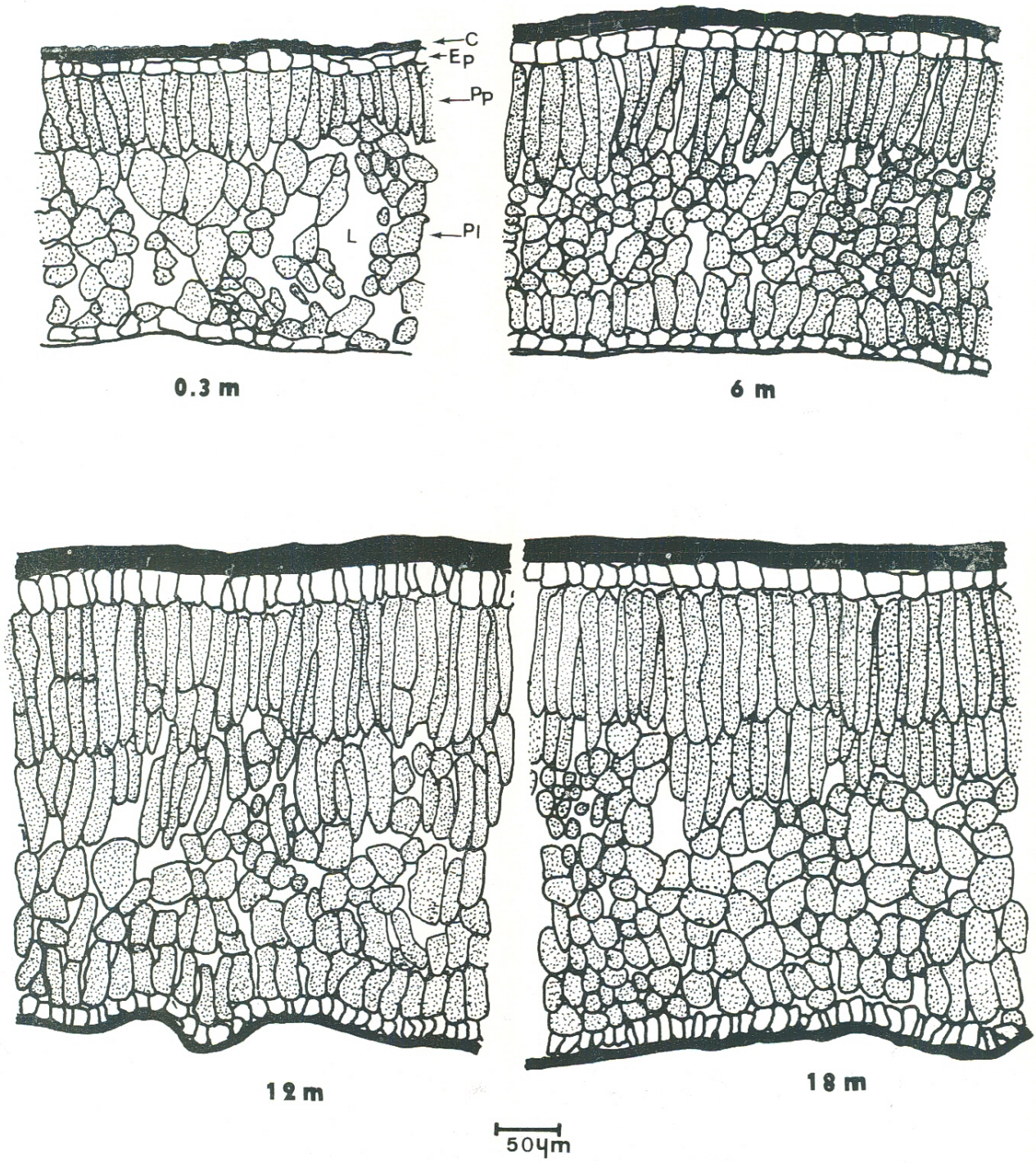

Fig. 7 — **Bertholletia excelsa.** Corte transversal de lâmina foliar em plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m). Pp, parênquima paliçádico; Pl, Parênquima lacunoso; Ep, epiderme; L, lacuna; C, cutícula.

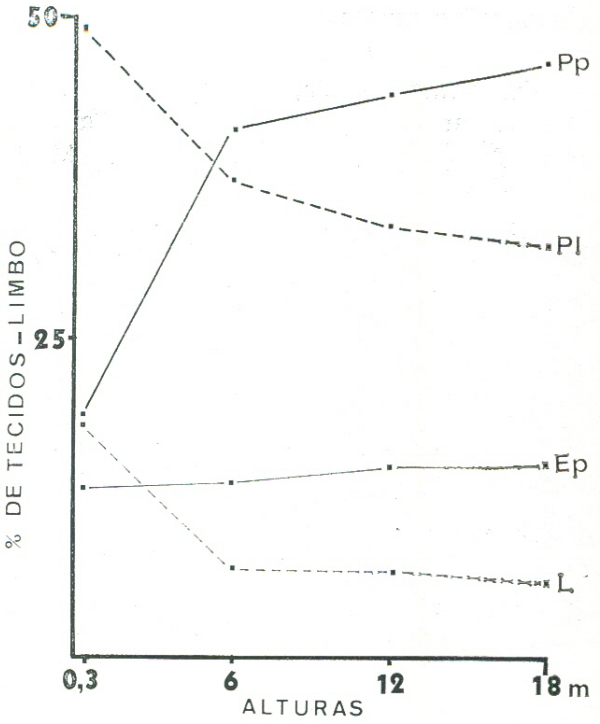

Fig. 8 — **Bertholletia excelsa.** Percentagens de tecidos em lâmina foliar de plântula (0,3m) e adulto (6, 12 e 18m). Pp, parênquima paliçádico; Pl, parênquima lacunoso; Ep, epiderme; L, lacuna.

mov, 1931 ou Lleras, 1978) postulou menor área foliar, maior número de estômatos, mesófilo mais espesso, tecido vascular mais desenvolvido e células epidérmicas menores e menos sinuosas, como algumas características indicativas de folhas sob condições mais secas. Todas estas características foram encontradas ao comparar os estratos inferiores (mais mésicos ou úmidos) com os superiores (mais secos) numa árvore de *Bertholletia excelsa.*

Ainda se a percentagem de tecido condutor (especialmente xilema) não aumentou em nervura central, o número total de vasos foi consideravelmente maior nos estratos superiores. Fenômeno semelhante foi observado pelo primeiro autor em *Hevea brasiliensis,* onde também foi demonstrado que o diâmetro dos vasos aumentava com a altura (Medri, 1977). Isto indica que em termos gerais, a eficiência de condução aumenta sobre condições xéricas. As razões ecofisiológicas deste fenômeno são discutidas em outro lugar (Lleras, 1978).

Em *Pogonophora schomburgkiana* as maiores diferenças ocorrem entre a base da árvore (1,6m) e o meio da mesma (2,8m) (Leite & Lleras, (1978). A situação em *Bertholletia excelsa,* onde as variações mais marcadas ocorreram entre o meio e a copa, foi bem diferente. Isto pode indicar uma resposta especificamente determinada a variações ambientais; porém, baseados na marcada diferença entre os tamanhos das duas árvores, e as diferentes condições de crescimento (*Pogonophora* numa situação relativamente aberta e exposta, *Bertholletia* em condições mais protegidas), tendemos a favorecer a idéia de que em parte, estas diferenças refletem condições de crescimento distintas.

É possível então, que nossa metodologia, utilizando a mesma espécie em ambientes diferentes, se preste a ser usada para determinar variações ecológicas. Seria de interesse determinar uma série de espécies que apresentassem fenótipos suficientemente flexíveis para serem usadas como indicadores ecológicos.

Comparando os dados obtidos neste trabalho com os resultados do trabalho de Medri (1977) em *Hevea brasiliensis,* é de notar que *Hevea* apresenta uma plasticidade bem maior que *Bertholletia excelsa*. Assim, a variação na morfologia das células epidérmicas, as percentagens de diferentes tecidos e a espessura do mesófilo variam mais em *Hevea* ao comparar diferentes estratos. Podemos então dizer que a sensibilidade fenotípica de folhas em *Hevea brasiliensis* é maior que em *Bertholletia excelsa*. A determinação desta sensibilidade fenotípica em muito mais espécies é necessária antes de termos um critério de quais as possíveis faixas de variação e assim quais as espécies mais indicadas como indicadores.

Até o presente temos trabalhado baseados no conceito de que as condições são mais xéricas, com maior luminosidade, temperatura mais alta e umidade relativa mais baixa progressivamente dos estratos inferiores até o estrato da copa numa floresta (ex. Salisbury, 1927; Selleck & Shuppert, 1957). Para ter dados realmente significativos quanto a relação do meio ambiente e a variação fenotípica das folhas em diversas espécies, é preciso obter dados microclimatógicos nos diferentes estra-

tos das árvores estudadas. Esperamos poder apresentar dados deste tipo em pesquisas subseqüentes.

SUMMARY

Anatomical variations of the leaves of **Bertholletia excelsa** (Brazil nut) collected at different heights of the same tree are presented here. The results agree with the postulates proposed in Zalenski's Law. It was found that from the base to the canopy of the tree (as conditions gradually become more xeric) the number of stomata/mm^2 increased, the mesophyll became thicker, the leaves decreased in size, and the number of vessels increased. Our results were somewhat different from what was found in **Pogonophora schomburgkiana** (Leite & Lleras, 1978) where the statiscally significant differences were between the basal-middle strata, whereas in **Bertholletia** they were between the middle and canopy strata. This was taken to reflect differences in growing conditions and not in the mechanism of phenotypic variation (allthough we do not wish to imply that there is no difference). Comparison of the results here presented with those of Medri (1977) for **Hevea brasiliensis** suggests that this species is phenotypically more plastic (for leaves) than **Bertolletia excelsa** as in general, characters varied in a wider range. It is suggested that some phenotypically highly sensitive species may, in time, be used as bio-indicators.

BIBLIOGRAFIA

LEITE, A.M. & LLERAS, E.

1978 — Ecofisiologia de plantas da Amazônia. I — Anatomia foliar e ecofisiologia de **Pogonophora schomburgkiana** Miers. (Euphorbiaceae). **Acta Amazonica** 8(3): 365-370.

LLERAS, E.

1977 — Differences in stomatal number per unit area within the same species under different micro-environmental conditions: A working hypothesis. **Acta Amazonica** 7(4) : 473-476.

1978 — Aspectos básicos da morfologia e anatomia das folhas e sua relação com parâmetros fisiológicos. **Anais do II Congresso Latino-Americano de Botânica** aceito publ. jan. 1978, será publicado em agosto.

MEDRI, M.E.

1977 — Alguns aspectos da anatomia ecológica de folha de **Hevea brasiliensis** Müell. Arg. Tese de Mestrado — INPA-FUA.

SALISBURY, E.J.

1927 — On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to woodland flora. **Phil. Trans. Roy. Soc. London, ser. B.**, 46 : 1-65.

SELLECK, G.W. & SHUPPERT, K.

1957 — Some aspects of microclimate in a pine forest and an adjacent prairie. **Ecology**, 38 : 650-653.

SIEGEL, S.

1956 — **Nonparametic statistics for the behavioral sciences**. McGraw Hill. New York. 312 p.

ZALENSKI, V.

1904 — Materials for the quantitative anatomy of different leaves on the same plant. **Mem. Polytech. Kiev.** 4 : 1-20 (apud Maximov, N.A. The physiological significance of the xeromorphic structure of the plants. **Jour. Ecol.**, 19 : 273-282, 1931).

(Aceito para publicação em 15/02/79)