



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL - UFMS  
*Campus* de CAMPO GRANDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL  
MESTRADO



SUZIELE GALDINO BATISTA

**Delimitação taxonômica das espécies de *Aspidosperma* sect. *Pungentia* (Pichon) Mar.-  
Ferr. com base em caracteres morfológicos e anatômicos foliares**

Campo Grande – MS

2023

SUZIELE GALDINO BATISTA

**Delimitação taxonômica das espécies de *Aspidosperma* sect. *Pungentia* (Pichon) Mar.-  
Ferr. com base em caracteres morfológicos e anatômicos foliares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal. Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Ana Farinaccio. Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Wanderleia de Vargas Araujo.

Campo Grande – MS

2023

## Ficha catalográfica

Batista, Suziele Galdino

Delimitação taxonômica das espécies de *Aspidosperma* sect. *Pungentia* (Pichon) Mar.-  
Ferr. com base em caracteres morfológicos e anatômicos foliares. 52p.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato  
Grosso do Sul.

1. Apocynaceae, 2. Taxonomia, 3. Anatomia foliar

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Instituto de Biociências

## **Comissão Julgadora**

---

Prof. Dra. Maria Ana Farinaccio (Orientadora)

---

Prof. Dra. Wanderleia de Vargas Araujo (Coorientadora)

---

Prof. Dr. Gisela M. Via do Pico (Titular)

---

Prof. Dra. Ana Carolina Devides Castello (Titular)

---

Dra. Flávia Maria Leme (Titular)

---

Profa. Dra. Vanessa de Carvalho Harthman Silveira (Titular)

---

Prof. Dr. Flávio Macedo Alves (Suplente)

*“estamos morrendo  
desde que chegamos  
e esquecemos de olhar a vista  
- viva intensamente”*

rupi kaur

*Aqueles que me fizeram possível, dedico.*

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço a Deus por guiar meus passos e me proteger.

Aos meus apreciados pais, Vanilsa Galdino de Lima e Cicero Alves Batista, pelo amor, educação e sacrifícios realizados para que eu e minhas amadas irmãs pudéssemos ter uma vida melhor.

Ao meu amado George pelo cuidado e companheirismo nos bons e não tão bons momentos, pelo apoio e palavras de suporte.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Ana Farinaccio pelo convite a executar este trabalho, por me orientar, pela confiança, pelo suporte, pela paciência, pelos conselhos, pelas correções e pelos puxões de orelha. Obrigada por ser sempre amável.

À Dr.<sup>a</sup> Wanderleia Vargas de Araujo por aceitar me coorientar, por sempre colaborar na construção deste trabalho pelos conhecimentos compartilhados, correções realizadas e ajuda em todo o processo.

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul por conceder o espaço e a oportunidade necessários para que eu pudesse realizar meus estudos.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal por permitir minha formação na busca de tornar-me mestre.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, Ana Sales, Carina de Araujo e João Pedro pelas conversas, pelo apoio, confidências, alegrias e desesperos. Obrigada pela amizade construída.

Às técnicas de laboratório, Tamires Yule e Flávia Leme por proporcionarem um ambiente de trabalho organizado, com espaço para aprender e colaborar, sem vocês, não poderíamos desenvolver nossos trabalhos.

Aos professores do PPGBV que me abriram os olhos para a ciência, pelo carinho e amabilidade com as quais sempre me trataram, pelas experiências inesquecíveis em sala de aula, em laboratório, em campo e na vida, obrigada por todo o tempo empregado em minha formação.

Por fim, agradeço a você que está lendo este trabalho, pelo precioso tempo que usas para ler, corrigir, apreciar ou apenas consultar a este tijolo a mais na construção de conhecimento.

A todos vocês, muito obrigada.

## Sumário

Resumo Geral.....	1
General Abstract.....	2
Introdução geral com revisão bibliográfica.....	4
Objetivo Geral.....	8
Objetivo Específico.....	8
Referências.....	9
Normas da revista – <i>FLORA</i> .....	14
Artigo: Delimitação taxonômica de <i>Aspidosperma quebracho-blanco</i> e <i>A. triternatum</i> (Apocynaceae) com base em caracteres morfológicos e anatômicos foliares.....	15
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Materiais e Métodos.....	19
Resultados.....	22
Discussão.....	25
Chave de identificação.....	33
Conclusão.....	33
Agradecimentos.....	34
Referências bibliográficas.....	34
Tabelas.....	40
Figuras.....	43

## Resumo Geral

**Resumo**— Apocynaceae, uma das maiores famílias de angiospermas, são predominantemente pantropical, com poucos representantes atingindo as regiões temperadas. Dentre as Apocynaceae, *Aspidosperma* é um dos gêneros mais representativos, composto por árvores ou arvoretas conhecidas popularmente como perobas. O gênero distribui-se por toda a América tropical, desde o México até a Argentina, com exceção do Chile. É composto por 80 espécies das quais, 69 ocorrem no Brasil, nas diversas formações vegetais, principalmente ambientes florestais, sendo o Brasil o centro de diversidade do gênero. *Aspidosperma* está dividido em dois subgêneros, *Aspidosperma* subgen. *Coutinia* e *Aspidosperma* subgen. *Aspidosperma*, este último subdividido em nove secções. Dentre as espécies do subgênero *Aspidosperma*, *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* são os representantes de *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*. Essa secção é facilmente distinta das demais, mesmo em estado vegetativo, por agrupar espécies que possuem folhas com ápices pungentes, únicas no gênero. No entanto, *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* são de difícil distinção pelas semelhanças morfológicas que apresentam, como o ápice pungente de suas folhas que são verticiladas e a coloração branco amarelada de suas flores. Essas duas espécies são encontradas nas formações chaquenas da Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Brasil, sendo consideradas plantas indicadoras do Bioma Chaco. Assim, é importante o desenvolvimento de novos estudos para eleger novos caracteres que possam ser úteis no reconhecimento dessas espécies, que são tão importantes no Bioma Chaco. Estudos anatômicos foliares envolvendo espécies de *Aspidosperma*, demonstraram que estes são úteis na produção de dados. Assim sendo, nosso objetivo foi desenvolver um estudo com caracteres morfológicos e anatômicos foliares que permitam uma circunscrição mais precisa das espécies em estudo.

**Palavras-chave**— Arquitetura foliar; Aspidospermateae; Anatomia Foliar; Quebracho;

**General Abstract**— Apocynaceae, one of the largest families of angiosperms, is predominantly pantropical, with few representatives reaching temperate regions. Among the Apocynaceae, *Aspidosperma* is one of the most representative genera, composed of trees or shrubs commonly known as perobas. The genus is distributed throughout tropical America, from Mexico to Argentina, with the exception of Chile. It is composed of 80 species, of which 69 occur in Brazil, in various vegetation formations, mainly forest environments, with Brazil being the center of diversity of the genus. *Aspidosperma* is divided into two subgenera, *Aspidosperma* subgen. *Coutinia* and *Aspidosperma* subgen. *Aspidosperma*, the latter subdivided into nine sections. Among the species of the subgenus *Aspidosperma*, *A. triternatum* and *A. quebracho-blanco* name *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*. This section is easily distinct from the others, even in the vegetative state, by grouping species that have leaves with pungent apices, unique in the genus. However, *A. triternatum* and *A. quebracho-blanco* are difficult to distinguish due to the morphological similarities they present, such as the pungent apex of their leaves, which are whorled, and the whitish-yellow color of their flowers. These two species are found in the chaquenhas formations of Argentina, Bolivia, Paraguay, Uruguay, and Brazil, being considered indicator plants of the Chaco Biome. Thus, it is urgent to develop new studies to select new characters that may be useful in recognizing these species, which are so important in the Chaco Biome. Leaf anatomical studies involving *Aspidosperma* species have demonstrated that they are useful in producing data. Therefore, our objective was to develop a study with morphological and leaf anatomical characters that would allow for a more precise circumscription of the species under study.

**Keywords**— Leaf architecture; Aspidospermateae; Leaf anatomy; Quebracho.

### **Apresentação da dissertação**

A dissertação está dividida em uma introdução geral e um capítulo. Na introdução geral foi apresentada uma contextualização geral sobre o tema, trazendo informações sobre a família e gênero estudados, esse capítulo não será publicado. O capítulo um está apresentado sob a forma de artigos científico, que será submetido ao periódico Flora.

## Introdução geral

Apocynaceae Juss. são predominantemente pantropicais, vastamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, principalmente no hemisfério sul e com poucos representantes atingindo as regiões temperadas. São uma das maiores famílias de angiospermas, incluem cerca de 400 gêneros e 5350 espécies (Endress et al., 2018). No Brasil está representada por 94 gêneros e 975 espécies, das quais 435 são endêmicas com ocorrência em todos os domínios fitogeográficos brasileiros (Pereira, 2007; Endress et al., 2018; Castello et al., 2018; BFG, et al., 2020).

A importância das Apocynaceae é bastante variada, muitas espécies são cultivadas como ornamentais, a exemplo de *Allamanda cathartica* L., e muitas vezes, são tóxicas para o ser humano. Também são fornecedoras de madeira de boa qualidade, e.g. *Aspidosperma* Mart. & Zucc. e *Tabernaemontana* L. (Rizzini e Mors, 1995; Quinet e Andreatta, 2005). Além disso, as principais substâncias extraídas das espécies de Apocynaceae são a leucocristina e a vincristina, utilizadas para o tratamento de câncer (Souza e Lorenzi, 2012). Além disso, espécies como *Cryptostegia grandiflora* R.Br. e *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton, ambas nativas de Madagascar, inicialmente foram introduzidas como ornamentais, e atualmente, comportam-se como invasoras de culturas (Costa et al., 2009).

As Apocynaceae são plantas predominantemente volúveis, além de árvores, subarbustos ou ervas eretas, todas latescentes, perenes, raramente ervas anuais. Os laticíferos e o floema interno são as características anatômicas mais importantes; estão presentes também, cristais de cálcio e oxalato. Quimicamente são conhecidas por apresentar uma variedade de glicosídeos e alcalóides (Rosatti, 1989). As folhas são geralmente opostas ou verticiladas, algumas vezes alternas, simples, inteiras, pecioladas ou sésseis, de textura membranácea a carnosa, frequentemente providas de um a vários coléteres na face adaxial, junto à base do limbo (Rosatti, 1989; Judd et al., 1994; Sennblad, 1997), nas bractéolas e no cálice. As inflorescências podem ser cimeiras umbeliformes, mais raramente pleiotirsos, tirsos, racemos ou flores solitárias, podem ser terminais, axilares, geralmente opostas, ou mais frequentemente extra-axilares, em geral alternas (Fontella e Marquete, 1995; Rapini, 2012; Endress et al., 2014, 2018). O cálice é dialissépalo ou gamossépalo e a corola gamopétala, ambos são pentâmeros. O número de estames é sempre cinco e são epipétalos. O gineceu é bicarpelar ou dialicarpelar, raramente tri a pentacarpelar. O ovário é súpero, raramente semi-ínfero e frequentemente plurióvulado. Na grande maioria das espécies, os carpelos são livres no nível do ovário, unidos e expandidos acima, formando a cabeça dos estiletos, que através da sinorganização do

androceu e gineceu leva a formação do ginostégio, uma região, mais ou menos alargada, de acordo com o grupo, localizada acima do estilete. Apocynaceae apresentam predominantemente fruto do tipo folículo, frequentemente, aos pares, com sementes comosas. No entanto, também são encontradas na família cápsulas, drupas ou bagas com sementes aladas ou envolvidas por arilo carnoso. Os grãos de pólen podem ser livres, agrupados em tétrades, ou ainda, aglutinados em polínios, sustentados por caudículos, que se ligam, aos pares, a um corpúsculo córneo, muitas vezes denominado retináculo, situado entre duas anteras contíguas; retináculo mais caudículos constituem o translador; o conjunto, translador mais dois polínios, constituem o polinário, que está presente em todas as espécies brasileiras da subfamília Asclepiadoideae (Simões e Kinoshita, 2002; Kinoshita, 2004; Souza e Lorenzi, 2012).

Mas nem sempre esse grande e complexo grupo foi reconhecido como uma única família. O que se conhece hoje como Apocynaceae, foi inicialmente, reconhecido por Jussieu (1789), como família Apocineae. Posteriormente, Brown (1810) propôs a família Asclepiadeae com 36 gêneros desmembrados de Apocineae. Os representantes dessa família apresentariam, segundo o autor, grãos de pólen reunidos em estruturas especializadas chamadas transladores. A partir de então, foram preferencialmente reconhecidas como famílias distintas (e.g. Cronquist, 1981; Barroso, 1986). No entanto, muitos autores, e.g. Rosatti (1989), Thorne (1992), Judd et al. (1994), defendiam a circunscrição de Jussieu (1789), mas continuaram reconhecendo-as como distintas por razões práticas e tradicionais (por serem grupos grandes e complexos).

Apesar da delimitação controversa, foi somente com os estudos filogenéticos e morfológicos (Judd et al., 1994), mas especialmente, moleculares (Endress et al., 1996; Sennblad e Bremer 1996, 2002; Potgieter e Albert, 2001), que uma nova delimitação, unificando as duas famílias, foi proposta. Assim, Endress e Bruyns (2000) apresentam a família Apocynaceae distribuída em cinco subfamílias: Rauvolfioideae Kostel, Apocynoideae Burnett, Periplocoideae R.Br., Secamonoideae Endel. e Asclepiadoideae R.Br. ex Burnett. Somente, Secamonoideae e Periplocoideae não estão representadas no Brasil. No entanto, dados mais recentes, dividem a família em três subfamílias, Asclepiadoideae, Periplocoideae e Secamonoideae, e dois gradus, rauvolfióde e apocynóide, que correspondiam às subfamílias Rauvolfioideae e Apocynoideae, respectivamente (Endress et al., 2014; Simões et al., 2016; Alvarado-Cárdenas, 2020).

Dentre as Apocynaceae, *Aspidosperma* Mart. & Zucc. é um dos gêneros mais representativos, é composto de espécies conhecidas popularmente como perobas. O gênero

distribui-se por toda a América tropical, desde o México até a Argentina, com exceção do Chile. *Aspidosperma* foi descrito por Martius & Zuccarini (1824), quando reconheceram cinco espécies, sendo *A. tomentosum* Mart. a espécie tipo do gênero. A partir de então, o número de espécies no gênero aumentou constantemente, especialmente com os trabalhos de Candolle (1844), Müller (1860), Woodson (1951), Marcondes-Ferreira e Kinoshita (1996), Castello et al. (2020, 2022).

*Aspidosperma* emerge no grado rauvolfióide, é grupo irmão do restante das Apocynaceae (Simões et al., 2007; Castello et al., 2018). É composto por 80 espécies, das quais, 69, ocorrem no Brasil, o centro de diversidade de *Aspidosperma*. (Castello et al., 2022). O gênero está presente nas diversas formações vegetais, principalmente ambientes florestais (Machate et al., 2016, 2020, Farinaccio et al., 2021).

Marcondes-Ferreira e Kinoshita (1996), dividiram *Aspidosperma* em dois subgêneros, baseados principalmente no número de lobos no cálice; as espécies que apresentam cálice com 4 lobos foram incluídas em *Aspidosperma* subgen. *Coutinia* (Vell.) Marc.-Ferr e, aquelas que exibem 5 lobos em *Aspidosperma* Mart. subgen. *Aspidosperma*, este último subdividido em nove secções.

Em geral as espécies do gênero *Aspidosperma* são árvores ou arvoretas, os ramos com ou sem lenticelas, corticosos ou não, o látex é leitoso ou avermelhado. As folhas são geralmente alternas, raramente opostas ou verticiladas; pungentes ou não. Apresentam inflorescência subterminal ou axilar, raramente extra-axilar ou ramiflora; geralmente dicásios modificados, raramente fasciculada ou paniculada. Exibem cálice, geralmente com 5 lobos, raríssimo com 6 a 7. A corola das espécies de *Aspidosperma* é glabra ou pilosa, e as lacínias são reflexas ou um pouco eretas na ântese. Os frutos são lenhosos ou coriáceos com a superfície lisa, sulcada, lixante, verrucosa ou muricada; podem ser glabros ou pilosos (Marcondes-Ferreira, 1988).

Dentre as espécies do subgênero *Aspidosperma*, *A. triternatum* Rojas Acosta e *A. quebracho-blanco* Schltl., nomeiam a *Aspidosperma* Sect. *Pungentia* (Pichon) Mar.-Ferr. (Marcondes-Ferreira e Kinoshita, 1996). Segundo esses autores, essa secção é facilmente distinta das demais, mesmo em estado vegetativo, por agrupar espécies que possuem as folhas verticiladas e com ápices pungentes, únicas no gênero. No entanto, *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* são de difícil distinção pelas semelhanças morfológicas que apresentam, como a presença de folhas verticiladas com ápices pungentes e flores branco amareladas. Ambas são espécies características do Chaco (Marcondes-Ferreira e Kinoshita, 1996). São encontradas nas formações chaquenhas da Argentina, Bolívia e Paraguai e Uruguai. São

consideradas plantas indicadoras do Bioma Chaco (Moglia, 2012). No Brasil, as duas espécies ocorrem no Mato Grosso do Sul, e *A. quebracho-blanco*, também foi coletada no Rio Grande do Sul.

O Bioma Chaco cobre cerca de 1.000.000 km<sup>2</sup> (Olson et al., 2001), nas planícies do norte da Argentina, oeste do Paraguai, sudeste da Bolívia e oeste do Brasil. É caracterizado por apresentar principalmente vegetação arbustiva, caducifólia, micrófila e espinescente, geralmente associada a solos salinos (Silva et al., 2000). No Brasil, representado por uma pequena parcela (7%), localizado no município de Porto Murtinho, em Mato Grosso do Sul (Souza e Suárez, 2021).

Apesar de pouco conhecido, no Brasil, vem sendo fortemente impactado pelo agronegócio e o extrativismo que representam grande perigo nessa região (Pott e Pott, 2003; Souza e Suárez, 2021). Embora a pecuária não seja considerada um grande ciclo econômico do Chaco no início da sua ocupação, no século XIX, ela sempre esteve presente durante os ciclos da erva-mate e do quebracho e, hoje, representa a principal atividade econômica (Souza e Suárez, 2021). A rapidez do crescimento do agronegócio na região impede o desenvolvimento de pesquisas, fazendo deste, um bioma com pouquíssimos estudos de cunho florístico (Sinani et al., 2019).

Na família Apocynaceae, estudos morfológicos e anatômicos têm se mostrado úteis e contribuído para a delimitação de táxons em diferentes níveis hierárquicos, também temos contribuições a estudos taxonômicos e filogenéticos (Simões et al., 2007; Livshultz et al., 2007; Endress et al., 2014; Espírito Santo et al., 2019; de Moraes Câmara et al., 2020; Machate et al., 2020; Farinaccio et al., 2021). Além disso, alguns estudos têm sido realizados com foco na anatomia e morfologia de plantas, a exemplo de Arambarri et al., (2008, 2010, 2012), Carvalho et al., (2017), Guerra e Scremin-Dias (2018), Ferraro e Scremin-Dias (2017), Rosa et al., (2021), Carvalho e Farinaccio (2021), Panini et al., (2021), Castello et al., (2022). Com relação ao gênero *Aspidosperma*, corroborando com estudos de outros grupos da família, análises anatômicas demonstraram que características anatômicas foliares podem ser usadas no reconhecimento de espécies (Albuquerque, 1971; Reis et al. 2013; Krentkowski e Duarte, 2012).

Assim sendo, propomos que caracteres morfológicos e anatômicos foliares possam ser úteis na sistemática de *Aspidosperma* Sect. *Pungentia* pela grande dificuldade na delimitação de *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* já que os tradicionalmente utilizados vem dificultando

o estabelecimento dos limites entre esses dois táxons. Associar a abordagem, aqui proposta, com a taxonomia irá permitir uma circunscrição mais precisa.

### **Objetivo Geral**

O presente estudo teve como objetivo realizar um estudo morfológico e anatômico de folha das espécies de *Aspidosperma* Sect. *Pungentia* (*Aspidosperma triternatum* e *A. quebracho-blanco*) a fim de contribuir para a delimitação das espécies do grupo.

### **Objetivos Específicos**

1. Descrever a micromorfologia e anatomia foliar de *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*
2. Verificar se morfologia foliar das espécies provenientes de populações provenientes de diferentes regiões se mantêm;
3. Apontar possíveis características adaptativas ao bioma Chaco;
4. Investigar quais são os caracteres morfológicos e anatômicos foliares diagnósticos das espécies estudadas;
5. Apresentar uma chave de identificação, para *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* baseada em caracteres foliares, morfológicos e anatômicos.

## Referências Bibliográficas

- Albuquerque, B.W., 1971. Contribuição ao conhecimento das *Aspidosperma* da Amazônia Brasileira (Apocynaceae). *Aspidosperma carapanauba* Pichon, *A. marcgravianum* Woodson e *A. oblongum*. Acta Amaz. 1, 9–20.
- Alvarado-Cárdenas, L.O., Lozada-Pérez, L., Islas-Hernández, C.C., Cortez E.B., Maya-Mandujano, K.G., Chávez-Hernández, M.G., 2020. Apocináceas de ayer y hoy. Conocimiento histórico y reevaluación de la diversidad y distribución de Apocynaceae en México. Bot. Sci. 98, 393–416.
- Arambarri, A.M., Freire, S.E., Bayón, N.D., Colares, M.N., Monti, C., Novoa, M.C., Hernández, M.P., 2010. Micrografía foliar de arbustos y pequeños árboles medicinales de la Provincia Biogeográfica de las Yungas (Argentina). Kurtziana. 35, 15–45.
- Arambarri, A., Monti, C., Bayón, N., Hernández, M., Novoa, M.C., Colares, M., 2012. Ecoanatomía foliar de arbustos y árboles del distrito chaqueño oriental de la Argentina. Bonplandia, 5–26.
- Arambarri, A.M., Freire, S.E., Colares, M.N., Bayón, N.D., Novoa, M.C., Monti, C., Stenglein, S.A. 2008. Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from Misiones forest of the Paranaense Province (Argentina): Part 2. Bol Soc Argent Bot. 43, 31–60.
- Barroso G.M., 1986. Sistemática de angiospermas do Brasil, vol. 3, Imprensa Universitária Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Brazil Flora Group, et al., 2022. "Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network." Taxon. 71, 178-198.
- Brown, R., 1810. On the Asclepiadeae, a natural order of plants separated from the Apocineae of Jussieu. Mem. Wern. Nat. Hist. Soc. 1, 12–78.
- Carvalho, R., Farinaccio, M.A., 2021. Chaco: centro de diversidade de *Araujia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae), in: Sartori, A.L.B., Souza, P.R., Arruda, R.C.O. (Eds), Chaco: caracterização, riqueza, diversidade, recursos e interações. Ed. UFMS., pp. 127–141.
- Carvalho, R., Pellissari, L.C.O., Pace, M.R., Scremin-Dias, E., Arruda, R.C.O., Farinaccio, M.A., 2017. Leaf morphoanatomy of *Araujia* and *Morrenia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae): phylogenetic implications and species key. Bot. J. Linn. Soc. 183, 280–293.

- Castello, A.C.D., de Souza Pereira, A.S., Messias, P.A., Scudeler, A.L., de Moura, Y.A., Koch, I., 2018. Two new species of *Aspidosperma* (Apocynaceae) from Northeast Brazil and a monograph of the species from Ceará state. *Syst. Bot.* 43, 1030–1045.
- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.D.S., Shimizu, G.H., Zuntini, A.R., Simões, A.O., Koch, I., 2022. Taxonomy and nomenclature of *Aspidosperma* (Apocynaceae). *Phytotaxa*, 571, 239–277.
- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.S., Simões, A.O., Koch, I., 2020. *Aspidosperma* in: Flora do Brasil. 2020. em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4520> (acesso em 02 de fevereiro de 2022).
- Costa, R.G., Medeiros, A.N., Alves, A.R., 2009. Perspectivas de utilização da flor-de-seda (*Calotropis procera*) na produção animal. *Rev. Caatinga*. 22, 1–9.
- Cronquist, A., 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York.
- de Candolle, A.L.P.P., 1844. Apocynaceae in: Candolle, A.P., Candolle, A.L.P.P. (Eds.), *Prodomus systematis naturalis regni vegetabilis*, vol. 8. Treuttel & Würtz., Paris, pp. 317–489.
- de Moraes Câmara, A.R., Vilarinho, M.P., Araújo, J.S., 2020. Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia do gênero *Camarea* St.-Hil (Malpighiaceae). *Research, Society and Development*. 9, 1–29.
- Endress, M.E., Bruyns, P.V., 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. *Bot. Rev.* 66, 1–56.
- Endress, M.E., Liede-Schumann, S., Meve, U., 2014. An updated classification for Apocynaceae. *Phytotaxa*. 159, 175–194.
- Endress, M.E., Meve, U., Middleton, D.J., Liede-Schumann, S., 2018. Apocynaceae. in: Kadereit J.W., Bittrich, V. (Eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants*. Springer, Berlin, pp. 207–411.
- Endress, M.E., Sennblad, B., Nilsson, S., Civeyvrel, L., Chase, M., Huysmans, S., Grafström, E. Bremer, B., 1996. A phylogenetic analysis of Apocynaceae sens. strict. and some related taxa in Gentianales: a multidisciplinary approach. *Opera Bot. Belg.* 7, 59–102.
- Espírito Santo, F.S., Rapini, A., Ribeiro, Liede-Schumann, P.L.S., Goyder, D.J., Fontella-Pereira, J., 2019., Phylogeny of the tribe Marsdenieae (Apocynaceae), reinstatement of *Ruehssia* and the taxonomic treatment of the genus in Brazil. *Kew Bull.* 2, 1–79.
- Farinaccio, M.A., Urquiza, M.V.S., Machate, D.J., Braga, J.M.F., de Araújo, C., Batista, S.G., Arruda, R.C.O., 2021. Wood of Sections *Aspidosperma* and *Pungentia* (*Aspidosperma*,

- Apocynaceae) from Mato Grosso do Sul state, Brazil: Taxonomic Implications. *Syst. Bot.* 46, 175–185.
- Ferraro, A., Scremin-Dias, E., 2017. Structural features of species of Asteraceae that arouse discussions about adaptation to seasonally dry environments of the Neotropics. *Acta bot. bras.* 32, 113–127.
- Fontella, J., Marquete, N.F.S., 1995. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Asclepiadaceae. *Bol. Bot. Univ. São Paulo.* 14, 131–179.
- Guerra, A., Scremin-Dias, E. 2018. Leaf traits, sclerophylly and growth habits in plant species of a semiarid environment. *Braz. J. Bot.* 41, 131–144.
- Judd, W.S., Sanders, W. & Donoghue, M.J., 1994. Angiosperm family pairs: preliminary phylogenetic analyses. *Harvard Pap. Bot.* 5, 1–51.
- Jussieu, A.L., 1789. *Genera plantarum secundum ordines naturales disposita juxta methodum in horto regio parisiensi exaratam, anno 1774.* Herissant, Paris.
- Kinoshita, L.S., 2004. Apocynaceae s.s., in: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., Giulietti, A.M. (Eds.), *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.* RiMa Editora., São Paulo, pp. 35–91.
- Krentkowski, F.L., Duarte, M.D.R., 2012. Morpho-anatomical analysis of *Aspidosperma olivaceum* and *A. polyneuron*, Apocynaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 22, 937–945.
- Livshultz, T., Middleton, D.J., Endress, M.E., Williams, J.K., 2007. Phylogeny of Apocynoideae and the Apsa clade (Apocynaceae s.l.). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 94, 324–359.
- Machate, D.J., Alves, F.M., Farinaccio, M.A., 2016. *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae) no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rodriguésia.* 67, 1011–1024.
- Machate, D.J., Pace, M.R., Alves, F.M., Furtado, C.Q.J., Farinaccio, M.A., 2020. *Aspidosperma flaviflorum* (Apocynaceae), a New Species from Mato Grosso do Sul, Brazil, with Notes on Wood Anatomy. *Syst. Bot.* 45, 315–322.
- Marcondes-Ferreira, N.W., 1988. *Aspidosperma* Mart., Nom. cons. (Apocynaceae): estudos taxonômicos. UNICAMP, Instituto de biologia, Campinas, SP, Tese (doutorado), [s. n.].
- Marcondes-Ferreira, W., Kinoshita, L.S., 1996. Uma nova divisão infragenérica para *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae). *Rev. Bras. Bot.* 19, 2013–2214.
- Martius, C.F.P., Zuccarini, J.G., 1824. Ankündigung der fortsetzung eines werkes über brasilianische pflanzen. *Flora* 7, 129–142.
- Moglia, J.G., González, D., Sánchez, V., 2012. Anatomía del leño y dendrocronología del quebracho lagunero *Aspidosperma triternatum* (Apocynaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 47, 1–2.

- Müller, A.J., 1860. Apocynaceae. in: Martius, C.F.P, Eicher, A.G., (Eds.), Flora Brasiliensis. Fleischer, F. Leipzig, 6, 43–61.
- Olson, D.M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E.D., Burgess, N.D., Powell, G.V.N., Underwood, E.C., D'amico, J.A., itoua, I., Strand, H.E., Morrison, J.C., Loucks, C.J., Allnutt, T.F., Ricketts, T.H., Kura, Y., Lamoreux, J.F., Wettengel, W.W., hedao, P., Kassem, K.R., 2001. Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth: A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience*, 51:11, 933–938.
- Panini, G.P.F, Araujo, C., Batista, S.G, Franco, A.P.S.A, Arruda, R.C.O., 2021. Maderia de Leguminoasae: anatomia, in: Sartori, A.L.B., Souza, P.R., Arruda, R.C.O. (Eds), Chaco: caracterização, riqueza, diversidade, recursos e interações. Ed. UFMS., pp. 165 – 189.
- Pereira, M.M., 2007. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). *Quim. Nova*. 30, 970–983.
- Potgieter, K., Albert, V.A., 2001. Phylogenetic relationships within Apocynaceae sens. lat. based on trnL intron and trnL-F spacer sequences and propagule characters. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 88, 523–549.
- Pott, A., Pott, V.J., 2003. Espécies de fragmentos florestais em Mato Grosso do Sul. In: Costa, R.B. (Eds) Fragmentação florestal e alternativas de desenvolvimento rural na Região Centro-Oeste. UCDB, Campo Grande, MS, pp. 28–52.
- Prado, D.E., 1993. What is the Gran Chaco vegetation in South America? A review. Contribution to the study of flora and vegetation of the Chaco. V. *Candollea*. 48, 145–172.
- Quinet, C.G.P., Andreatta, R.H.P., 2005. Estudo taxonômico e morfológico das espécies de Apocynaceae Adans. na reserva Rio das Pedras, Município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Pesq. Bot.* 56, 13–73.
- Rapini, A., 2012. Taxonomy "under construction": advances in the systematics of Apocynaceae, with emphasis on the Brazilian Asclepiadoideae. *Rodriguésia*. 63, 075–088.
- Reis, A.R., Potiguara, R., Reis, L., 2013. Anatomia foliar de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). *Encicl Biosf.* 9, 3206–3227.
- Rizzini, C.T., Mors, W.B., 1995. Botânica Econômica Brasileira. *Âmb. Cult.*, Rio de Janeiro, pp. 112–113.

- Rosa, A.C., Ferraro, A., da Silva, R.H., Pott, V.J., Victório, P.C., Arruda, R.C.O., 2021. Leaf anatomy of two medicinal *Croton* species: Contribution to plant recognition. *Microscopy Research and Technique*. 84:8, 1685–1695.
- Rosatti, T.J., 1989. The genera of suborder Apocynineae (Apocynaceae and Asclepiadaceae) in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor.* 70, 307–401.
- Sennblad, B., 1997. Phylogeny of the Apocynaceae sl Ph. D. Doctoral dissertation, thesis, Uppsala University. Summary published in *Acta Universitatis Upsaliensis*. 295, 1–18.
- Sennblad, B., Bremer, B., 1996. The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with *rbcL* data. *Plant Syst. Evol.* 202, 153–175.
- Sennblad, B., Bremer, B., 2002. Classification of Apocynaceae s. 1. according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. *Syst. Bio.* 51, 389–409.
- Silva, M.P., Mauro, R., Mourão, G., Coutinho, M., 2000. Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. *Rev. Bras. Bot.* 23, 143–152.
- Simões, A.O., Kinoshita, L.S., 2002. The Apocynaceae s. str. of the Carrancas region, Minas Gerais, Brazil. *Darwiniana*. 40, 127–169.
- Simões, A.O., Kinoshita, L.S., Koch, I., Silva, M.J., Endress, M.E., 2016. Systematics and character evolution of Vinceae (Apocynaceae). *Taxon*. 65, 99–122.
- Simões, A.O., Livshultz, T., Conti, E., Endress, M.E., 2007. Phylogeny and systematics of the Rauvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 94, 268–297.
- Sinani, T.R.F., Lima, L.C.P., Alves, F.M., Matos-Alves, F., Sciamarelli, A., Sartori, A.L.B., 2019. Papilionoideae (Leguminosae) no Chaco brasileiro. *Rodriguésia*. 70, 1–51.
- Souza, P.R., Suárez, Y.R., 2021. O contexto histórico da ocupação do Chaco brasileiro para melhor entender a biodiversidade atual, in: Sartori, A.L.B., Souza, P.R., Arruda, R.C.O. (Eds), *Chaco: caracterização, riqueza, diversidade, recursos e interações*. Ed. UFMS., pp. 16–27.
- Souza, V.C., Lorenzi, H., 2012. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III*, terceira ed. Plantarum, Nova Odessa.
- Thorne, R.F., 1992., Classification and geography of the flowering plants. *Bot. Rev.* 58, 225–384.

Varilla-González, J.D., Ruiz-Vega, R., 2020., Valor taxonómico de nuevos caracteres anatómicos de la lámina foliar de tres especies de *Cecropia* (Urticaceae: Cecropiae) en Córdoba, Colombia. *Acta Biol. Colomb.* 25, 246–254.

Woodson, R.E., 1951. Studies in the Apocynaceae VIII A Interim Revision of Genus *Aspidosperma* Mart. & Zucc. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 38, 119–206.

Artigo a ser submetido na revista **FLORA**

[https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws\\_home/701764?generatepdf=true](https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/701764?generatepdf=true)

**Delimitação taxonômica em *Aspidosperma* sect. *Pungentia* (Apocynaceae) com base em caracteres morfológicos e de anatomia foliar**

**Suziele Galdino Batista<sup>1,4</sup>, Wanderleia de Vargas Araújo<sup>3</sup>, Maria Ana Farinaccio<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>INBIO, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

<sup>2</sup>Herbário COR/ Laboratório de Botânica, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus do Pantanal, Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus de Cassilândia, Cassilândia, Mato Grosso do Sul, Brasil.

<sup>4</sup>Autor para correspondência: suzigaldinob@gmail.com

**Resumo**—*Aspidosperma* é um dos gêneros mais representativos, é composto por árvores ou arvoretas conhecidas popularmente como perobas. O gênero distribui-se por toda a América tropical, desde o México até a Argentina, com exceção do Chile. É composto por 80 espécies das quais, 69, ocorrem no Brasil, que é o centro de diversidade do gênero. *Aspidosperma triternatum* e *A. quebracho-blanco*, nomeiam a *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*, secção é facilmente distinta das demais, mesmo em estado vegetativo, por agrupar espécies que possuem as folhas com ápices pungentes, únicas no gênero. No entanto, *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* são de difícil distinção pelas semelhanças morfológicas que apresentam como o ápice pungente de suas folhas que são verticiladas e a coloração branco amarelada de suas flores. Elas são encontradas nas formações chaquenhas da Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Brasil, Bioma que vem sendo fortemente impactado pelo agronegócio e o extrativismo e representam grande perigo nessa região. Assim, é importante o desenvolvimento de novos estudos para eleger outros tipos de caracteres que possam ser úteis no reconhecimento dessas espécies, tão importantes no Bioma Chaco. Estudos anatômicos foliares, como ferramentas taxonômicas, envolvendo espécies de *Aspidosperma* publicados, demonstraram que estas características são úteis para delimitar espécies. Assim sendo, nosso objetivo foi desenvolver um estudo para obter caracteres morfológicos e anatômicos foliares úteis na sistemática de *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*. Para os procedimentos anatômicos e morfológicos, folhas adultas de ambas espécies foram obtidas a partir de espécimes coletados na natureza. As análises anatômicas e

morfológicas foram conduzidas a partir dos métodos usuais de microscopia fotônica e microscopia eletrônica de varredura. Os caracteres diagnósticos que se revelaram úteis para a delimitação das espécies foram: a quantidade de pares de nervuras secundárias; os padrões de distância entre estas e a região mediana e distal, bem como a reticulação destas nervuras; a ramificação das nervuras terciárias; a impressão das nervuras quaternárias bem como o desenvolvimento destas e a forma da aréola; forma das células epidérmicas; padrão de ornamentação cuticular; tipos e distribuição os tricomas; distribuição dos estômatos, organização e capas de células do mesofilo. Demonstramos a partir do estudo realizado que as espécies possuem diferenças morfológicas e anatômicas notáveis que tornaram possível uma melhor circunscrição do grupo.

**Palavras-chave**— Arquitetura foliar; Microscopia Eletrônica de Varredura; Anatomia foliar; Quebracho.

**Abstract**—*Aspidosperma* is one of the most representative genera, it is composed of trees or small trees popularly known as perobas. The genus is distributed throughout tropical America, from Mexico to Argentina, with the exception of Chile. It comprises 80 species, 42 of which occur in Brazil, which is the center of diversity for the genus. *Aspidosperma triternatum* and *A. quebracho-blanco*, name *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*, section is easily distinguished from the others, even in the vegetative state, by grouping species that have leaves with pungent apexes, unique in the genus. However, *A. triternatum* and *A. quebracho-blanco* are difficult to distinguish due to the morphological similarities they present, such as the pungent apex of their whorled leaves and the yellowish white color of their flowers. They are found in the Chaco formations of Argentina, Bolivia, Paraguay, Uruguay and Brazil, a Biome that has been heavily impacted by agribusiness and extractivism and represent a great danger in this region. Thus, it is urgent to develop new studies to choose other types of characters that may be useful in the recognition of these species, so important in the Chaco Biome. Leaf anatomical studies, as taxonomic tools, involving published *Aspidosperma* species, have demonstrated that these are useful in producing data. Therefore, our objective was to develop a study to obtain leaf morphological and anatomical characters, as these can be useful in the systematics of *Aspidosperma* Sect. *Pungentia*. Associating the approach proposed here with the taxonomy of these taxa will allow a more precise circumscription of this taxon. For anatomical and morphological procedures, adult leaves of both species were obtained from specimens collected

in nature. Anatomical and morphological analyzes were conducted using the usual methods of photonic microscopy and scanning electron microscopy. The diagnostic characters that proved to be useful for delimiting the species were: the number of pairs of secondary veins; the patterns of distance between these and the median and distal region, as well as the reticulation of these ribs; the branching of the tertiary veins; the impression of the quaternary veins as well as their development and the shape of the areola; shape of epidermal cells; cuticular ornamentation pattern; types and distribution of trichomes; distribution of stomata, organization and cell layers of the mesophyll, among other characteristics.

**Keywords**— Leaf architecture; Scanning Electron Microscopy; Leaf anatomy; Quebracho.

## 1. Introdução

Apocynaceae Juss., uma das maiores famílias de angiospermas, são predominantemente pantropical, com poucos representantes atingindo as regiões temperadas; inclui cerca de 400 gêneros e 5350 espécies (Endress et al., 2018). No Brasil está representada por 95 gêneros e 974 espécies, sendo 436 endêmicas (Flora e Funga do Brasil, 2023). Dentre as Apocynaceae, *Aspidosperma* Mart. & Zucc. é um dos gêneros mais representativos, é composto por árvores ou arvoretas conhecidas popularmente como perobas. O gênero distribui-se por toda a América tropical, desde o México até a Argentina, com exceção do Chile. É composto por 80 espécies das quais, 69, ocorrem no Brasil, nas diversas formações vegetais, principalmente, ambientes florestais, sendo, o Brasil, o centro de diversidade de *Aspidosperma* (Woodson, 1951; Marcondes-Ferreira, 1988; Pereira, 2007; Castello et al., 2020, 2022). As espécies estão distribuídas principalmente entre a região Norte (43 espécies) e Centro Oeste (30 espécies) (Machate et al., 2016, 2020; Castello et al., 2023).

Em geral, as espécies de *Aspidosperma* são, taxonomicamente, fáceis de reconhecer, no entanto, existem alguns complexos que apresentam grande variedade morfológica (Machate et al. 2016; Morales e Zamora, 2017; Pereira et al., 2019), o que pode causar ambiguidade na determinação de algumas espécies. Dentre esses casos, vale citar as espécies que compõem a *Aspidosperma* sect. *Pungentia* (Pichon) Mar.-Ferr. do subgênero *Aspidosperma* Mart. subgen. *Aspidosperma*, *A. triternatum* Rojas Acosta e *A. quebracho-blanco* Schltldl. (Marcondes-

Ferreira e Kinoshita, 1996). Essa secção é facilmente distinta das demais, mesmo em estado vegetativo, por agrupar espécies que possuem as folhas verticiladas e com ápices pungentes, únicas no gênero.

No entanto, *A. triternatum* e *A. quebracho-blanco* são de difícil distinção (Fig. 1), uma vez que ambas apresentam as inflorescências em dicásio, axilares ou terminais de cor branca a branco-amarelada e flores muito semelhantes entre si (Fig. 1) e com sobreposição morfológica (Machate et al., 2016). Essas características são tradicionalmente utilizadas, mas não são suficientes para uma clara circunscrição dessas espécies. Assim, é urgente o desenvolvimento de novos estudos para eleger outros caracteres que possam ser úteis no reconhecimento desses táxons.

*Aspidosperma triternatum* e *A. quebracho-blanco* são encontradas nas formações chaquenhas da Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai. No Brasil, ambas ocorrem no extremo oeste do Mato Grosso do Sul, *A. quebracho-blanco* também foi coletada no extremo sul do Rio Grande do Sul. São consideradas plantas bioindicadoras do Bioma Chaco (Moglia, 2012), portanto sua presença em território nacional corrobora a formação chaquenhas no Brasil (Souza e Suárez, 2021).

É importante ressaltar que o Chaco vem desaparecendo ao longo dos anos devido à ausência de políticas conservacionistas e a expansão do agronegócio no local (Souza e Suárez, 2021; Almirón et al., 2022). Além disso, *Aspidosperma quebracho-blanco* foi e segue sendo extensamente explorada para a extração de taninos (Souza e Suárez, 2021), apresenta baixa variabilidade genética, características que a convertem em vulnerável (Almirón et al., 2022).

De acordo com a literatura, verificou-se que estudos morfológicos e anatômicos envolvendo a estrutura foliar têm se mostrado úteis e contribuído para a delimitação de táxons em diferentes níveis hierárquicos em Apocynaceae (Simões et al., 2007; Livshultz et al., 2007; Endress et al., 2014; Espírito Santo et al., 2019; Varilla-Gonzales e Ruiz-Vega, 2020; de Moraes-Câmara et al., 2020, Machate et al., 2020; Farinaccio et al., 2021, Carvalho e Farinaccio, 2021). Estudos anatômicos foliares em *Aspidosperma*, demonstraram que estas características podem ser usadas no reconhecimento de suas espécies (Albuquerque, 1971; Isaias et al., 2000; Krentkowski e Duarte, 2012; Reis et al., 2013; Carvalho et al., 2017; Farinaccio et al., 2021). Assim sendo, nosso objetivo é desenvolver um estudo para buscar novos caracteres morfológicos e anatômicos foliares úteis na sistemática de *Aspidosperma* sect. *Pungentia*.

## 2. Material e métodos

### 2.1. *Material analisado*

Coletamos as folhas analisadas neste estudo nas populações naturais, envolvendo, praticamente, toda área de distribuição da *Aspidosperma* Sect. *Pungentia* e, posteriormente, identificamos todo o material. Foram selecionadas aleatoriamente uma a três folhas adultas dos 20 indivíduos amostrados de cada população. As informações sobre os materiais testemunho encontram-se sumarizadas na Tabela 1 e podem ser visualizadas no mapa apresentado na Figura 2.

### 2.2. *Procedimentos para análise morfológica*

#### *Arquitetura foliar*

Diafanizamos as folhas para observação do padrão de venação. Logo após a coleta, fixamos as folhas em Formalina Neutro Tamponada e os procedimentos seguiram a metodologia proposta por Strittmatter (1973) e modificada por Kraus e Arduin (1997).

Fizemos a imersão das amostras em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 5%; trocamos a solução de três a quatro vezes ao dia por um período de 60 dias, até que tivesse ocorrido a clarificação do material. Após esse tratamento, lavamos as amostras foram de 5 a 6 vezes em água destilada para a retirada total da solução de NaClO, e, em seguida colocamos em cloral hidratado a 5% por 5 a 10 minutos. Lavamos novamente as lâminas foliares em água destilada, e coramos em safranina 1% por 24 horas e desidratamos em álcool etílico a 50%, para posterior preparação de lâminas semipermanentes. Pingamos uma gota da solução aquosa de glicerina a 50% sobre uma lâmina de vidro, na sequência, colocamos o material corado sobre esta e em seguida cobrimos com uma lamínula e vedamos o conjunto com esmalte incolor.

Analizamos as lâminas foliares em microscópio fotomicroscópio Leika DMLB, acoplado ao sistema de captura de imagens Motik Images Plus 2.0. Também utilizamos um paquímetro digital Micrometer Mitutoyo para medir comprimento (mm), e largura (mm) e o transferidor para medir o ângulo em relação à nervura primária. Para descrição dos padrões de venação foliar seguimos a proposta de Hickey (1973). Obtivemos a documentação fotográfica por meio do fotomicroscópio Leika DMLB, acoplado ao sistema de captura de imagens Motik Images Plus 2.0.

#### *Análises de superfície foliar*

Utilizamos folhas coletadas e armazenadas em frascos hermeticamente fechados contendo sílica gel, portanto não foi necessário serem submetidas ao ponto crítico conforme proposta de Carvalho et al., (2017). Para remover a cera epicuticular nós submetemos as amostras a testes, mergulhando os fragmentos da folha por 10 segundos nas seguintes substâncias: (1) clorofórmio, (2) em hexano, (3) uma mistura desses dois (4) em clorofórmio aquecido por dois minutos e, (5) colocamos os fragmentos em recipiente contendo clorofórmio, e aquecemos este recipiente por 4 minutos (modificado de Cordeiro et al., 2011). Além das amostras tratadas, incluímos o material controle para observação, sem os tratamentos prévios. Montamos os fragmentos em suportes metálicos de latão (*stubs*), que foram metalizados em ouro, e observamos em microscópio eletrônico JEOL, modelo JSM-6380LV, 10 kV pertencente ao Laboratório Multiusuário de Análises de Materiais (MULTILAM) do CCET – INFI.

### *2.3 Procedimentos para a análise em microscopia de luz*

Logo após a coleta, fixamos as folhas em formalina neutra tamponada 50% (FNT) (Johansen, 1940), no laboratório, lavamos em água corrente, desidratamos em uma série etílica e conservamos em etanol 70% (Kraus e Arduim, 1997) e, posteriormente seccionamos as amostras.

Efetuamos secções transversais, no terço mediano da lâmina foliar (incluindo a porção intercostal, nervura principal, bordo e nervura mediana), com emprego de corte à mão livre com segmentos de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup>. Diafanizamos as amostras em hipoclorito de sódio 3%, neutralizamos em ácido acético, e coramos em azul de alcião 1% e fucsina básica ou safranina 1% em ácido tartárico (Kraus e Arduin, 1997) e montados em lâminas semipermanentes. Obtivemos os cortes permanentes a partir do material que fixamos em formalina neutra tamponada 50% (Johansen, 1940), desidratamos em série etanólica e armazenamos em etanol 70%. Após isso, cortamos as folhas de ambas espécies na porção mediana.

Mantivemos as amostras por 24h em estufa a 60 °C numa mistura de peróxido de hidrogênio e ácido acético 1:1 (Kraus e Arduin, 1997). Posteriormente, limpamos e coramos as epidermes em azul de alcião e safranina e as montamos em lâminas permanentes.

Para o emblocamento de cada folha, separamos cortes da porção mediana e em seguida os desidratamos totalmente, primeiramente em álcool e depois em série etanol-butílica (3:1, 1:1, 1:3, acetato de butila puro) conforme, Johansen (1940). Separamos os cortes de ambas as espécies em frascos de acordo com o local da coleta e os submergimos em parafina histológica

e acetato de butila 1:1. A cada 12 h, descartamos metade da solução e completamos os frascos com mais parafina até que todo o conteúdo do frasco fosse substituído por parafina. Logo após emblocamos o material em parafina e realizamos os cortes em micrótomo rotativo

Utilizamos adesivo de Bissing, posteriormente depositamos as lâminas em estufa à vácuo até que o adesivo secasse. Retiramos as lâminas da estufa e a removemos a parafina usando a série etanol-butílica (1:3, 1:1, 3:1 e etanol a 100%) 15 minutos em cada fase. Em seguida, reidratamos os cortes em série decrescente de álcool (100%, 90%, 80%, 70%, 60%, e 50%). Coramos as lâminas em azul de alcião e safranina alcoólicas. Novamente desidratamos em série crescente de álcool (50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) e série etanol-butílica (3:1, 1:1, 1:3 e acetato de butila puro). Montamos as em meio permanente por meio de Permount e depositamos em bandejas para esperar o tempo de secagem.

#### 2.4 Documentação fotográfica

Realizamos a documentação fotográfica com o fotomicroscópio Leika DMLB, acoplado ao sistema de captura de imagens Motik Images Plus 2.0 e realizamos a montagem das pranchas com o programa Adobe Photoshop CS6. As fotos em campo foram tomadas utilizando celular Motorola, moto g (60).

### 3. Resultados

#### 3.1 Arquitetura foliar – venação

Pela primeira vez é apresentada arquitetura das folhas das espécies de *Aspidosperma quebracho-blanco* e *A. triternatum* (Tabela 2) e representaram uma excelente contribuição na delimitação das espécies.

*Aspidosperma quebracho-blanco* (Fig. 3A) e *A. triternatum* (Fig. 3B), possuem diferenças significativas em suas lâminas foliares. Enquanto *A. quebracho-blanco* apresenta lâminas foliares com dimensões de 1,90-6,82 cm de comprimento e 0,29-1,32 cm de largura, *A. triternatum* tem lâminas foliares menores, variando de 1,28-5,48 cm de comprimento e 0,51-1,57 cm de largura. A venação em ambas as espécies é craspedódroma simples, com nervuras secundárias agudas que formam ângulos em relação à nervura primária.

Em *A. quebracho-blanco*, as nervuras secundárias formam 15-22 pares (Fig. 3C-D), sendo essas impressas, raramente salientes, reticuladas ortogonais com ângulo em relação à nervura primária de 8–35°, enquanto em *A. triternatum* (Fig. E-F), formam de 9-12 pares e são

salientes apresentam ângulo agudo, são reticuladas aleatórias, com ângulo em relação à nervura primária de 22–53°.

Há uma variação entre as distâncias das nervuras secundárias nas duas espécies, sendo de 0,06-0,19 cm na região proximal em *A. quebracho-blanco* e de 0,06-0,31 cm em *A. triternatum*. Na região mediana, a distância em *A. quebracho-blanco* é de 0,12-0,19 cm e em *A. triternatum* é de 0,36-0,57 cm. Já na região distal, *A. quebracho-blanco* apresenta distâncias de 0,12-0,31 cm e *A. triternatum* varia entre 0,15-0,57 cm.

Em ambas as espécies as nervuras terciárias são alternas, ramificando-se de 1-2 vezes, em *A. quebracho-blanco* (Fig. 3C) e, 3 vezes em *A. triternatum* (Fig. 3E). As duas espécies têm aréolas triangulares ou quadrangulares. Já as nervuras quaternárias apresentam diferenças nas duas espécies, em *A. quebracho-blanco* são impressas e bem desenvolvidas, conectando-se com as secundárias e formando uma aréola completa e compacta (Fig. 3C-D); em contraste, *A. triternatum* (Fig. 3E-F), apresenta nervuras quaternárias salientes e imperfeitas, formando uma rede incompleta e aréolas incompletas e dispersas.

### 3.2 Anatomia foliar

#### 3.2.1 Região intercostal

Em vista frontal, nota-se a presença de uma cutícula espessa em ambas as espécies, porém em *A. quebracho-blanco* esta cutícula é lisa (Fig. 4A) e em *A. triternatum* é longitudinalmente estriada (Fig. 4B). As paredes anticlinais de ambas espécies são espessas, retas a levemente curvas (Fig. 4C-E). Os estômatos estão distribuídos de maneira aleatória, são do tipo anomocíticos com anel periestomático (Fig. 4C-D) ocorrendo em ambas as faces de *A. quebracho-blanco* (Fig. 4C) e apenas na face abaxial de *A. triternatum* (Fig. 4D-E), em ambas as espécies as células epidérmicas imediatas aos estômatos formam um anel ao seu redor (Fig. 4C-D).

*Aspidosperma quebracho-blanco* e *Aspidosperma triternatum* apresentam diferenças na presença e tipo de tricomas. Em *A. quebracho-blanco*, os tricomas tectores são de dois tipos, sendo o primeiro com a base mais achatada e ornamentado pela cutícula que forma um padrão de linhas segmentadas em toda a extensão vertical dos tricomas (Fig. 4F), enquanto o segundo segue o padrão comum de tricomas tectores, sem ornamentações (Fig. 4G).

Eles estão presentes em toda face adaxial, em indivíduos de *A. quebracho-blanco* coletados no estado de Mato Grosso do Sul (Brasil), Formosa (Argentina) e Filadélfia (Paraguai), embora em menor quantidade neste último. No entanto, nos indivíduos coletados

no Rio Grande do Sul (Brasil), os tricomas não foram observados, e na face abaxial, eles estão presentes apenas no material coletado em Formosa. Por outro lado, em *A. triternatum*, os tricomas tectores seguem o padrão comum de tricomas tectores, sem ornamentações (Fig. 4H), e estão presentes apenas na face adaxial do indivíduo coletado em Porto Murтинho, Mato Grosso do Sul.

### 3.2.2 Epiderme em corte transversal

Em ambas as espécies, a epiderme é uniestratificada quando observada em secção transversal. No entanto, existem diferenças notáveis entre as duas espécies. Em *A. quebracho-blanco*, as células da epiderme são retangulares ou quadradas com uma cutícula espessa que forma flanges (Fig. 5A-B), enquanto que em *A. triternatum* elas têm forma arredondada e a cutícula não forma flanges (Fig. 5C-D).

Nas duas espécies, há uma cera lisa acima da cutícula. Os estômatos em ambas as espécies estão ligeiramente acima da epiderme, mas em *A. quebracho-blanco* a cutícula forma uma crista estomática (Fig. 5B - asterisco). Abaixo dos estômatos, em ambas as espécies, há uma câmara subestomática com um espaço amplo (Fig. 5B-C). Os tricomas são escassos em *A. quebracho-blanco* (Fig. 5E) e, embora tenham sido observados em outros planos em *A. triternatum*, neste plano eles não foram encontrados.

### Mesofilo

As secções transversais do mesofilo foliar mostram que ele apresenta uma estrutura isobilateral em ambas as espécies analisadas (Fig. 6A-B) sendo que o parênquima paliçádico tem mais camadas na porção superior da folha do que na inferior. Em *A. quebracho-blanco*, essas camadas podem variar de 2 a 7 células (Fig. 6A) retangulares, enquanto em *A. triternatum* variam de 2 a 4 células, que são retangulares, com paredes retas e espessas (Fig. 6B). Dentro dessas células, há uma pequena quantidade de cloroplastos e, em *A. quebracho-blanco*, numerosos cristais podem ser encontrados nas células do parênquima paliçádico (Fig. 6C), embora sejam menos frequentes em *A. triternatum*. Nesta espécie a quantidade de cristais é aparentemente maior no parênquima lacunoso formado por 2 a 5 camadas de células (Fig. 6D). Entre as células do parênquima paliçádico, logo abaixo da epiderme, estão os idioblastos escleroidais, que têm forma alongada e paredes lignificadas em *A. quebracho-blanco* (Fig. 6E) contrapondo *A. triternatum*, cujo a maioria desses idioblastos não estão lignificados (Fig. 6F). Em *A. quebracho-blanco* entre as células do parênquima paliçádico superior e inferior, observa-

se entre 2 e 6 camadas de células bem organizadas, com paredes finas, aclorofiladas ou contendo escassos cloroplastos essas camadas são identificadas como um parênquima aquífero (Fig. 6A).

#### *Sistema Vascular*

O sistema vascular é composto por feixes vasculares bicolaterais, na região intercostal os feixes possuem o floema adaxial menos desenvolvido (Fig. 7A-B). Os feixes vasculares estão circundados por uma calota de fibras lignificadas (Fig. 7A-B).

#### *3.2.3 Nervura principal*

Em vista frontal, a epiderme apresenta células com paredes anticlinais espessas, semelhantes às da região intercostal (Fig. 8A-D). Neste plano de observação não foram encontrados estômatos tampouco tricomas em ambas as faces em *A. quebracho-blanco* enquanto (Fig. 8A-B) que em *A. triternatum* os tricomas estão presentes na face adaxial (Fig. 8C) na face abaxial os tricomas estão ausentes (Fig. 8D).

Secções transversais da nervura principal revelam que a epiderme é uniestratificada com células com um padrão de formato retangular ou quadrado em *A. quebracho-blanco* (Fig. 8E-F) enquanto que em *A. triternatum* elas formam um padrão arredondado (Fig. 8G-H), em ambas a epiderme é revestida por uma cutícula espessa e com o depósito de uma cera lisa (Fig. 8E-H).

#### *Região cortical*

Em *A. quebracho-blanco*, foram observadas células globosas, com paredes espessas e maior tamanho que as células do parênquima aquífero (Fig. 8E-F). Três camadas de células foram observadas na porção orientada a face adaxial (Fig. 8E), e quatro camadas de células na face abaxial (Fig. 8F).

Em *A. triternatum*, foi observada apenas uma a duas camadas de células na face adaxial (Fig. 8G), enquanto que na face abaxial são duas camadas de células com paredes espessas e de tamanho igual ou menor que as células do parênquima lacunoso (Fig. 8H). Em ambas as espécies, as células corticais estão presentes apenas na porção central-apical do feixe vascular.

#### *Sistema vascular*

É composto por feixes vasculares bicolaterais, os feixes vasculares estão circundados por uma calota de fibras (Fig. 9A-B), que formam cinco capas ao redor deste na porção

orientada a face adaxial e dez capas na região orientada a face abaxial em *A. quebracho-blanco* (Fig. 9A) enquanto que em *A. triternatum* formam cinco capas ao redor deste na porção orientada a face adaxial e nove capas na porção orientada a face abaxial (Fig. 9B). Dentro do feixe vascular, foram observados laticíferos dispersos (Fig. 9A-B). Os feixes vasculares ocorrem em todo o limbo foliar, apresentando apenas um feixe vascular principal.

#### 3.2.4 Bordo

O bordo (Fig. 9C-D) apresenta células epidérmicas pequenas e arredondadas. As células parenquimáticas estão representadas por uma capa, e são mais arredondadas. Neste também, há um pequeno feixe circundado por fibras lignificadas (Fig. 9C-D).

## 4. Discussão

### 4.1. Análise anatômica e morfológica

#### Arquitetura foliar

A utilização da arquitetura foliar, como ferramenta taxonômica é inédita em *Aspidosperma* Sect. *Pungentia* e revelou-se bastante significativa neste estudo, a venação das folhas é, sabidamente, um carácter fixado e determinado geneticamente e pouco afetado pelas características ambientais (Scarpella et al, 2010; Sawchuk et al, 2013; Baylis et al, 2013; Pahari et al, 2014), formando assim, um conjunto seguro de características, quando a intenção é colaborar com a circunscrição de um grupo.

O padrão de venação principal descrito para a família está em conformidade com o tipo camptódromo pinado com secundários broquidódromos festonados (Mohan & Inamdar, 1982), porém encontramos um padrão distinto para as espécies alvo deste trabalho. No trabalho de Ferraroto (1998), também foi observado que características arquitetônicas relacionadas a venação marginal podem diferenciar espécies de *Amaranthus* L., demonstrando que a arquitetura foliar se mostra útil quando apresenta características que permitem diferenciar espécies de um mesmo gênero.

Em estudos sobre características importantes que permitem a distinção de espécies de ambientes tropicais, Roth (1996) apresenta que a relação entre a nervura principal e a quantidade de nervuras secundárias que partem desta, estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento da folha, ou seja, folhas com mais nervuras secundárias apresentariam um padrão de crescimento longitudinal e de largura superiores a àquelas que possuem menos

nervuras secundárias, o que foi corroborado em nossos resultados, já que *A. quebracho-blanco* possui folhas com comprimento e largura maiores que *A. triternatum*.

Krentkowski e Duarte (2012), na descrição parcial da arquitetura foliar de *Aspidosperma olivaceum* Müll.Arg. e *A. polyneuron* Müll.Arg. encontraram que as nervuras destas espécies são camptódromas, assim como o padrão descrito para as nervuras de *Aspidosperma flaviflorum* Machate (Machate et al., 2020), mas diferentes do padrão encontrado em *Aspidosperma triternatum* e *A. quebracho blanco*, já que são caspedódromas assim como, *Aspidosperma compactinervium* Kuhl. (Quinet e Andreatta, 2005).

Ainda de acordo com os autores supracitados, os ângulos da nervura secundárias em relação as primárias são distintos para *A. compactinervium*, *A. parvifolium* A.DC. e *A. pyricollum* Müll.Arg., que possuem ângulos de 40° a 70°, muito mais abertos do que encontramos nas espécies aqui estudadas, que possuem ângulos mais fechados 8° a 35° em *A. quebracho-blanco* e 22° a 53° em *A. triternatum*; de acordo a Machate et al., (2020), *A. flaviflorum* também apresenta uma amplitude muito maior nos ângulos 37° a 86°. Machate et al. (2020) encontraram um padrão impresso nas nervuras secundárias de *A. flaviflorum*, padrão este que coincide com o encontrado nas nervuras secundárias de *A. quebracho-blanco*, além disso, o padrão de ramificação das nervuras terciárias, predominantemente alterno é o mesmo que encontramos neste trabalho. Com relação as aréolas, Machate et al. (2020), encontram um padrão bem desenvolvido, o mesmo que encontramos em *A. quebracho-blanco*, porém distinto de *A. triternatum*, uma informação de alto valor diagnóstico no reconhecimento das espécies que estudamos, conforme apontado por Roth (1996).

#### *Anatomia foliar*

A presença de cera lisa em Apocynaceae também foi detectada por Carvalho et al., (2017) em estudos com o gênero *Araujia* Brot. Cordeiro et al. (2011), com objetivo de estudar a composição química da cera epicuticular de duas espécies *Mandevilla* Lindley, revelaram que as espécies apresentam perfis químicos quantitativos das ceras epicuticulares e sugere que essa informação também poderia ser usada como uma característica adicional na identificação taxonômica. Arambarri et al. (2012) trabalhou com espécies de diferentes famílias que ocorrem no Chaco Oriental Argentino, incluindo *A. quebracho-blanco*, o seu resultado concorda com o nosso, especialmente, pela presença cera epicuticular lisa. Assim, ficou evidente que se trata de uma característica comum em gêneros de Apocynaceae.

Rosati (1991) em seu trabalho sobre plantas do Chaco ocidental, descreve a cutícula de

*A. quebracho-blanco* como finamente granulada e a de *A. triternatum* com estrias longitudinais, embora, nas ilustrações que acompanham a publicação, a ornamentação da cutícula não é apresentada. Neste estudo, verificou-se que *A. quebracho-blanco* apresenta uma cutícula lisa, discordando do trabalho de Rosati (1991), porém concordamos com a descrição de estrias longitudinais em *A. triternatum*, além disso complementamos a descrição ilustrando o padrão encontrado nessas duas espécies.

A presença de epiderme unisseriada é um caráter comum em espécies de *Aspidosperma*, por exemplo: *A. australe* Müll.Arg. e *A. cylindrocarpon* Müll.Arg. (Isaias et al., 2000), *A. carapanauba* Pichon, *A. desmanthum* Müll.Arg., *A. excelsum* Benth e *A. spruceanum* Benth. ex Müll.Arg. (Reis et al., 2013), *A. oblongum* A.DC. (Albuquerque, 1971), porém, muitos destes autores, inclusive (Metcalf e Chalk, 1950; Solereder, 1908), citam uma epiderme papilosa, principalmente na face abaxial em Apocynaceae, porém, nas espécies estudadas, embora também apresentem a epiderme unisseriada, não possuem papilas no limbo foliar.

Os autores, acima citados, descrevem as papilas com uma possível função retentora de água em plantas de ambientes tropicais. Ainda que as papilas não estejam presentes nas espécies estudadas, outras estruturas encontradas, como a cutícula espessa e a cera cuticular podem ajudar na regulação hídrica foliar (Fahn e Cutler, 1992).

Neste estudo, apontamos, pela primeira vez uma diferença na forma das células epidérmicas, já que não foi mencionado nos trabalhos de Metcalf e Chalk (1979), Albuquerque (1971), Quinnet e Andreatta (2005), Krentksolski e Duarte (2012), Reis et al. (2013), Isaias et al., (2020) alguma análise das formas epidérmicas das células de espécies de Apocynaceae.

Os estômatos anomocíticos encontrados em *A. quebracho-blanco* e *A. triternatum* também foram citados nos estudos de Albuquerque (1971), Reis et al. (2013), Isaias et al. (2000) e por Metcalf e Chalk (1979), porém, nós detectamos que *A. quebracho-blanco* apresenta uma característica, ainda não mencionada em nenhum trabalho, que é uma pequena cripta formada pela cutícula. A cripta é descrita para algumas espécies que ocorrem em ambientes xéricos, como os que espécies aqui estudadas ocorrem, essa característica aparentemente confere proteção para o estômato (Fahn e Cutler, 1992; Jordan et al., 2008).

Somando-se a isso, os estômatos de *A. quebracho-blanco* e *A. triternatum* possuem um anel periestomático, que se define como uma borda cuticular ao redor do estômato, também é uma adaptação a ambientes secos e com alta luminosidade (Arambarri et al., 2010, 2012). Este anel, já havia sido descrito para *A. quebracho-blanco*, porém é descrito pela primeira vez para *A. triternatum*. Abaixo dos estômatos a câmara subestomática ocupa um espaço amplo em

ambas as espécies, amplos espaços na câmara estomáticas indicam um gradiente maior para a difusão entre a folha e o meio, possibilitando um baixo índice de transpiração (Fahn e Cutler, 1992).

Com relação a posição dos estômatos, *A. quebracho-blanco* é anfiestomática e *A. triternatum* hipoestomática, característica já descrita e utilizada como diagnóstica por Rosati (1991). Concordamos com a importância dessa característica, já que os indivíduos de todas as populações estudadas mantêm o mesmo padrão. De acordo com ambiente ocupado pelas plantas, a presença de estômatos pode variar, as folhas podem apresentar, em uma, ou ambas as faces; plantas de ambientes mesomórficos, entre outras características, tendem a apresentar folhas hipoestomáticas e, plantas de ambientes xéricos, folhas anfiestomáticas, nestas últimas devido à grande eficiência fisiológica que apresentam, podendo assim aproveitar ao máximo a disponibilidade de radiação solar (Menezes et al., 2003).

Em nosso estudo, ambas as espécies ocorrem no mesmo bioma, porém, devido as características predominantemente xéricas, associadas ao Chaco, sugerimos que a distribuição dos estômatos possui um valor taxonômico muito relevante. Nas coletas realizadas no Paraguai, foi possível observar que as populações de *A. quebracho-blanco* ocorrem em ambientes mais secos que as populações de *A. triternatum*. Sendo assim, a distribuição dos estômatos na lâmina foliar corresponde ao esperado, plantas com maior acesso a água, como *A. triternatum*, têm estômatos somente em uma das faces, já aquelas com menor acesso a água, como *A. quebracho-blanco*, têm estômatos em ambas as faces (Menezes et al., 2003). Ainda que ambas ocorram no Chaco, o microclima mais úmido faz de *A. triternatum* mais adaptada a um ambiente mesolítico e *A. quebracho-blanco* mais xerofítico.

Outros resultados também estão em concordância com os estudos de Menezes et al. (2003, por exemplo, estudos de Isaias et al. (2000), Arambarri et al. (2008), Krentkowski e Duarte (2012) e Reis et al. (2013) mostraram que oito espécies de *Aspidosperma* são hipoestomáticas, ou seja, apresentam estômatos somente na face abaxial das folhas. Isaias et al. (2000) estudaram plantas em uma área de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, enquanto Arambarri et al. (2008) realizaram coletas na região da "Selva Misionera", na província biogeográfica Paranaense da Argentina, que apresenta características mesomórficas. Krentkowski e Duarte (2012), por sua vez, coletaram plantas em Curitiba - PR, onde o bioma predominante é a Mata Atlântica, também com características mesomórficas.

A anatomia foliar de todo o gênero é muito pouco conhecida, porém, com a informação até agora divulgada, somada a nossa, podemos encontrar um padrão na distribuição dos

estômatos em espécies de *Aspidosperma*, sendo o padrão hipoestomático o mais comum, o mesmo que encontramos em *A. triternatum*.

É certo que a classificação dos tricomas pode colaborar na diferenciação ou caracterização de algumas espécies (Metcalf e Chalk, 1979), em nossos estudos, *A. quebracho-blanco* possui dois tipos de tricomas, enquanto *A. triternatum* apenas um. Ambas espécies possuem apenas tricomas tectores, contudo *A. quebracho-blanco* apresenta um segundo tipo de tricoma, ele tem a base e a região mediana mais achatados, em comparação ao ápice e apresenta ornamentações em toda sua extensão. A densidade dos tricomas também apresenta importância na redução da temperatura foliar, absorção da radiação, como o padrão encontrado em *A. quebracho-blanco* ou seja, uma espécie que tem melhor regulação da evapotranspiração (Fahn e Cutler, 1992).

O mesofilo em ambas as espécies é isobilateral, o que já foi constatado por Metcalf e Chalk (1950) para *A. quebracho-blanco*. Neste trabalho, apresentamos, pela primeira vez, a anatomia do mesofilo de *Aspidosperma triternatum*. Segundo esses mesmos autores, as folhas de Apocynaceae, quando maduras, apresentam duas ou três camadas de parênquima paliçádico, em nosso estudo encontramos até quatro em *A. triternatum* e até sete capas em *A. quebracho-blanco*, somado a isso, pela grande quantidade de cloroplastos, pode-se inferir a que a capacidade fotossintética dessas plantas é elevada. Ainda que, a quantidade de camadas de parênquima paliçádico esteja associada a idade (Metcalf e Chalk, 1950), as folhas analisadas são todas adultas e apresentam uma grande diferença, no que se refere a quantidade de capas que compõem o parênquima paliçádico.

O parênquima lacunoso, que está presente em *A. triternatum* ocupa um bom espaço na porção central do limbo foliar e, assim como, no parênquima paliçádico há uma grande quantidade de cloroplastos. Uma característica que nos chamou a atenção, foi o parênquima presente na porção central de *A. quebracho-blanco*, este sem cloroplastos, sendo então, classificado neste estudo como parênquima aquífero. Esse tipo de parênquima é descrito para plantas suculentas, ele auxilia no armazenamento de água, característica de plantas xerófitas, ressaltamos que o parênquima aquífero é descrito aqui pela primeira vez para uma espécie do gênero *Aspidospema*.

Os cristais de oxalato de cálcio são comuns em todas as Apocynaceae, sendo relatados em diversos trabalhos com espécies de outros gêneros (Metcalf e Chalk, 1950; Adeniran, et al., 2022; Fjell, 1983), assim como nas espécies de *Aspidosperma* (Kataoka et al., 2019; Krentkowski e Duarte, 2012). Em nosso estudo, no mesofilo encontramos cristais do tipo drusa

e prismáticos, sendo que *A. quebracho-blanco* apresentou muitos cristais no parênquima paliçádico e *A. triternatum* apresentou alguns. Essa característica é muito notável, já que nas análises em microscópio com luz polarizada, a quantidade de cristais em *A. quebracho-blanco* sempre foi superior que ao encontrado em *A. triternatum*, somando a isso, essa espécie é facilmente distinta por apresentar cristais distribuídos nas últimas capas de parênquima paliçádico e, em maior quantidade, no parênquima lacunoso; enquanto que, em *A. quebracho-blanco*, os cristais estão presentes, principalmente nas células do parênquima paliçádico.

Angyallosy (2005), observa que, quanto mais seco o ambiente no qual uma espécie se desenvolve, mais cristais irá formar, principalmente se esta espécie for lenhosa. A presença de cristais de oxalato de cálcio pode indicar diversos fatores metabólicos, defensivos ou estruturais, ou seja, a planta pode formá-los como uma estratégia para acumular um excesso de sais do solo, para proteger-se da herbivoria ou até mesmo manter a estrutura do órgão (Franceschi e Horner, 1980). Segundo alguns autores (e.g. Genua e Hillson, 1985; Prychid e Rudall, 1999; Lersten e Horner 2000; Ilarsan et al., 2001), a produção de cristais e a localização destes é determinada pela expressão gênica, podendo então, auxiliar na delimitação taxonômica de alguns grupos, ou seja, nossos resultados são valiosos, já que podem contribuir com a delimitação dessas duas espécies.

*Aspidosperma quebracho-blanco* e *A. triternatum* apresentam idioblastos e em todo o mesofilo, além dos cristais. Em *A. quebracho-blanco*, alguns destes estão lignificados, neste caso, identificados como idioblastos escleroidais, que já foram citados e descritos por Metcalfe e Chalk (1950), porém em outros grupos eles aparecem ao redor de elementos vasculares, no geral, idioblastos lignificados, ou não, são comuns em Apocynaceae. No entanto, Arambarri, et al., (2008) descreve idioblastos escleroidais em *A. polyneuron* Müll.Arg. como uma possível adaptação de árvores expostas a extrema radiação solar. Em *A. triternatum* não foram observados idioblastos escleroidais, porém, assim como em *A. quebracho-blanco*, outros idioblastos ocupam um grande espaço no parênquima paliçádico.

O sistema vascular de ambas as espécies possui uma configuração bicolateral, uma característica típica da família Apocynaceae (Metcalfe e Chalk, 1950) e, também mencionada em outras espécies de *Aspidosperma* por outros autores (e.g. Albuquerque, 1971; Arambarri et al., 2008; Reis et al., 2013;). O mais interessante nestes feixes vasculares é a expressiva quantidade de capas de fibras lignificadas que os circundam, característica comumente encontrada em plantas xerófitas (Menezes et al., 2003), em nossas observações, a quantidade de capas destas fibras é superior em *A. quebracho-blanco*. Os feixes vasculares, apesar de terem

calibres diferentes, seja no mesofilo ou na nervura principal, sempre apresentam a mesma configuração, independente do calibre.

Com relação aos feixes vasculares, a quantidade de células corticais não é citada na literatura como um fator determinante na ecologia ou taxonomia de espécies vegetais. Embora nossos estudos tenham identificado uma diferença quantitativa dessas células, que apresentam valores, sempre superiores, em *A. quebracho-blanco*, não podemos apresentar uma discussão sobre estes valores, a não ser, comparar com os outros resultados apresentados na literatura que demonstram que o mesofilo de *A. quebracho-blanco* possui mais tecidos vegetais que no mesofilo de *A. triternatum*.

Como citado, anteriormente, a presença de tricomas está associada, muitas das vezes, a características ambientais, porém, observamos que o padrão de distribuição de tricomas na epiderme da nervura principal se manteve em todas as amostras estudadas, podendo assim, fornecer uma característica de valor taxonômico, distintiva entre as espécies.

Na nervura principal de ambas as espécies, também estão presentes os laticíferos, estruturas comuns na família (Metcalf e Chalk, 1979). Farrell, et al., (2021) destaca a importância dos laticíferos em Apocynaceae, pois proporcionam defesas contra os insetos. Os laticíferos de espécies de *Aspidosperma* já foram estudados por (Metcalf e Chalk, 1979) que foram classificados como não articulados, no entanto, Demarco et al. (2006), analisando os laticíferos de *A. australe* Müll.Arg. os classificaram como articulados anastomosados, nesse estudo foi ressaltado a importância de análise ontogenética para a correta descrição. Laticíferos articulados anastomosados, também foram documentados em *Rhabdadenia* Müll.Arg., gênero de Apocynaceae por (Pirolla-Souza et al., 2019). Pelas nossas observações, concordamos com a descrição de laticíferos de Demarco et al. (2006) e Pirolla-Souza et al. (2019), contudo, existe a necessidade de estudos mais profundos .

Embora nos estudos de Pirolla et al., (2019), o contorno do bordo tenha sido importante na melhor circunscrição de *Rhabdadenia*, em *A. quebracho-blanco* e *A. triternatum* o bordo de ambas é muito semelhante, caracterizando assim, de maneira mais geral *Aspidosperma* sect. *Pungentia*.

Analisando as características gerais relacionadas a espessura, quantidade de células ou capas de células dos tecidos vegetais, destacamos que, *A. quebracho-blanco* possui valores mais elevados que em *A. triternatum*. Em geral, as espécies apresentam diferenças no padrão de crescimento, sendo que *A. quebracho-blanco* por chegar a 15 metros de altura, enquanto *A.*

*triternatum* 8 metros de altura (Machate et al., 2016). Desse modo, podemos inferir, que o fator relacionado ao padrão de crescimento das duas espécies, também é refletido nos tecidos foliares.

Devido as adaptações anatômicas relacionadas ao ambiente no qual as duas espécies estudadas ocorrem, o Bioma Chaco, neste estudo, encontramos várias características que proporcionaram um conteúdo para uma discussão ecológica e adaptativa; porém, também apresentamos características que permitiram ampliar a circunscrição de *Aspidosperma* sect. *Pungentia*, a descrição de novos caracteres morfológicos e anatômicos, diagnósticos e que são muito úteis e, nos possibilitaram apresentar uma chave de identificação das espécies com vistas a contribuir com a sua identificação.

### **Tratamento Taxonômico**

*Aspidosperma* section *Pungentia* (Pichon) Marc.-Ferr., Revista Brasil. Bot. 19: 203–214. 1996.  
*Aspidosperma* ser. *Pungentia* Pichon. Bull. Mus. Natl. Hist. Nat. 19: 368. 1947. Tipo:  
*Aspidosperma quebracho-blanco* Schltldl.

Árvores ou arbustos, de córtex macio ou áspero, grosso ou delgado; ramos sem lenticelas; gemas protegidas por catafilos. Folhas verticiladas, ápice da lâmina foliar espinescente, epiderme unisseriada, estômatos anomocíticos com anel periestomático, mesofilo isolateral, feixe biclateral. Inflorescência cimeira dicasial, axilar e terminal, lóbulos da corola refletidos na antese. Folículos biconvexos e elípticos, com nervuras.

Espécies estudadas: *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltldl. e *A. triternatum* Rojas Acosta (Tabela 1).

### **Chave de identificação para as espécies de *Aspidosperma* Sect. *Pungentia***

1. 15–22 pares de nervuras secundarias reticuladas ortogonais; 0,12–0,19 cm de distância entre a nervura secundária e a porção mediana; nervuras terciarias ramificando de 1–2 vezes; nervuras quaternárias bem desenvolvidas e impressas com aréola completa e compacta; células epidérmicas retangulares ou quadradas com cutícula lisa e flange cuticular, cripta estomática; tricomas achatados com ornamentações; anfiestomática; mesofilo com parênquima aquífero; muitos cristais no mesofilo e idioblastos escleroidais; 3 camadas de células na região cortical da face adaxial, 4 na face abaxial.....*Aspidosperma quebracho-blanco*

1'. 9–12 pares de nervuras secundárias reticuladas aleatórias; 0,36–0,57 cm de distância entre a nervura secundária e a porção mediana; nervuras terciárias ramificando 3 vezes; nervuras quaternárias imperfeitas e salientes com aréola incompleta e dispersa; células epidérmicas arredondadas com cutícula estriada sem flange cuticular, cripta estomática ausente; tricomas achatados sem ornamentações; hipoestomáticas; mesofilo com parênquima lacunoso; poucos cristais no mesofilo, idioblastos escleroidais ausentes; 1–2 camadas de células na região cortical face adaxial, 2 na face abaxial.....*Aspidosperma triternatum*

## 5. Conclusão

Dentre as características morfológicas e anatômicas mais reveladoras para a taxonomia e, portanto, para o reconhecimento das espécies estão no número e distância das nervuras secundárias, organização da cutícula, distribuição dos estômatos, forma das células epidérmicas e tipos diferenciados de tricomas tectores.

Evidenciamos também a presença de características adaptativas ao Bioma Chaco, conhecidas como xeromórficas e destacamos, a espessura da cutícula, a presença de idioblastos escleroidais, cristais de oxalato de cálcio e as estruturas vasculares circundadas por fibras lignificadas, entre outras características apresentadas neste estudo.

## 6. Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC. Os autores agradecem ao Laboratório de Botânica da UFMS e ao Laboratório Multiusuário de Análises de Materiais (MULTILAM) do CCET pelo apoio e facilidades oferecidas. MAF agradece à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), pelos recursos concedidos (Edital 05/2013, Processo 23/ 200.614/2014). SGB agradece a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) pela oportunidade de cursar o Mestrado em Biologia Vegetal da UFMS.

## 7. Referências

- Adeniran, A.A., E., Adeyanju, Nneka, O.K., 2022. Anatomical characterization and physicochemical standardization of *Gongronema latifolium* Benth. (Apocynaceae). JPB. 19, 16–23.
- Albuquerque, B.W., 1971. Contribuição ao conhecimento das *Aspidosperma* da Amazônia Brasileira (Apocynaceae). *Aspidosperma carapanauba* Pichon, *A. marcgravianum* Woodson e *A. oblongum*. Acta Amaz. 1, 9–20.
- Almirón, N.E., do Pico, G.M.V., Cosacov, A., Paredes, E.N., Dobladez, G.A.R., Neffa, V.G.S., 2022. The geography of *Aspidosperma quebracho-blanco* vulnerability, an emblematic species of the South American Gran Chaco. For. Ecol. Manag. 523, 120503.
- Angyalossy, V., Amano, E.; Alves, E.S., 2005. Madeiras utilizadas na fabricação de arcos para instrumentos de corda: aspectos anatômicos. Acta bot. bras. 19, 819–834.
- Arambarri, A., Monti, C., Bayón, N., Hernández, M., Novoa, M.C., Colares, M., 2012. Ecoanatomía foliar de arbustos y árboles del distrito chaqueño oriental de la Argentina. Bonplandia, 5–26.
- Arambarri, A.M., Freire, S.E., Bayón, N.D., Colares, M.N., Monti, C., Novoa, M.C., Hernández, M.P., 2010. Micrografía foliar de arbustos y pequeños árboles medicinales de la Provincia Biogeográfica de las Yungas (Argentina). Kurtziana. 35, 15–45.
- Arambarri, A.M., Freire, S.E., Colares, M.N., Bayón, N.D., Novoa, M.C., Monti, C., Stenglein, S.A., 2008. Leaf anatomy of medicinal shrubs and trees from Misiones forest of the Paranaense Province (Argentina): Part 2. Bol Soc Argent Bot. 43, 31–60.
- Brown, A.D., Grau, H.R., 1995. La Región del Espinal. En H. R. Grau (Ed.), Ecología de los bosques nativos de Argentina. Programa de Investigación sobre Bosques Nativos, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. 325-358.
- Carvalho, R., Farinaccio, M.A., 2021. Chaco: centro de diversidade de *Araujia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae), in: Sartori, A.L.B., Souza, P.R., Arruda, R.C.O. (Eds), Chaco: caracterização, riqueza, diversidade, recursos e interações. Ed. UFMS., pp. 127–141.
- Carvalho, R., Pellissari, L.C.O., Pace, M.R., Scremin-Dias, E., Arruda, R.C.O., Farinaccio, M.A., 2017. Leaf morphoanatomy of *Araujia* and *Morrenia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae): phylogenetic implications and species key. Bot. J. Linn. Soc. 183, 280–293.
- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.D.S., Shimizu, G.H., Zuntini, A.R., Simões, A.O., Koch, I., 2022. Taxonomy and nomenclature of *Aspidosperma* (Apocynaceae). Phytotaxa, 571, 239–277.

- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.S., Simões, A.O., Koch, I. *Aspidosperma* in: Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4520> (acesso em 27 de fevereiro de 2023).
- Cordeiro, S.Z., Simas, N.K., de Oliveira Arruda, R.D.C., Sato, A., 2011. Composition of epicuticular wax layer of two species of *Mandevilla* (Apocynoideae, Apocynaceae) from Rio de Janeiro, Brazil. *Biochem. Syst. Ecol.* 39, 198–202.
- de Moraes Câmara, A.R., Vilarinho, M.P., Araújo, J.S., 2020. Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia do gênero *Camarea* St.-Hil (Malpighiaceae). *Research, Society and Development.* 9, 1–29.
- Demarco, D., Kinoshita, L.S., Castro, M.M.De., 2006. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. *Rev Bras de Bot.* 29, 133–144.
- Endress, M.E., Liede-Schumann, S., Meve, U., 2014. An updated classification for Apocynaceae. *Phytotaxa.* 159, 175–194.
- Endress, M.E., Meve, U., Middleton, D.J., Liede-Schumann, S., 2018. Apocynaceae. in: Kadereit J.W., Bittrich, V. (Eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants*. Springer, Berlin, pp. 207–411.
- Espírito Santo, F.S., Rapini, A., Ribeiro, Liede-Schumann, P.L.S., Goyder, D.J., Fontella-Pereira, J., 2019., Phylogeny of the tribe Marsdenieae (Apocynaceae), reinstatement of *Ruehssia* and the taxonomic treatment of the genus in Brazil. *Kew Bull.* 2, 1–79.
- Fahn, A., Cutler, D.F., 1992. *Xerophytes*. Berlin: Gebüder Borntraeger.
- Farinaccio, M.A., Urquiza, M.V.S., Machate, D.J., Braga, J.M.F., de Araújo, C., Batista, S.G., Arruda, R.C.O., 2021. Wood of Sections *Aspidosperma* and *Pungentia* (*Aspidosperma*, Apocynaceae) from Mato Grosso do Sul state, Brazil: Taxonomic Implications. *Syst. Bot.* 46, 175–185.
- Farrell, B.D., Dussourd, D.E., Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? *Am. Nat.* 138, 881–900.
- Fjell, I. (1983). Anatomy of the xeromorphic leaves of *Allamanda neriifolia*, *Thevetia peruviana* and *Vinca minor* (Apocynaceae). *Nord. J. Bot.* 3, 383–392.
- Flora e Funga do Brasil. Apocynaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB48>. (acesso em 04 de fevereiro de 2023).
- Franceschi, V.R., Horner, H.T., 1980. Calcium Oxalate Crystals in Plants. *Botanical Review.* 4, 361–427.

- Fritzsons, E., Mantovani, L. E., Wrege, M.S., 2017. Os Biomas E O Clima Das Capitais Do Brasil.
- Genua, J.M., Hillson, C.J., 1985. The occurrence, type and location of calcium oxalate crystals in the leaves of fourteen species of Araceae. *Ann Bot.* 56. 351–361.
- Hickey, L.J., 1973. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *American journal of botany.* *Am J. Bot.* 60, 17-33.
- Ilarslan, H., Palmer, R.G., Horner, H.T., 2001. Calcium oxalate crystals in developing seeds of soybean. *Ann Bot.* 88, 243–257.
- Isaias, R.M.D.S., Soares, G.L.G., Christiano, J.D.C.S., Gonçalves, S.J.D.M., 2012. Análise comparativa entre as defesas mecânicas e químicas de *Aspidosperma australe* Müell. Arg. e *Aspidosperma cylindrocarpon* Müell. Arg. (Apocynaceae) contra herbívoros. *Floresta e Ambiente.* 7, 19–30.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company, Inc.
- Jordan, G.J., Weston, P.H., Carpenter, R.J., Dillon, R. A., Brodribb, T.J., 2008. The evolutionary relations of sunken, covered, and encrypted stomata to dry habitats in Proteaceae. *Am. J. Bot.* 95, 521–530.
- Kataoka, E.Y., Alves, D.M., Koch, I., Souto, L.S., 2019. Are there buds in the roots of *Aspidosperma* spp. (Apocynaceae)? A comparative morphoanatomical study of underground organs. *Flora.* 256, 92–99.
- Kraus, J.E., Arduin, M., 1997. *Manual básico de métodos de morfologia vegetal*. Rio de Janeiro, Editora Universidade Rural.
- Krentkowski, F.L., Duarte, M.D.R., 2012. Morpho-anatomical analysis of *Aspidosperma olivaceum* and *A. polyneuron*, Apocynaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 22, 937–945.
- Lersten, N.R., Horner, H.T., 2006. Crystal macropattern development in *Prunus serotina* (Rosaceae, Prunoideae) leaves. *Ann Bot* 97, 723–729.
- Lima, M.P.D.S., Soares, A., Sousa, J.L.R.D., Carvalho, M.S., Porto, J.M.P., Braga, F.T., 2018. Leaf architecture of Rubiaceae Juss. from caatinga vegetation in Brazil. *Biota Neotropica*, 19, e20170473.
- Livshultz, T., Middleton, D.J., Endress, M.E., Williams, J.K., 2007. Phylogeny of Apocynoideae and the Apsa clade (Apocynaceae s.l.). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 94, 324–359.
- Machate, D.J., Alves, F.M., Farinaccio, M.A., 2016. *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae) no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rodriguésia.* 67, 1011–1024.

- Machate, D.J., Pace, M.R., Alves, F.M., Furtado, C.Q.J., Farinaccio, M.A., 2020. *Aspidosperma flaviflorum* (Apocynaceae), a New Species from Mato Grosso do Sul, Brazil, with Notes on Wood Anatomy. *Syst. Bot.* 45, 315–322.
- Marcondes-Ferreira, N.W., 1988. *Aspidosperma* Mart., Nom. cons. (Apocynaceae): estudos taxonômicos. UNICAMP, Instituto de biologia, Campinas, SP, Tese (doutorado), [s. n.].
- Marcondes-Ferreira, W., Kinoshita, L.S., 1996. Uma nova divisão infragenérica para *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae). *Rev. Bras. Bot.* 19, 2013–2214.
- Menezes, N.L., Silva, D.C., Melo De Pinna, G.F.A., 2003. Appezzato-da-Glória, B., Carmello-Guerreiro, S.M. Anatomia vegetal. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 303–311.
- Metcalf, C.R., Chalk, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject., (Ed. 2).
- Metcalf, C.R., Chalk, L., 1950. Anatomy of the Dicotyledons. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Moglia, J.G., González, D., Sánchez, V., 2012. Anatomía del leño y dendrocronología del quebracho lagunero *Aspidosperma triternatum* (Apocynaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 47, 1–2.
- Morales, J.F., Zamora, N.A., 2017. A synopsis of *Aspidosperma* (Apocynaceae) in Mexico and Central America with a taxonomic clarification of *Aspidosperma cruentum* and a new cryptic species. *Phytoneuro.* 68, 1–13.
- Oliveira, E.F., Bezerra, D.G., Santos, M.L., Rezende, M.H., Paula, J.A.M., 2017. Leaf morphology and venation of *Psidium* species from the Brazilian Savanna. *Rev Bras Farmacogn.* 27, 407–413.
- Pereira, M.M., 2007. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). *Quim. Nova.* 30, 970–983.
- Pereira, S.S., Devides, C.A.C., Freitas, S.E., Félix, G.J.T, Simoes, A.O., Koch, I., 2019. *Aspidosperma huberianum* (Apocynaceae), a New Species from the Brazilian Amazon. *Syst Bot.* 44, 363–370.
- Pirolla-Souza, A., Arruda, R.C.O, Pace, M.R., Farinaccio, M.A., 2019. Leaf anatomical characters of *Rhabdadenia* (Rhabdadenieae, Apocynaceae), their taxonomic implications, and notes on the presence of articulated laticifers in the genus. *Plant Syst. Evol.* 305, 797–810.
- Prychid, C.J, Rudall, P.J., 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. *Ann Bot.* 84, 725–739.

- Quinet, C.G.P., Andreatta, R.H.P., 2005. Estudo taxonômico e morfológico das espécies de Apocynaceae Adans. na reserva Rio das Pedras, Município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Pesquisas, Botânica*. 56, 13–74.
- Reis, A.R., Potiguara, R., Reis, L., 2013. Anatomia foliar de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). *Encicl Biosf*. 9, 3206–3227.
- Rosati, V.R., 1991. Caracteres epidérmicos foliares de valor diagnóstico en la identificación de plantas leñosas del Chaco occidental. *Agriscientia*. 8, 41–53.
- Simões, A.O., Livshultz, T., Conti, E., Endress, M.E., 2007. Phylogeny and systematics of the Rauvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Ann. Missouri Bot. Gard*. 94, 268–297.
- Solereder, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. *Transi. L. A. Boodle and F. E. Fritsch*. Clarendon Press, Oxford. 2 Vol.
- Souza, P.R., Suárez, Y.R., 2021. O contexto histórico da ocupação do Chaco brasileiro para melhor entender a biodiversidade atual, in: Sartori, A.L.B., Souza, P.R., Arruda, R.C.O. (Eds), *Chaco: caracterização, riqueza, diversidade, recursos e interações*. Ed. UFMS., pp. 16–27.
- Strittmatter, C.D., 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol Soc Argent Bot*. 15, 126–129.
- Thiers, B. 2021. [continuously updated] Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. *New York Botanical Garden's Virtual Herbarium*. Available in: <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/> (accessed 1 february 2021).
- Varilla-González, J.D., Ruiz-Vega, R., 2020., Valor taxonómico de nuevos caracteres anatómicos de la lámina foliar de tres especies de *Cecropia* (Urticaceae: Cecropiae) en Córdoba, Colombia. *Acta Biol. Colomb*. 25, 246–254.
- Woodson, R.E., 1951. Studies in the Apocynaceae VIII A Interim Revision of Genus *Aspidosperma* Mart. & Zucc. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 38, 119–206.

**Tabela 1.** Dados dos táxons amostrados.

<b>Espécie</b>	<b>Local</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Número Coletor</b>
<i>A. quebracho-</i> <i>blanco</i>	Córdoba, Argentina	31°22'5,46"S; 65°28'08,04"W	<i>Cocucci 5680</i> (CORD)
<i>A. quebracho-</i> <i>blanco</i>	Las Lomitas, Formosa, Argentina	24°67'6,74"S; 60°60'07,65"W	<i>Farinaccio 1015</i> (CGMS)
<i>A. quebracho-</i> <i>blanco</i>	Barra do Quaraí, Rio Grande do Sul, Brasil	30°11'31,7"S; 57°31'21,3"W	<i>Farinaccio &amp; Uchôa</i> <i>1013</i> (CGMS)
<i>A. quebracho-</i> <i>blanco</i>	Porto Murтинho, Mato Grosso do Sul, Brasil	21°59'50"S; 57°53'8"W	<i>Farinaccio 993</i> (CGMS)
<i>A. quebracho-</i> <i>blanco</i>	Pozo Colorado, Filadelfia, Paraguai	22°36'03,1"S; 59°56'43,3"W	<i>Vogt &amp; Farinaccio</i> <i>1709</i> (FACEN)
<i>A. triternatum</i>	Santa Cruz, Bolívia	17°77'35"S; 63°70'38"W	<i>Botelho 117</i> (COR)
<i>A. triternatum</i>	Pozo del Tigre, Formosa, Argentina	24°88'4,18"S; 60°30'06,42"W	<i>Farinaccio 1016</i> (CGMS)
<i>A. triternatum</i>	Porto Murтинho, Mato Grosso do Sul, Brasil	21°42'37"S; 57°53'56"W	<i>Machate 2</i> (CGMS)
<i>A. triternatum</i>	Pozo Colorado, Presidente Hayes, Paraguai	23°37'22,5"S; 58°43'05,7"W	<i>Vogt &amp; Farinaccio</i> <i>1708</i> (FACEN)

\*Acrônimos seguem Thiers (2021)

**Tabela 2.** Arquitetura Foliar, caracteres diagnósticos para o reconhecimento dos táxons.

<b>Caracteres</b>	<b><i>A. quebracho-blanco</i></b>	<b><i>A. triternatum</i></b>
Pares de nervuras secundárias laterais.	15–22	9-12 pares
Distância entre as nervuras secundárias: região mediana.	0,12–0,19 cm	0,36–0,57 cm
Distância entre as nervuras secundárias: região distal.	0,12–0,31 cm	0,15–0,26 cm
Nervuras secundárias.	Reticuladas ortogonais	Reticuladas aleatórias
Nervuras terciárias: ramificação.	1–2 vezes	3 vezes
Nervuras quaternárias.	Impressas	Salientes
Nervuras quaternárias.	Bem desenvolvidas	Imperfeitas
Nervuras quaternárias: aréola.	completa e compacta	incompleta e dispersa

**Tabela 3.** Anatomia foliar, caracteres diagnósticos para o reconhecimento dos táxons.

	<b>Caracteres</b>	<i>A. quebracho-</i> <i>blanco</i>	<i>A. triternatum</i>
<b>Epiderme</b>	Forma	Retangular/cúbica	Arredondada
	Flange epicuticular	+	-
	Cutícula estriada	-	+
	Cripta estomática	+	-
	Tricoma achatado com ornamentações	+	-
	Estômatos na face adaxial	+	-
<b>Mesofilo</b>	Com parênquima aquífero	+	-
	Com parênquima lacunoso	-	+
	Número de camadas do parênquima paliçádico	2-7	2-4
	Idioblasto escleroidal	+	-
<b>Nervura principal</b>	Número de cristais	Muitos	Poucos
	Tricomas na face adaxial	-	+
	Número de camadas de células na região cortical da face adaxial	3	1-2
	Número de camadas de células na região cortical da face abaxial	4	2

(+) presente, (-) ausente

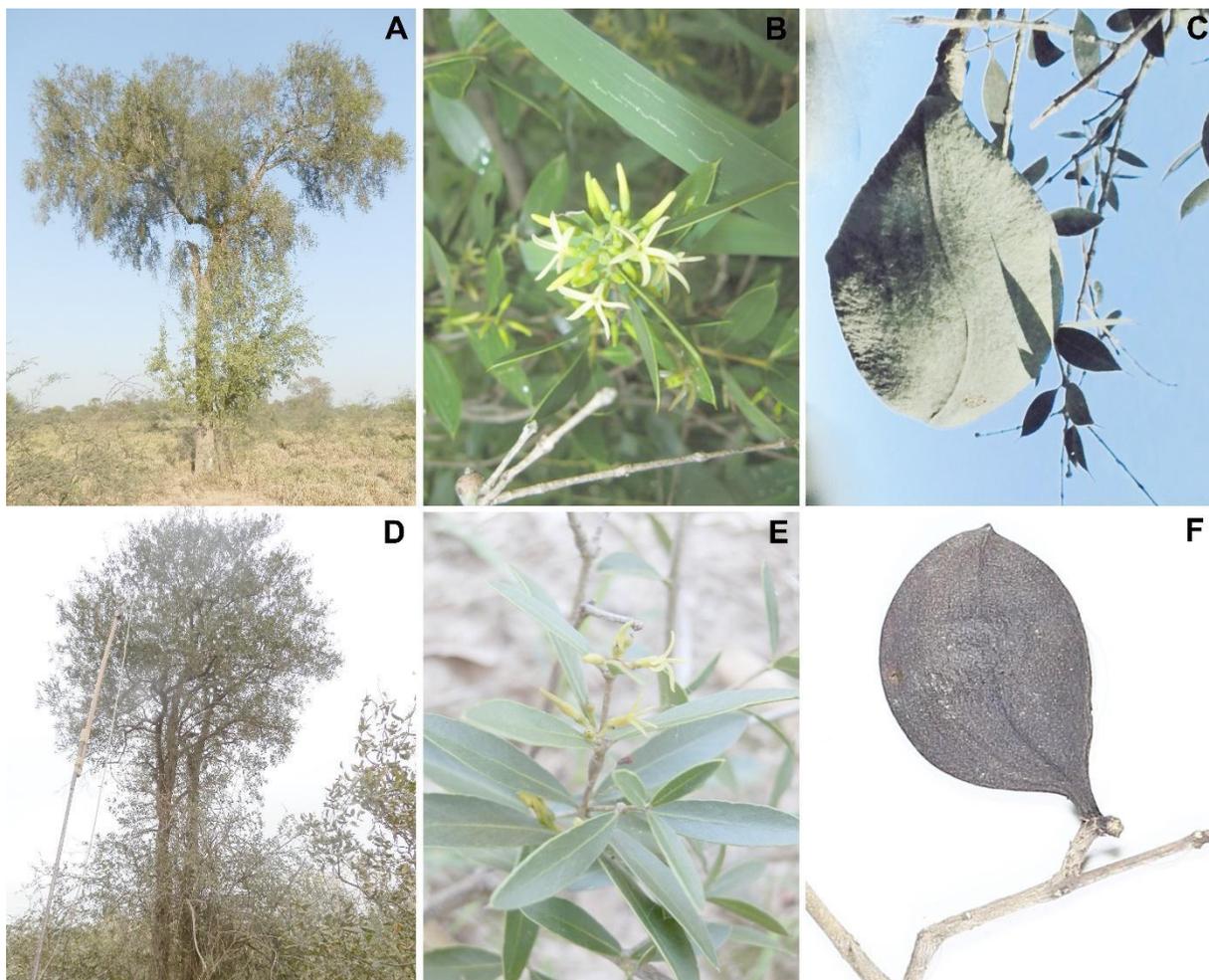


Figura 1. (A-C) *A. quebracho-blanco*. (A). Indivíduo adulto. (B). Inflorescência. (C). Fruto. (D-F). *A. triternatum*. (D). Indivíduo adulto. (E). Inflorescência. (F). Fruto. [Fotografias: (A-E). Maria Ana Farinaccio, (F). Herbário da Universidade de Brasília (UB)].

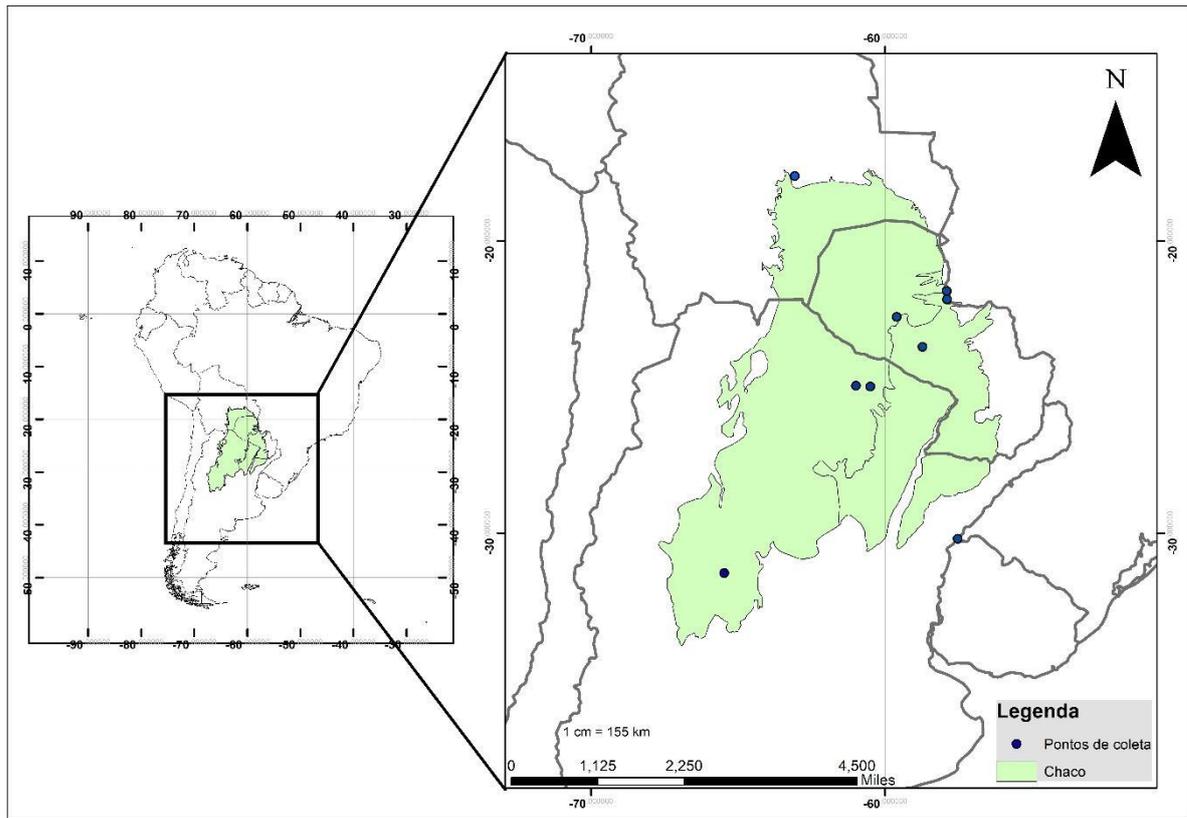


Figura 2. Mapa de distribuição das espécies coletadas. Em verde, localização do Chaco. Adaptado de Olson et al. (2001).

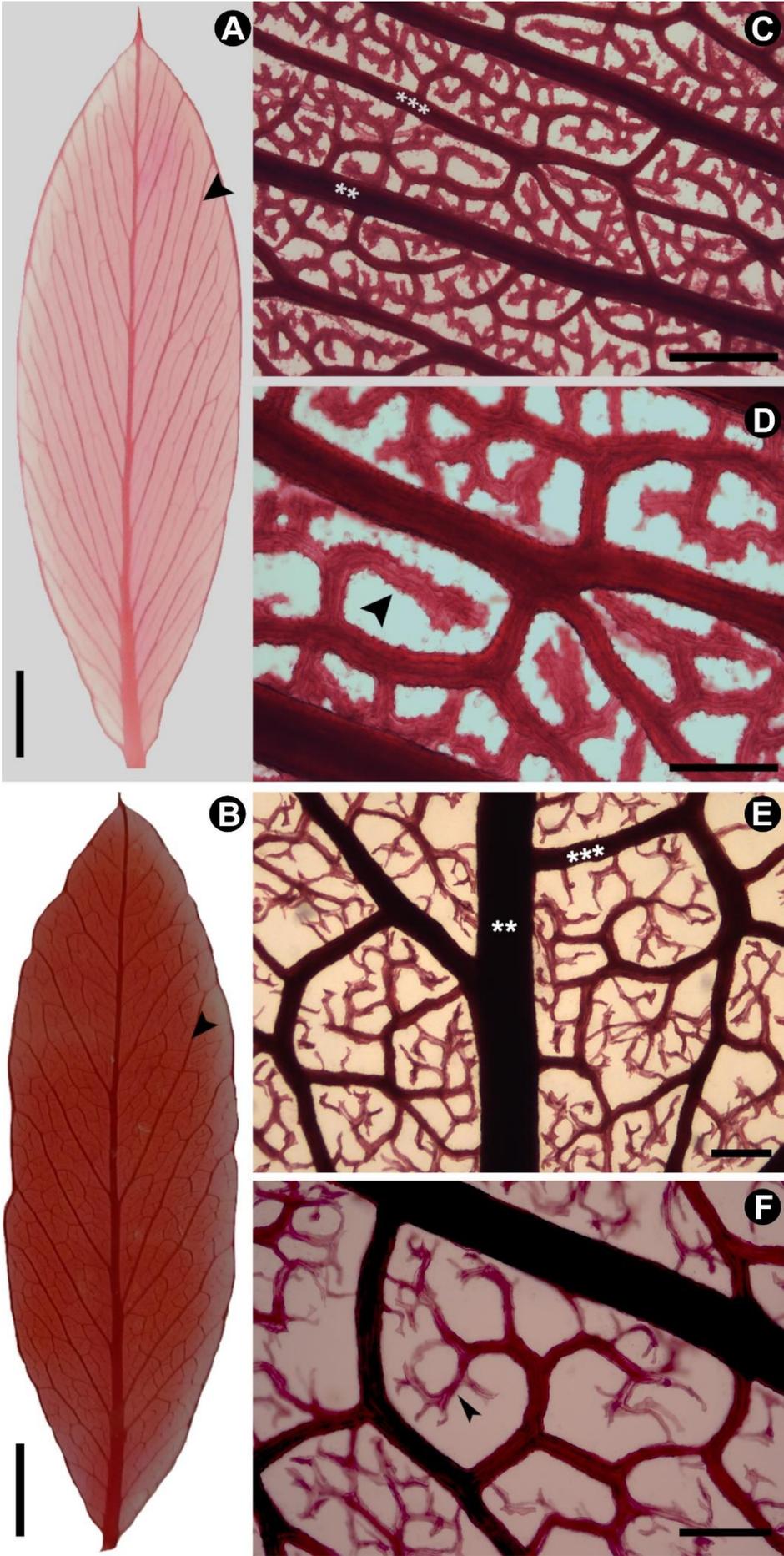


Figura 3. Arquitetura foliar de *Aspidosperma quebracho-blanco* (A, C e D) e *A. triternatum* (B, E e F). (A-B). Limbo foliar, cabeça da seta apontado para a nervura secundária. (C e E). Configuração geral das nervuras, \*\*: nervura secundária, \*\*\*: nervura terciária. (D e F). Detalhe da configuração das nervuras secundárias, terciárias e quaternárias, cabeça da seta apontando para a nervura quaternária. Escala= A e B - 500  $\mu$ m C e E- 300  $\mu$ m D e F- 200  $\mu$ m.

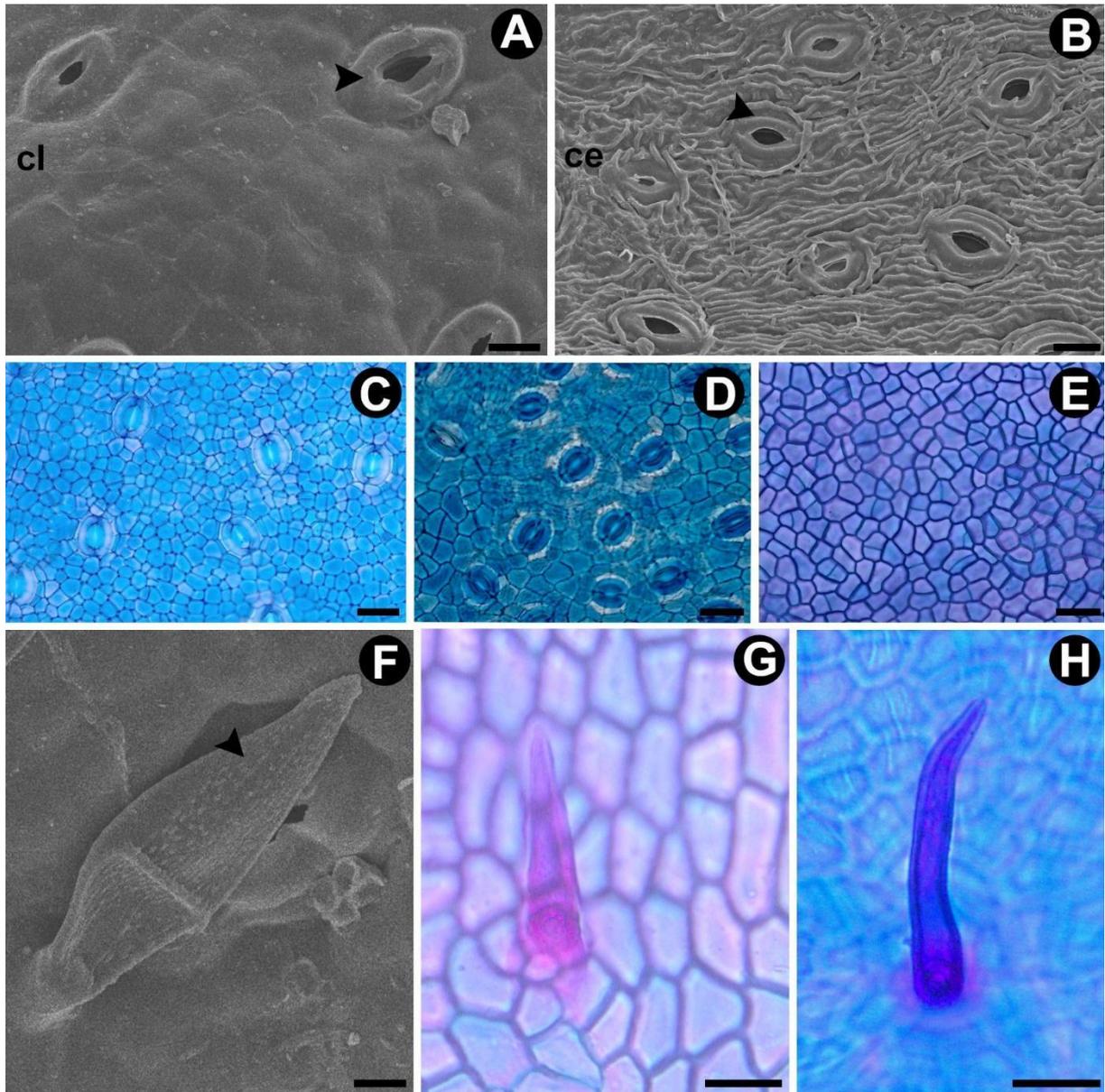


Figura 4. Detalhes da epiderme em plano frontal de *A. quebracho-blanco* (A, C, F e G) e *A. triternatum* (B, D, E, H). (A). Cera lisa depositada sobre a cutícula da epiderme, cabeça da seta apontado para o anel periestomático. (B). Cera estriada depositada sobre a cutícula da epiderme, cabeça da seta apontado para o anel periestomático. (C). Face adaxial. (D). Face adaxial. (E). Face abaxial. (F). Tricoma ornamentado, (ornamentação na ponta da seta). (G). Tricoma não ornamentado. (H). Tricoma tector. cl: cutícula lisa, ce: cutícula estriada. Escala = 20  $\mu\text{m}$ .

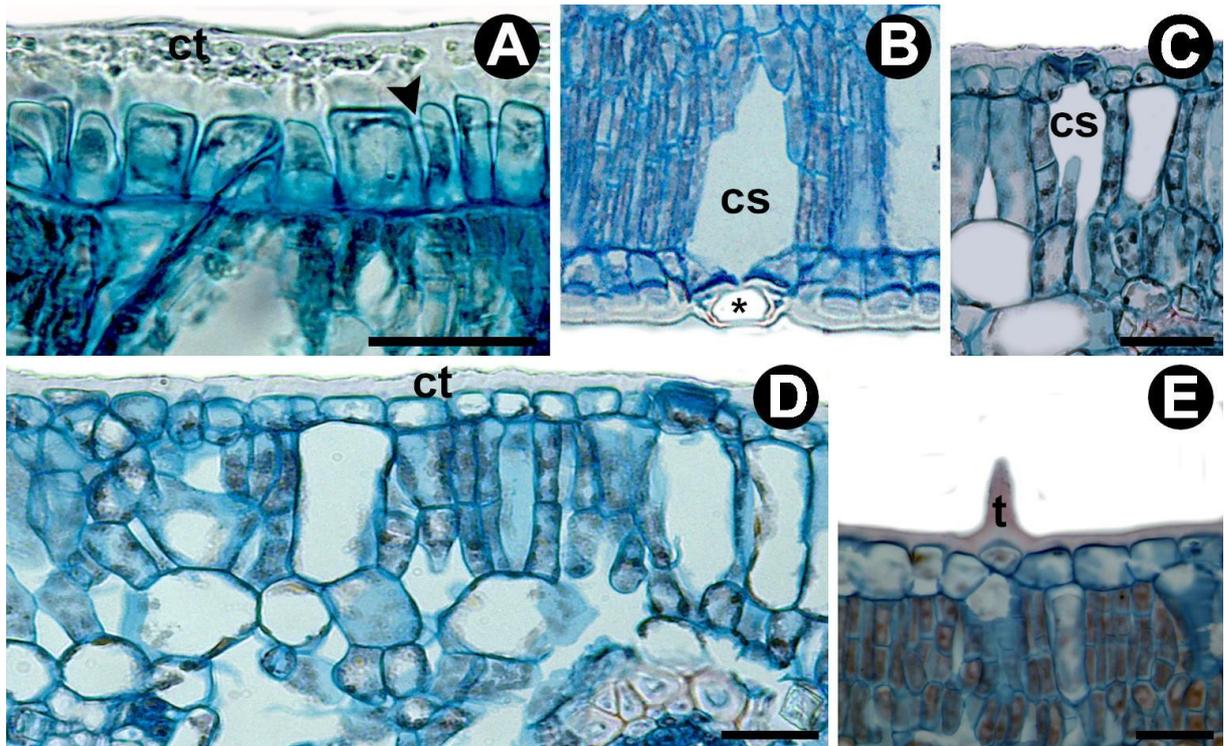


Figura 5. Detalhes da epiderme em plano transversal de *A. quebracho-blanco* (A, B e E) e *A. triternatum* (C e D). (A). Epiderme com células quadradas e retangulares, cabeça da seta apontado para a flange. (B). Estômato (câmara subestomática) asterisco: cripta estomática. (C). Estômato (câmara subestomática). (D). Epiderme com células arredondadas. (E). Tricoma. ct: cutícula, cs: câmara subestomática, t: tricoma. Escala = 20  $\mu$ m.

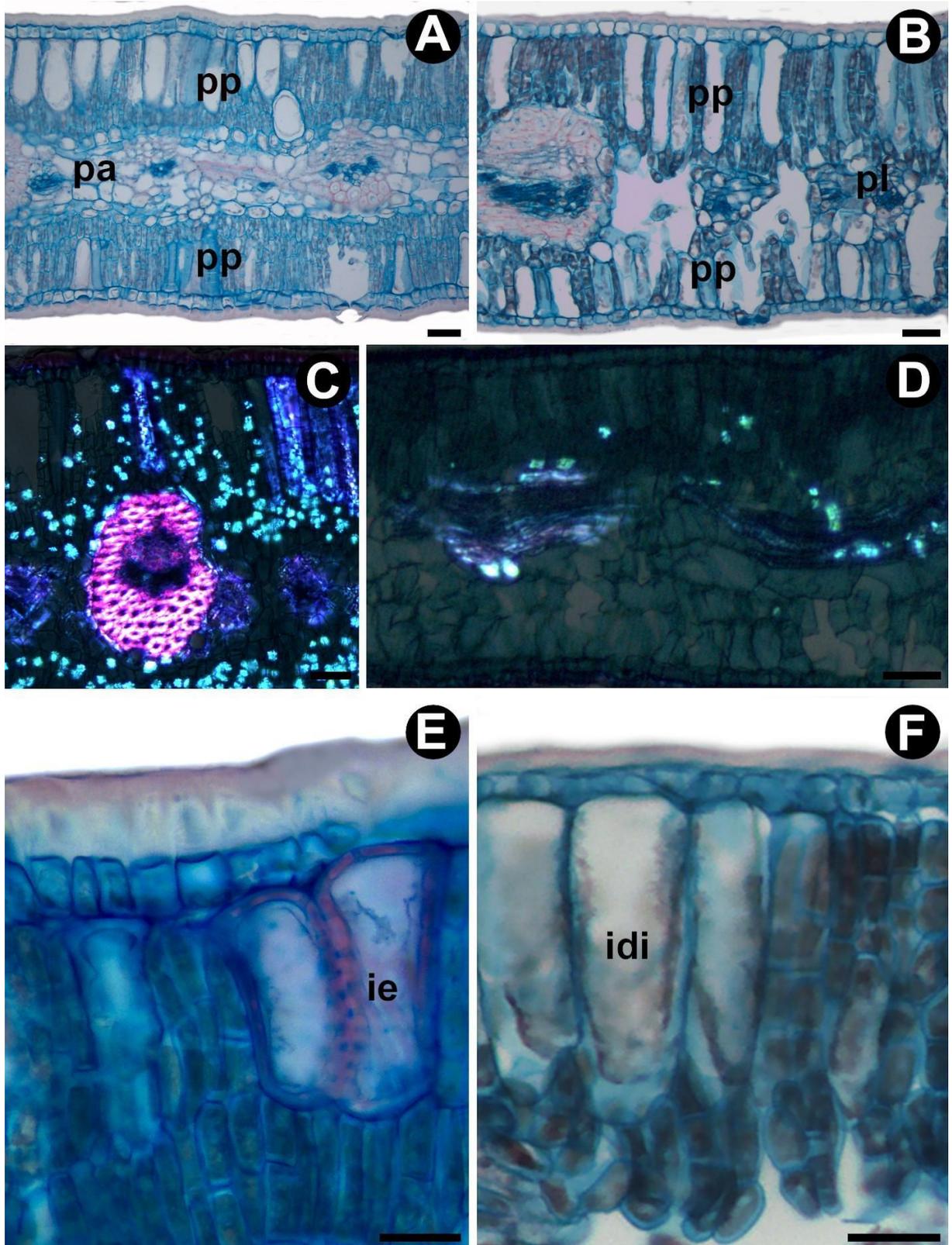


Figura 6. Detalhes do mesofilo de *A. quebracho-blanco* (A, C e E) e *A. triterнатum* (B, D e F). (A-B). Organização do mesofilo. (C-D). Distribuição dos cristais no mesofilo. (E). Idioblasto i. (F). Idioblasto. pp: parênquima paliçádico, pa: parênquima aquífero, pl: parênquima lacunoso, ie: idioblasto escleriodal, idi: idioblasto. Escala: 20  $\mu$ m.

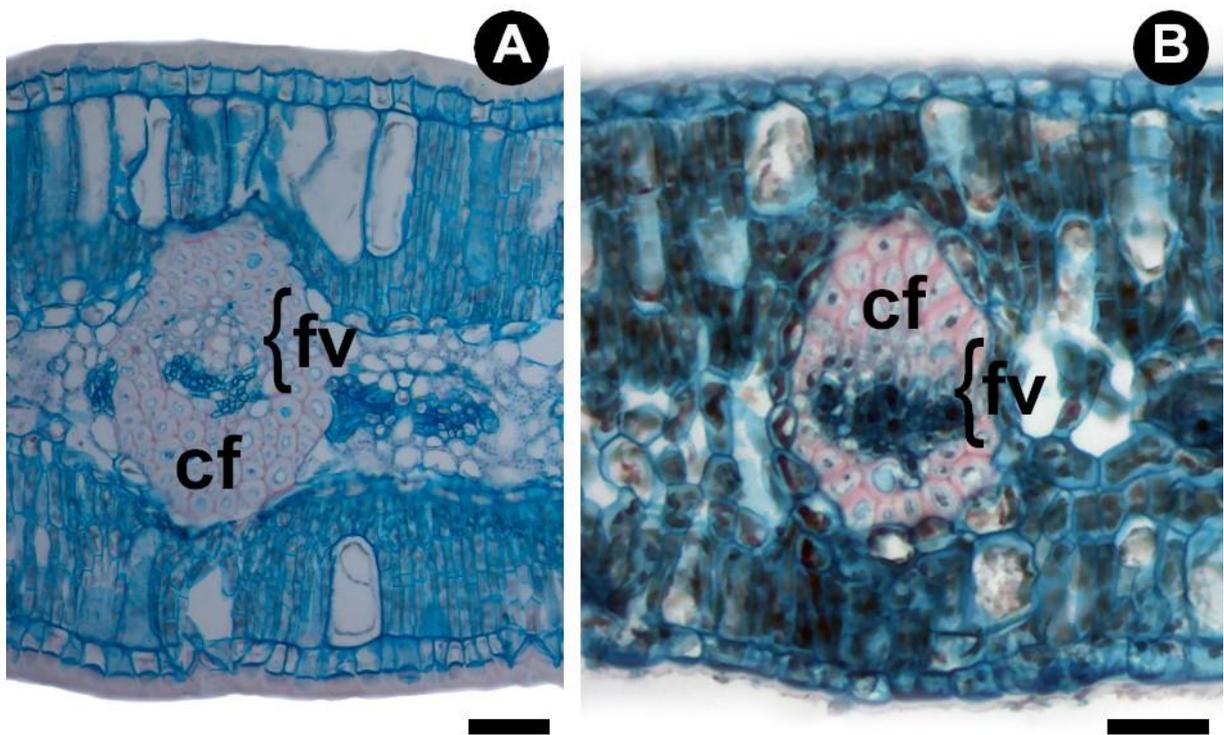


Figura 7. Sistema vascular da região intercostal de *A. quebracho-blanco* (A) e *A. triternatum* (B). cf: calota de fibras, fv: feixe vascular. Escala = 20  $\mu$ m.

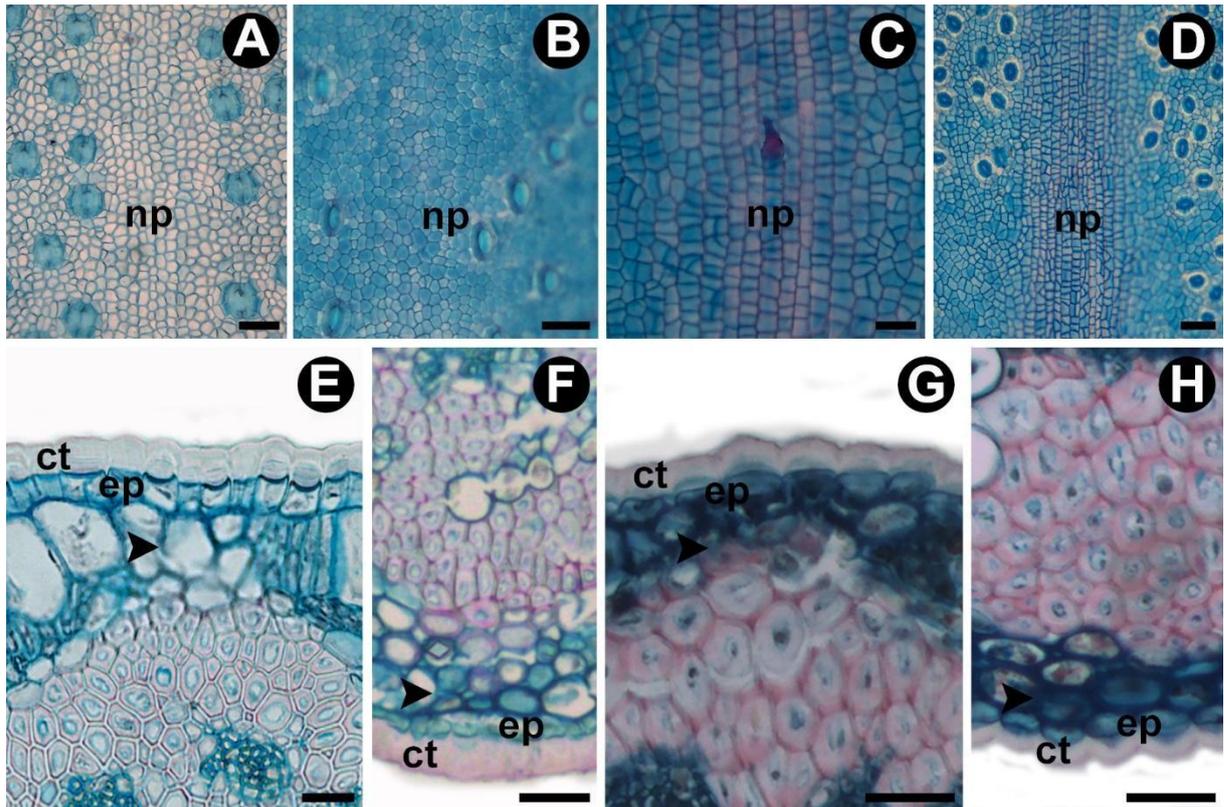


Figura 8. Detalhes da nervura principal e região cortical de *A. quebracho-blanco* (A, B, E e F) e *A. triternatum* (C, D, G e H). (A). Nervura principal da face adaxial. (B). Nervura principal da face abaxial. (C). Nervura principal da face adaxial com tricoma. (D). Nervura principal da face abaxial. (E e G). Epiderme e região cortical da face adaxial da nervura principal, cabeça da seta apontando para as células da região cortical. (F e H). Região cortical da face abaxial da nervura principal, cabeça da seta apontando para as células da região cortical. ct: cutícula, ep: epiderme, np: nervura principal. Escala = 20  $\mu$ m.

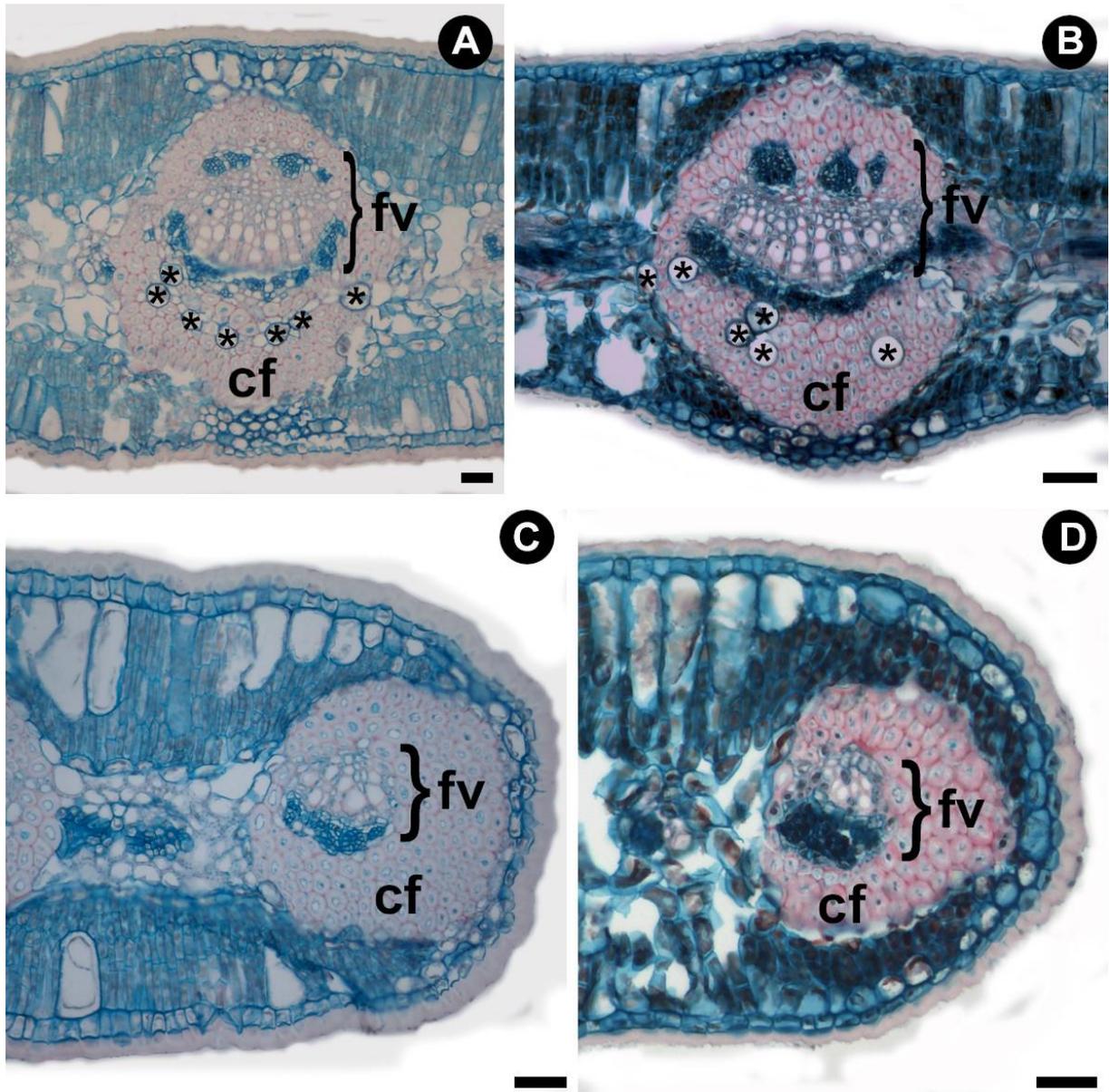


Figura 9. Detalhes da nervura principal e do bordo em corte transversal de *A. quebracho-blanco* (A e C) e *A. triternatum* (B e D). (A e B). Feixe vascular da nervura principal, asteriscos indicando os laticíferos. (C e D). Bordo e feixe vascular do bordo. cf: calota de fibras, fv: feixe vascular. Escala = 20  $\mu$ m.