



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

THAYANNE CAROLINE CASTOR NETO

**NATUREZA E DISTRIBUIÇÃO DE CRISTAIS NO LENHO DE *Hevea
brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.**

Prof. Dr. JOÃO VICENTE DE FIGUEIREDO LATORRACA
Orientador

SEROPÉDICA, RJ
DEZEMBRO - 2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

THAYANNE CAROLINE CASTOR NETO

**NATUREZA E DISTRIBUIÇÃO DE CRISTAIS NO LENHO DE *Hevea
brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Florestal, como requisito parcial para a obtenção do Título de Engenheira Florestal, Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Prof. Dr. JOÃO VICENTE DE FIGUEIREDO LATORRACA
Orientador

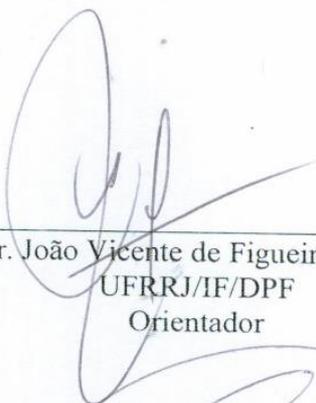
SEROPÉDICA, RJ
DEZEMBRO – 2015

**NATUREZA E DISTRIBUIÇÃO DE CRISTAIS NO LENHO DE *Hevea
brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.**

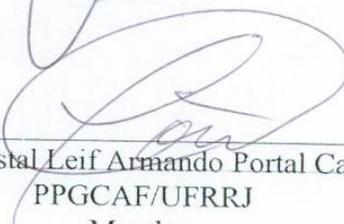
THAYANNE CAROLINE CASTOR NETO

Monografia aprovada em 02 de dezembro de 2015.

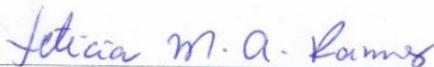
Banca Examinadora:



Prof. Dr. João Vicente de Figueiredo Latorraca
UFRRJ/IF/DPF
Orientador



Eng. Florestal Leif Armando Portal Cahuana
PPGCAF/UFRRJ
Membro



Msc. Leticia Maria Alves Ramos
PPGCAF/UFRRJ
Membro

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
Maristela e Lincoln (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar viva, por ter saúde, e pelas pessoas que coloca em minha vida.

À minha mãe que sempre buscou e fez o melhor para mim e que sempre me incentivou a ir atrás dos meus sonhos. Me criou e me educou com todo amor de Pai e Mãe. A ela devo tudo que sou e tudo que tenho. Por isso, chegou a minha vez de retribuir. Te amo, Mãe!

Ao meu pai que me estimulou, desde criança e mesmo que por pouco tempo, a mexer com a terra no sítio e a ter apreço pela natureza. Por causa dele decidi que me formaria na Rural e aqui estou.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, lugar onde meus pais se conheceram e onde foi meu quintal de casa durante a infância e que dela guardo grandes e doces lembranças, como as que alimentava os peixinhos do lago do P1 ou em que brincava nas quadras e gramados nos finais de semana, e até mesmo as lembranças de toda a minha trajetória durante a graduação. Levarei para sempre, com todo amor que tenho pela linda Rural.

Ao Professor Dr. João Vicente de Figueiredo Latorraca, que aceitou ser meu orientador e que esteve à disposição para esclarecer qualquer dúvida e sendo sempre atencioso, meu muito obrigado.

Aos demais professores que contribuíram para meu aprendizado e me fizeram enxergar a Engenharia Florestal em toda a sua essência e fascínio.

Ao Eng. Florestal Leif Armando Portal Cahuana, que aceitou participar da banca.

Ao técnico do Laboratório de Biotecnologia, Tiago Bandeira, que me auxiliou no manuseio dos equipamentos necessários para a confecção desta monografia.

À queridíssima doutoranda Letícia Ramos, que desde o seu mestrado tenho tido o privilégio da sua amizade e parceria. Sem ela, não conseguiria nem metade de todo este trabalho. Obrigada pelas risadas, conselhos, por ouvir e guardar minhas confissões!

Aos amigos e colegas que fiz durante esses anos. Em especial os queridos:

Fernanda Tavares, minha amiga-irmã que me levantou em momentos muito difíceis, vou sentir saudades dos vários açais que a gente já tomou!! Espero ter sua amizade para a vida toda.

Tafarel, um querido e amigo muito especial.

Renata Sistons, minha irmã gêmea de acordo com muitos professores e amigos da Floresta, pessoa maravilhosa a qual tenho muito carinho.

Carol Nunes, amiga muito especial que contribuiu em grandes mudanças na minha vida.

Larissa Barbosa, que tive o prazer se conviver e ter muito carinho.

E Lucas Carvalho, companheiro de muitas viagens de ônibus e amigo muito querido.

Aos amigos da vida, que me fazem rir, que estão comigo nos momentos mais difíceis e que espero ter para sempre, Karine Milhoranse, Patricia Pita, Wille Eduardo, Priscila Garcia, Tiago Garcia, Aline Melandre e Anderson Audi.

À Dora que está sendo minha segunda mãe e que tem me dado carinho, atenção e apoio em todos os momentos.

Ao Renan Pena, que apareceu na minha vida inesperadamente e mesmo que em tão pouco tempo, fez dela uma mudança radical, me transformou, e ainda transforma, e faz com que meus dias sejam mais felizes.

Sou grata a todos vocês!!!

RESUMO

A natureza, os tipos e as organizações dos cristais podem ser características importantes para estudos em anatomia. Os cristais ocorrem em células especializadas, chamadas idioblastos e podem apresentar variadas formas, tamanhos e composição química. Foram encontrados, recentemente, cristais no lenho de *Hevea brasiliensis*, porém de composição química desconhecida. Portanto, objetivou-se com este estudo determinar a frequência, a distribuição, a morfologia e a natureza dos cristais presentes no lenho de seringueira. Para tanto, utilizaram-se materiais coletados de um plantio comercial, estabelecido na Fazenda Água Milagrosa, no município de Tabapuã, São Paulo. Verificou-se a maior frequência de cristais nas regiões próximas à medula, sendo mais frequentes nas células de parênquima axial e nos poros, quando obstruídos por tilos. Foram caracterizados morfologicamente como cristais prismáticos, compostos por oxalato de cálcio.

Palavras-chave: Cristais prismáticos, Oxalato de cálcio, *Hevea brasiliensis*

ABSTRACT

The nature, types and organizations of the crystals may be an important field for studies in wood anatomy. They are found most often in specialized cells called crystal idioblasts and may have various shapes, sizes and chemical composition. Recently, crystals were found in the hardwood of *Hevea brasiliensis*, however their composition are unknown. Therefore, the aim of this study was to determine the frequency, distribution, morphology and the nature of the crystals present in the rubber tree. To that end, the material was collected from a commercial planting, in Fazenda Milagrosa, at Tabapuã, state of São Paulo. An elevated frequency of crystals were observed in axial parenchyma cells and pores when filled by tyloses, in the regions next to the pith. They were morphologically characterized as prismatic crystal and composed of calcium oxalate.

Keywords: Prismatic crystals, Calcium oxalate, *Hevea brasiliensis*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE TABELAS	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	1
2.1. Objetivo Geral	1
2.2. Objetivos Específicos	1
3. REVISÃO DE LITERATURA	2
3.1. Cristais em plantas.....	2
3.2. <i>Hevea brasiliensis</i>	4
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
4.1. Localização e caracterização da área.....	5
4.2. Preparo das amostras	6
4.4. Morfologia e distribuição dos cristais	7
4.4.1. Microscopia Óptica.....	7
4.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	8
4.4. Análise histoquímica	8
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5.1 Morfologia dos cristais	9
5.2 Frequência e distribuição de cristais nos elementos anatômicos.....	11
5.3 Análise histoquímica	12
6. CONCLUSÕES	12
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Células parenquimáticas contendo cristais prismáticos - série cristalífera. (LIMA; OLIVEIRA; RODRIGUES, 2009)	2
Figura 2: Principais tipos de cristais encontrados nas células vegetais.	3
Figura 3: Morfologia de <i>Hevea brasiliensis</i>	4
Figura 4: Localização da cidade de Tabapuã - SP. (RAMOS, 2014).....	6
Figura 5: Esquema da obtenção dos corpos-de-prova para as análises.....	7
Figura 6: Micrótomo de deslize.....	7
Figura 7: Microscópio eletrônico de varredura.	8
Figura 8: Imagens obtidas no MEV.	10
Figura 9: Imagens de microscopia óptica (aumento 10x).	11

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequência de cristais de acordo com as posições e os lenhos de <i>Hevea brasiliensis</i>	12
--	----

1. INTRODUÇÃO

Apesar dos cristais não serem caracteres anatômicos, sua presença, os tipos e suas organizações podem ser características importantes para estudos em anatomia vegetal, de maneira que sejam suficientes para a identificação e utilização de madeiras. Segundo Appezzato-da-Glória; Carmello-Guerreiro (2006), sua presença é mais comum em angiospermas, sendo raro em gimnospermas.

A formação dos cristais ocorre geralmente em células especializadas, chamadas de idioblastos. Os cristais são componentes inorgânicos. De acordo com Ferri (1988), são compostos por cristais de oxalato de cálcio, carbonato de cálcio e sílica. A proporção destes, na madeira de algumas espécies, é influenciável pelas condições ambientais que a árvore encontrou no decorrer de seu crescimento (GOULART et al., 2012).

A forma, tamanho e número de cristais dentro de um idioblasto, variam consideravelmente. O número e a localização dos idioblastos dentro do corpo da planta também variam entre os táxons (FRANCESCHI & HORNER, 1980).

A espécie *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg., pertencente à família Euphorbiaceae, recebe vulgarmente o nome de seringueira, seringueira-branca ou árvore-da-borracha e, dentre as outras 10 espécies de seringueiras encontradas no Brasil atualmente, é a de maior importância comercial. Segundo Ramos (2014), foram encontrados nas células parenquimáticas dos lenhos de reação e oposto de seringueira, a presença de cristais de formato prismático (ou romboédricos), bem como em vasos obstruídos por tilose, porém de composição química desconhecida.

Tendo em vista a importância econômica da espécie, a carência de estudos sobre o tema em questão e visando ampliar a disponibilidade de maiores informações relativas à caracterização da espécie, objetivou-se com este trabalho determinar a composição química e a distribuição de cristais no lenho da seringueira.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Objetivou-se com este trabalho identificar a natureza e a distribuição de cristais encontrados no lenho de seringueira.

2.2. Objetivos Específicos

- Identificar a composição química dos cristais através de teste histoquímico;
- Observar a presença e determinar a frequência dos cristais nos elementos axiais e radiais;
- Descrever a tipificação dos cristais encontrados com base na norma da IAWA Comitee (1989).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Cristais em plantas

O cálcio é um elemento abundante no ambiente natural em que muitas plantas crescem. Um elemento exigido para o crescimento e desenvolvimento das mesmas, além disso o cálcio desempenha muitos papéis importantes, por exemplo como componente estrutural da parede celular (DEMARTY *et al.*, 1984), no desenvolvimento fisiológico, segundo Bush (1995), e ainda como papel osmótico, segundo Kinzel (1989).

Em plantas, a deposição de oxalato de cálcio é comum. As plantas produtoras de oxalato, que incluem muitas culturas, o acumulam em torno de 3 a 80% do seu peso seco. Mais de 90% do total de cálcio na planta pode ser encontrado como sal de oxalato (ZINDLER-FRANK, 1976;); (HORNER & WAGNER, 1995).

Os cristais de oxalato de cálcio em plantas são considerados um dos primeiros objetos a serem observados sob a luz de um microscópio (LEEUWENHOEK, 1975). Desde o relato inicial, cristais de oxalato de cálcio têm sido observados em toda a natureza. Foram observados por Hodgkinson (1977), em rochas, solo, e em vários membros dos cinco reinos (Monera, Protista, Fungi, Plantae e Animalia). Em todos os casos, os cristais se formaram a partir do cálcio presente no ambiente e através da síntese biológica do oxalato.

Mais de 215 famílias de plantas acumulam cristais em seus tecidos (MCNAIR, 1932). Podem ser observados praticamente em todos os tecidos da planta, na maioria das vezes se acumulam dentro dos vacúolos de células especializadas, chamadas de idioblastos (HORNER & WAGNER, 1995) e podem ocorrer nas raízes, caules, folhas, flores, frutas e sementes (FRANCESCHI & HORNER, 1980).

Portanto, podem ser encontrados nas células do parênquima axial, nos raios, nas fibras septadas, assim como também podem estar presentes em células subdivididas do parênquima axial ou radial, formando cadeias - as séries cristalíferas (Figura 1) (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

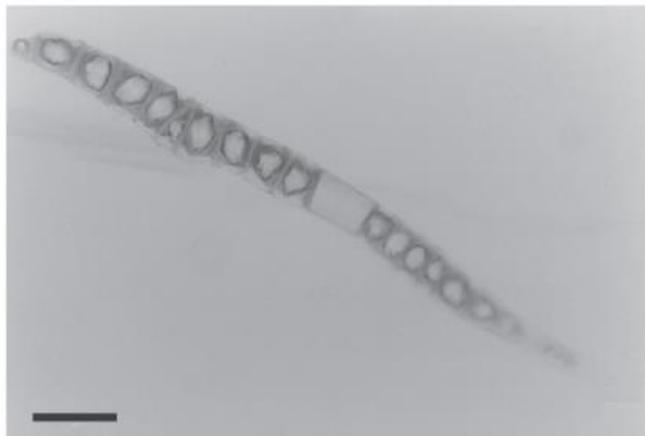


Figura 1: Células parenquimáticas contendo cristais prismáticos - série cristalífera. (LIMA; OLIVEIRA; RODRIGUES, 2009)

Ainda segundo Appezzato-da-Glória & Carmello-Guerreiro (2006), os cristais ainda podem ser encontrados em tiloses. A formação de tilose se dá no processo de formação do

cerne, quando ocorre o preenchimento também de células com materiais provenientes de processos metabólicos, como óleos e resinas, remanescentes nas células dos raios na região intermediária entre o cerne e o alburno (ALBUQUERQUE & LATORRACA, 2000). De acordo com Walker (2006), consiste na intrusão de células de parênquima nos elementos de vaso, obstruindo os mesmos. Evert (2006) afirma que a tilose também pode desenvolver paredes secundárias. A presença de tilose na madeira também poderia estar relacionada às injúrias, invasão por fungos ou infecção viral, segundo Dickinson (2000).

As plantas produzem uma variedade de cristais de oxalato de cálcio em tamanhos e formas diferentes (Figura 2). A forma que o cristal assume está sob controle genético. A maioria deles pode ser classificados em cinco categorias, com base na sua morfologia: cristal de areia, ráfide, drusa, estilóide e prismático. No entanto é interessante notar que, enquanto algumas plantas contêm apenas um tipo de cristal, outras podem ter dois ou mais tipos diferentes (FRANCESCHI & HORNER, 1980). Cristais que apresentam morfologias diferentes podem ocorrer mesmo em células adjacentes (GIBSON, 1973; MCNAIR, 1932; SCURFIELD et al., 1973). Isso levanta questões quanto à natureza do controle das formas e composições que os cristais podem obter nas plantas.

As suas distribuições e formatos têm sido utilizados como caracteres taxonômicos de algumas famílias de plantas. Por exemplo, a presença de ráfides separa subfamílias de Rubiaceae (LERSTEN, 1974) e o subgênero de *Prunus* (LERSTEN AND HORNER, 2000). Segundo Chattaway (1955; 1956), cristais prismáticos são os tipos mais comuns em madeiras.

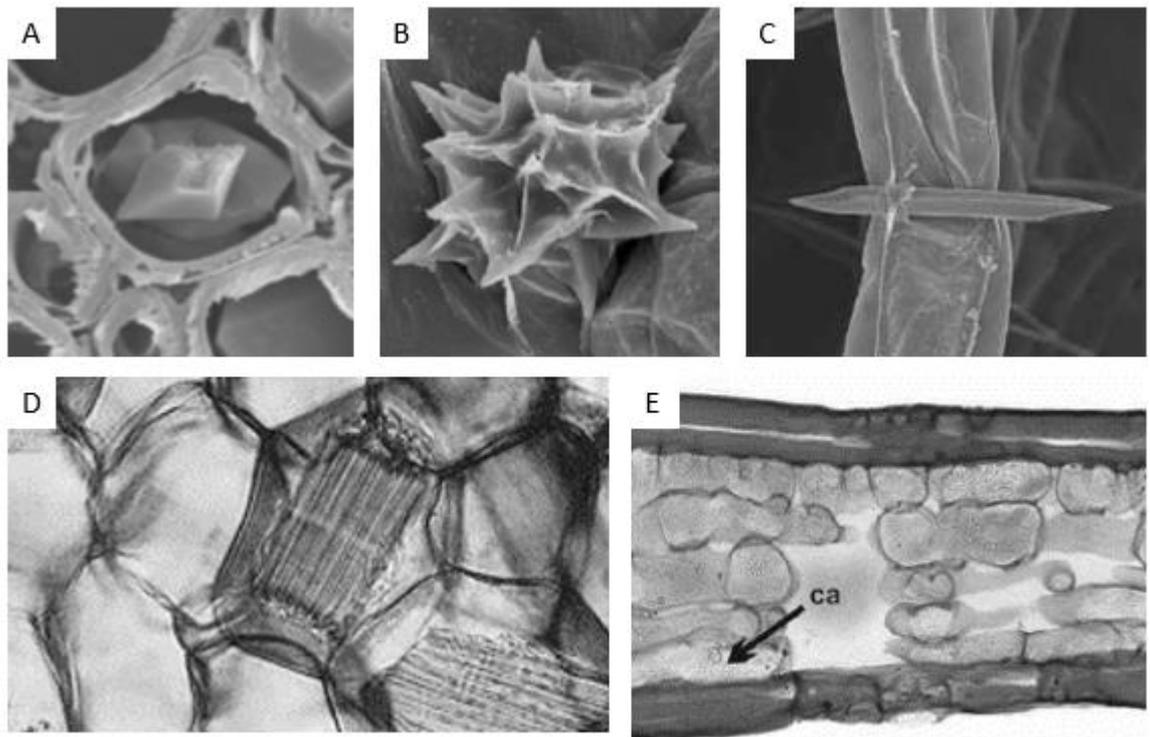


Figura 2: Principais tipos de cristais encontrados nas células vegetais. **A:** prismático; **B:** drusa; **C:** estilóide; **D:** ráfide; **E:** cristais de areia. **Fonte:** imagens da internet.

Várias funções para a formação de cristais em plantas têm sido propostas (FRANCESCHI & HORNER, 1980). Propõe-se que a formação de cristais seria uma reação de defesa para encapsular o excesso de cálcio no interior da célula (FINK, 1991), sendo assim, o

tamanho e o número de cristais de oxalato de cálcio correspondem a alterações na concentração de cálcio no ambiente em que a planta se encontra (BORCHERT, 1986).

Outro papel proposto para a presença de cristais é a defesa contra a herbivoria. Segundo Molano-Flores (2001), as folhas de espécies expostas à herbivoria têm maior densidade de cristais, comparadas com as não atacadas. Especificamente, os cristais aciculares, tais como ráfides e estilóides que se formam frequentemente em células especializadas, que também produzem toxinas, parecem facilitar a passagem da toxina através da pele dos herbívoros (SAKAI et al, 1972; THURSTON, 1976).

Molano-Flores (2001) e Tillmann-Sutela; Kauppi (1999), citaram a acumulação de cristais de oxalato de cálcio em folhas de *Sida rhombifolia* e sementes de abeto da Noruega, respectivamente, em resposta à herbivoria artificial ou ferimento de tecido. Assim, em algumas plantas, a formação de cristais parece ser uma resposta de defesa induzível (NAKATA, 2003). Em outros casos, os cristais podem proporcionar um reforço estrutural análogo à esclerificação da parede celular. Por exemplo, os cristais se formam frequentemente em tecidos epidérmicos ou subepidérmicos (BRUBAKER; HORNER, 1989), em células vasculares (ZINDLER-FRANK, 1995), e nas camadas de células de revestimento de sementes (WEBB; ARNOTT, 1982).

Segundo Alves et al. (2008), a presença de cristais de oxalato de cálcio também estaria relacionada à poluição. Folhas provenientes de ambiente rural e urbano mostraram diferenças na quantidade de cristais, sendo a maioria encontrado nos espécimes coletados em ambiente urbano enquanto que no rural foram ausentes.

3.2. *Hevea brasiliensis*

A seringueira, pertencente ao gênero *Hevea*, da família Euphorbiaceae, que possui a *Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg. como a espécie mais importante do gênero (GONÇALVES et al., 2002). Gonçalves et al. (1983) ainda classificam botanicamente a espécie como uma eudicotiledônea, monóica, com flores unissexuais e folhas longamente pecioladas e repartidas em três folíolos, sendo seu fruto uma cápsula grande, que geralmente apresenta três sementes (Figura 3).



Figura 3: Morfologia de *Hevea brasiliensis*.

Fonte: www.plant-pictures.de

Cunha et al. (2000), ressaltam que a seringueira é uma planta exigente em propriedades físicas do solo, requerendo solos profundos, porosos, bem drenados, de textura argilosa e com boa retenção de umidade. As condições físico-hídricas são de extrema importância, considerando que a planta necessita retirar do solo uma grande quantidade de água para suportar uma produção de látex que chega a conter 68% de água.

A *H. brasiliensis* tem como área de ocorrência e dispersão natural a Amazônia brasileira e países próximos, como Bolívia, Colômbia, Peru, Venezuela, Equador, Suriname e Guiana (COSTA et al, 2001).

Gonçalves (2002) relata que no Brasil, a história da produção da borracha vegetal mostra que o país desfrutou da condição de principal produtor e exportador mundial no final do século XIX, passando a ser importador dessa matéria-prima a partir do início dos anos cinquenta do século seguinte.

Segundo Costa et al. (2001), a produção começou a entrar em declínio com o aparecimento do fungo *Microcyclus ulei*, causador do mal das folhas, sendo este fator de maior entrave para o desenvolvimento e produtividade da seringueira no Brasil, perdendo espaço para outros países produtores como a Malásia, Indonésia e Tailândia.

Nos anos setenta e oitenta o País investiu mais de US\$1,00 bilhão objetivando viabilizar a cultura na região amazônica, mas sem sucesso, em função do efeito devastador do fungo *M. ulei*. Apenas os seringais formados fora da região amazônica se viabilizaram e entre eles os do Estado de São Paulo, em função do clima seco no período de troca das folhas, junho a setembro, desfavorável ao fungo (PINO et al., 2000).

A área plantada com seringueira no mundo ultrapassa nove milhões de hectares, sendo que mais de 90% se encontra na Ásia, com destaque para Indonésia, Tailândia e Malásia (ZHAO, 2008). No Brasil, a área plantada totaliza 168.848 ha (ABRAF, 2013), sendo que no estado de São Paulo se encontram 50% desse total (cerca de 80 mil ha de seringais cultivados) (SAMPAIO, 2010).

Além de ser considerada matéria-prima imprescindível para a manufatura de grande variedade de produtos de uso humano e industrial, considerada estratégica ao lado do petróleo e do aço (CORTEZ et al., 2003), também pode funcionar como corredor ecológico entre fragmentos de mata nativa e representa uma alternativa à utilização de uma fonte não-renovável – o petróleo, usado na fabricação de borracha sintética, sendo forte candidata ao mercado de créditos de carbono (ROSSMANN et al., 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização e caracterização da área

A área de estudo está localizada no município de Tabapuã, pertencente à mesorregião de São José do Rio Preto, São Paulo. Localizado nas coordenadas: Latitudes 20°45' – 20°50' e Longitudes 49°00' - 49°10' WGr, sua altitude varia de 450 a 560 metros.

A coleta foi realizada em um plantio comercial estabelecido na Fazenda Água Milagrosa, em uma área de 9,93 ha, com espaçamento de 7x2 m, onde apresenta solo podzólico vermelho-amarelo de textura média, profundo, de topografia plana e bem drenado. Predomina nessa área o clima do tipo tropical (Aw - classificação Köppen-Geider), com características de

verão úmido, período de inverno seco com temperatura média anual de 23,7°C e precipitação média anual de 1420 mm.



Figura 4: Localização da cidade de Tabapuã - SP. (RAMOS, 2014).

4.2. Preparo das amostras

Foram amostradas duas árvores de *Hevea brasiliensis*, com 53 anos de idade, em final de ciclo, com diâmetro na altura do peito (DAP) de aproximadamente 45 cm, sem tortuosidade no fuste e em bom estado fitossanitário.

As árvores foram abatidas com motosserra para a obtenção de dois discos, um para cada árvore, e retirados na base do fuste. A fim de corrigir as superfícies dos discos pelas marcas do desdobro, os mesmos passaram por lixamento em lixadeira de bancada, com lixa de 40 e 80 grãos.

Os discos foram trazidos para o Instituto de Florestas, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em Seropédica, para a preparação dos corpos-de-prova.

Foi observado, na seção transversal dos discos, que espécie apresentou excentricidade da medula, portanto, para cada disco foram retiradas seções radiais, tanto do lenho de reação quanto do lenho oposto (Figura 5). E para cada lenho, retiram-se três corpos-de-prova com aproximadamente 2 cm de largura, comprimento e altura, na região próxima à medula (Interno), na região mediana (Intermediário) e na região próximo à casca (Externo).

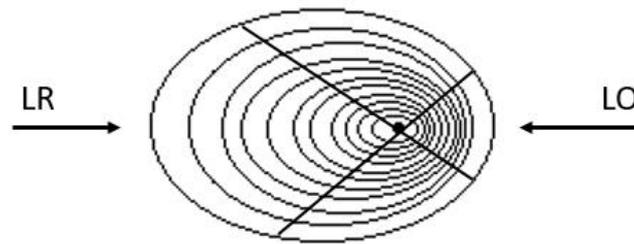


Figura 5: Esquema da obtenção dos corpos-de-prova para as análises.

4.4. Morfologia e distribuição dos cristais

4.4.1. Microscopia Óptica

As amostras foram preparadas sendo previamente saturadas em água destilada e orientadas nos planos transversal, longitudinal radial e longitudinal tangencial, para secionamento com aproximadamente 20 μm de espessura, em micrótomo de deslize MICRON HM 450 (Figura 6)

Os cortes foram transferidos para uma lâmina de vidro e conservados para posteriores análises de frequência e química dos cristais.

Para facilitar a identificação dos elementos anatômicos, os quais os cristais estão presentes, os cortes foram corados com safranina (JOHANSEN, 1940).

O software Image-Pro Plus, auxiliou na contagem dos cristais, por quadrantes e por elemento estrutural, a fim de se obter a frequência dos mesmos.

As imagens foram capturadas através de uma câmera acoplada ao microscópio, no aumento de 10x e quando transferidas para o Image-Pro Plus, foi preciso calibrar a ferramenta "Grid Mask".

Ao final da contagem, os dados foram transferidos para uma planilha do Excel, onde foi possível verificar a frequência de cristais por mm^2 .



Figura 6: Micrótomo de deslize.

4.4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As seções foram dispostas em lâminas e secas ao ar a fim de utilizar o aparelho de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), HITACHI TM3000 (Figura 7). Após a secagem, as mesmas foram fixadas em fita adesiva e posteriormente foram realizadas imagens mais detalhadas dos cristais presentes na madeira em estudo, para fim de caracterização morfológica baseada nas recomendações do IAWA Committee (1989).



Figura 7: Microscópio eletrônico de varredura.

4.4. Análise histoquímica

Para conhecer a composição química dos cristais na madeira de seringueira, foi realizado o teste de solubilidade em ácido clorídrico. Para isso foram feitos cortes do plano transversal nas regiões de lenho de reação e lenho oposto.

Foi utilizada solução de ácido clorídrico (10%) e observado se os cristais são solúveis na presença do mesmo. Cristais de carbonato de cálcio dissolvem-se apresentando efervescência, enquanto os cristais de oxalato de cálcio não apresentam tal fenômeno ao dissolver-se (CHAMBERLAIN, 1932; ARDUIN; KRAUS, 1997). Foram utilizadas três repetições em cada posição radial (Interna, Intermediária e Externa), nos dois tipos de lenho.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Morfologia dos cristais

Com o auxílio do MEV, foi possível observar os cortes anatômicos com maior riqueza de detalhes (Figura 8). Sendo assim, foi identificada a morfologia dos cristais presentes na madeira de *Hevea brasiliensis*.

Dentre os cinco tipos de cristais mais frequentes em células vegetais, foi observado o formato prismático entre os elementos de vaso (Figura 8B), parênquima axial (Figura 8E) e parênquima de raio (Figura 8F). Apenas não foram encontrados cristais nas fibras.

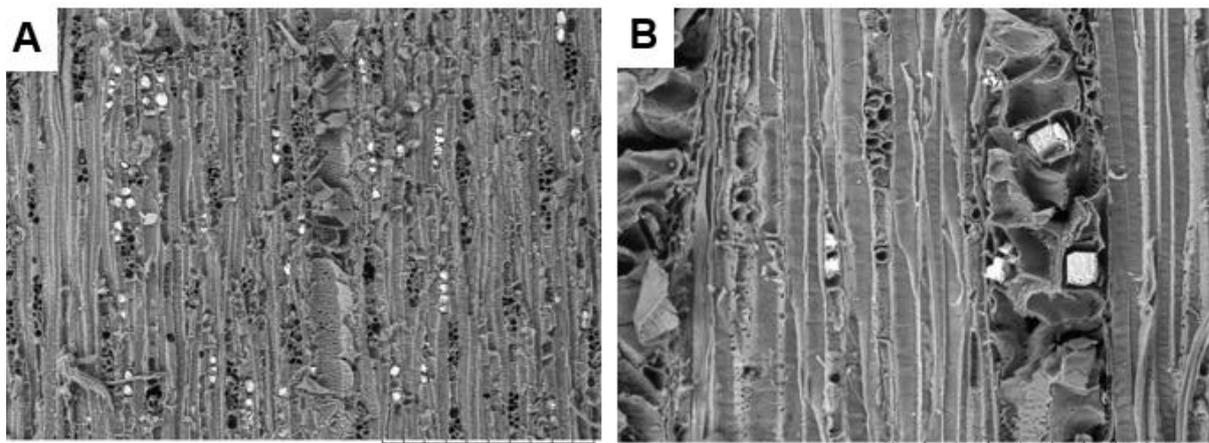
Nas imagens de microscopia óptica foi observada a presença de mais de um cristal em células de raio, de parênquima axial e de vaso nos planos de corte transversal e longitudinal radial (Figura 9).

Alguns cristais se apresentaram em tamanhos distintos dentro de uma mesma célula como, por exemplo, nos poros. Zindler-Frank (1975) comenta que o tamanho e o número de cristais de oxalato de cálcio respondem a alterações na concentração de cálcio no ambiente da planta.

Também foi observado o aparecimento de cristais nos poros obstruídos por tilose.

A presença dos cristais associados à tilose na madeira da seringueira pode estar relacionada à um reforço estrutural, análogo à esclerificação da parede celular, proporcionando um suporte mecânico durante o crescimento, visto que as tiloses observadas apresentaram parede secundária.

Dentre as três posições observadas, a posição interna, de baixa atividade fisiológica, ou seja, no cerne, apresentou tilose associados aos cristais. Assim como apresentou também na posição intermediária, sendo menos abundante. Já os poros da posição externa, região onde há maior atividade fisiológica, não apresentaram ambos os fenômenos.



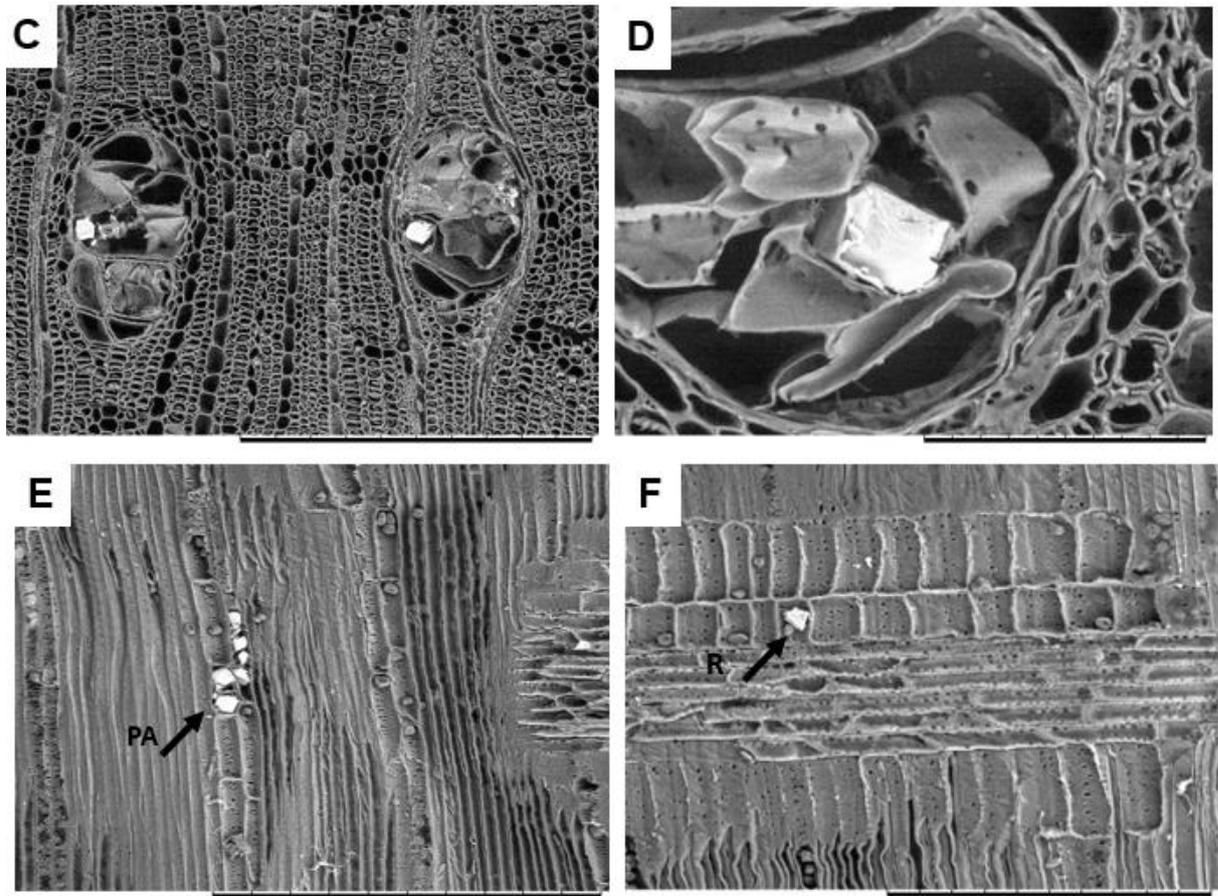


Figura 8: Imagens obtidas no MEV.

Em A, observa-se a presença de cristais no plano longitudinal tangencial. Em B, o formato prismático dos cristais presentes na tilose, ainda no plano longitudinal tangencial. Em C, a presença de cristais nos poros obstruídos por tilose, no plano transversal. Em D, a imagem mais detalhada do cristal na tilose, no plano transversal. Em E e F, aparecem no parênquima axial e na célula quadrada de raio, respectivamente, ambos no plano longitudinal radial.

Barras: A, C e E = 500 μ m; B e F = 300 μ m; D = 100 μ m. **PA:** Parênquima Axial; **R:** Raio.

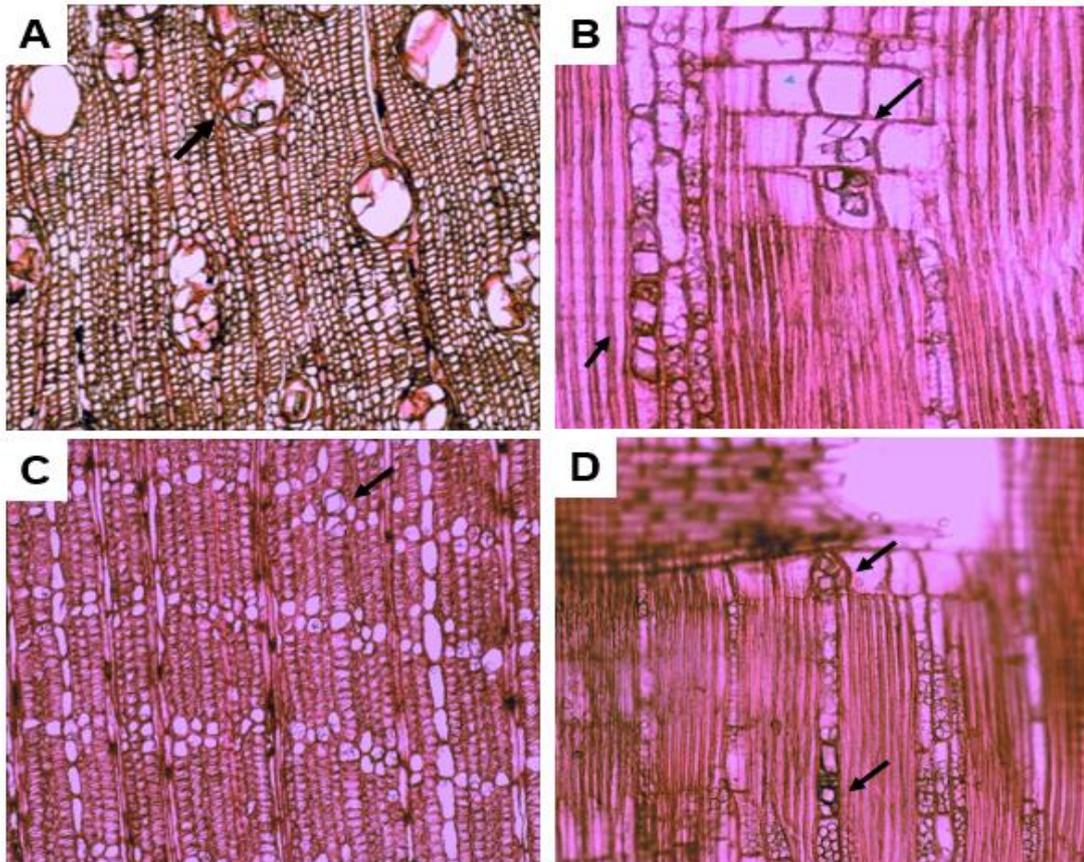


Figura 9: Imagens de microscopia óptica (aumento 10x).

Em A, podem ser observados até cinco cristais prismáticos dentro do poro (seta) e em C, apenas um cristal solitário, no plano transversal. Em B e D, destacam-se mais de um cristal nas células quadradas de raio e em células de parênquima axial (setas), no plano longitudinal radial.

5.2 Frequência e distribuição de cristais nos elementos anatômicos

Após a contagem no software Image-Pro Plus, obteve-se a tabela 1, na qual é possível observar a maior frequência de cristais nos corpos-de-prova correspondentes à posição interna, ou seja, próximos à medula, independente dos lenhos de reação ou oposto.

Gradativamente a frequência diminui, como pode ser notado nas posições intermediárias quando comparadas às internas, com exceção do lenho de reação da árvore 1 e o lenho oposto da árvore 2.

Nas posições externas, àquelas próximas à casca, a frequência diminuiu substancialmente.

Schneider (1901) pesquisou a distribuição de cristais em diferentes tecidos e concluiu que, na maioria dos casos, a presença dos cristais de oxalato de cálcio apontou para uma função de suporte mecânico.

Dentre os elementos estruturais, destaca-se a maior frequência, por milímetro quadrado, nos parênquimas axiais, sequencialmente nos elementos de vaso, sendo nas fibras a frequência nula.

Os lenhos de reação e oposto não apresentaram relações significativas com a frequência de cristais na madeira de seringueira.

Tabela 1: Frequência de cristais de acordo com as posições e os lenhos de *Hevea brasiliensis*.

Árvore	Lenho	Posição	Frequência Total (n/mm ²)
1	LR	Interna	7
		Intermediária	9
		Externa	2
	LO	Interna	7
		Intermediária	2
		Externa	1
2	LR	Interna	12
		Intermediária	5
		Externa	0
	LO	Interna	9
		Intermediária	9
		Externa	0

5.3 Análise histoquímica

A partir da análise histoquímica, realizada nos cortes do plano transversal, com ácido clorídrico, notou-se a dissolução gradativa dos cristais presentes no lenho de *Hevea brasiliensis*, sem o efeito de efervescência, indicando que os mesmos são compostos por oxalato de cálcio e não de carbonato de cálcio. Visto que Evert (2006) afirma que os cristais mais comuns são os de oxalato de cálcio, que ocorrem na maioria das famílias de plantas.

6. CONCLUSÕES

A partir das análises realizadas no presente estudo, pode-se concluir que:

Foi identificado o formato prismáticos presente nos elementos de vaso, parênquima axial e parênquima radial do lenho de *Hevea brasiliensis*, sendo esse o formato mais comum em madeiras.

O único elemento estrutural onde os cristais foram ausentes foi a fibra.

Em células de parênquima axial e de parênquima radial, foram observados mais de um cristal presentes nas mesmas, bem como cristais de tamanhos distintos nos poros.

As observações dos cristais presentes nos poros chamaram a atenção para a relação do aparecimento dos mesmos em poros obstruídos por tilose.

A posição interna, próxima à medula, apresentou maior número de poros obstruídos por tilos com cristais associados. Enquanto que na posição externa não foi observada a presença de tilo e tampouco de cristais.

Com relação à frequência de cristais, também foi constatada a maior frequência na posição interna da madeira, independente dos lenhos correspondentes, como os de reação ou oposto.

Já com relação aos elementos anatômicos, destacaram-se as células de parênquima axial, que apresentaram a maior frequência de cristais por milímetro quadrado, seguido dos elementos de vaso.

A composição dos cristais prismáticos é de oxalato de cálcio.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. Anuário estatístico ABRAF 2013 ano base 2012 / ABRAF. – Brasília: 2013.

ALBUQUERQUE, C.; LATORRACA, J. Influência das características anatômicas da madeira na penetração e adesão de adesivos. **Floresta e Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 158–166, 2000.

ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (editoras). **Anatomia Vegetal**. 2ª ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 438p.

BORCHERT, R. Calcium acetate induces calcium uptake and formation of calcium-oxalate crystals in isolated leaflets of *Gleditsia triacanthos* L. **Planta**, v. 168, n. 4, p. 571-578, 1986.

BRUBAKER, C. L.; HORNER, H. T. Development of epidermal crystals in leaflets of *Stylosanthes guianensis* (Leguminosae; Papilionoideae). **Canadian Journal of Botany**, v. 67, n. 6, p. 1664-1670, 1989.

BUSH, D. S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. **Annual review of plant biology**, v. 46, n. 1, p. 95-122, 1995.

CHAMBERLAIN, C. J. **Methods in Plant Histology**. 5ª ed. The University of Chicago Press, Chicago, USA, 416 pp., 1932.

CHATTAWAY, M. M. Crystals in woody tissues: Part I. **Tropical Woods**, n. 102, p. 55-74, 1955.

CHATTAWAY, M. M. Crystals in woody tissues: Part II. **Tropical Woods**, n. 104, p. 100-124, 1956.

CORTEZ, J. V.; FRANCISCO, V. L. F. S.; BAPTISTELLA, C. S. L.; VICENTE, M. C. M.; ARAÚJO, H. C.; BENESI, J. F. C. Perfil sócio-econômico da heveicultura no município de Poloni, estado de São Paulo. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE HEVEICULTURA PAULISTA, 3. São José do Rio Preto, SP, 2002. **Anais**. São José do Rio Preto: SAA; APABOR, 2003. p. 10-28.

- COSTA, R. B.; GONÇALVES, P. de S.; ODALIA-RÍMOLI, A.; ARRUDA, E. J. Melhoramento e conservação genética aplicados ao desenvolvimento local – o caso da seringueira (*Hevea sp*). **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, p. 51-58, 2001.
- CUNHA, T. J. F.; BLANCANEAU, P.; BRAZ, C. F.; SANTANA, C. C. A. F.; PINHEIRO, G. N. C. P.; BEZERRA, L. E. M. Influência da diferenciação pedológica no desenvolvimento da seringueira no município de Oratórios, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.145-155, 2000.
- DEMARTY, M.; MORVAN, C.; THELLIER, M. Calcium and the cell wall. **Plant, Cell & Environment**, v. 7, n. 6, p. 441-448, 1984.
- DICKISON, W. C. **Integrative plant anatomy**. New York: Harcourt Academic Press. 2000.
- EVERT, R. F. **Esau's plant anatomy, Meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**, 3rd edn. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. 2006.
- FERRI, M. G. Botânica: Morfologia interna das plantas: Anatomia. 9ed. São Paulo: Nobel, 1988
- FINK, S. Unusual patterns in the distribution of calcium oxalate in spruce needles and their possible relationships to the impact of pollutants. **New Phytologist**, v. 119, n. 1, p. 41-51, 1991.
- FRANCESCHI, V. R.; HORNER, H. T. Calcium oxalate crystals in plants. **The Botanical Review**, v. 46, n. 4, p. 361-427, 1980.
- GIBSON, A. C. Comparative anatomy of secondary xylem in Cactoideae (Cactaceae). **Biotropica**, p. 29-65, 1973.
- GONÇALVES, P.S. Uma história de sucesso: a seringueira no Estado de São Paulo. **O Agrônomo**, Campinas, v.54, n.1, p.6-14, 2002.
- GONÇALVES, P. S.; PAIVA, JR de; SOUZA, RA de. **Retrospectiva e atualidade do melhoramento genético da seringueira (Hevea spp.) no Brasil e em países asiáticos**. EMBRAPA-CNPQSD, 1983.
- GOULART, S. L.; MORI, F. A.; RIBEIRO, A. DE O.; et al. Análises químicas e densidade básica da madeira de raiz, fuste e galho de barbatimão de [(*Stryphnodendron adstringens*) Coville] de bioma cerrado. **Cerne**, v. 18, n. 1, p. 59–66, 2012.
- HE, H.; VENEKLAAS, E. J.; KUO, J.; LAMBERS, H. Physiological and ecological significance of biomineralization in plants. **Trends in plant science**, p. 1–9, 2013.
- HODGKINSON, A. Oxalic acid metabolism in higher plants, in: A. Hodgkinson (Ed.), *Oxalic Acid Biology and Medicine*, Academic Press, New York, pp. 131_/158, 1977.
- HORNER, H. T.; WAGNER, B. L. Calcium oxalate formation in higher plants. **Calcium oxalate in biological systems**, v. 1, p. 53-72, 1995.
- IAWA COMMITTEE. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. **IAWA Bulletin**, v. 10, n. 3, p. 219-332, 1989.
- JOHANSEN, D. A. et al. Plant microtechnique. **Plant microtechnique**, 1940.

- KINZEL, H. Calcium in the vacuoles and cell walls of plant tissue: forms of deposition and their physiological and ecological significance. **Flora**, v. 182, n. 1-2, p. 99-125, 1989.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Edur, 1997.
- LEEUWENHOEK, A. Microscopical observations, **Philos. Trans. R. Soc. Lond.** 10 380_/385, 1975.
- LERSTEN, N. R. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, p. 973-981, 1974.
- LERSTEN, N. R.; HORNER, H. T. Calcium oxalate crystal types and trends in their distribution patterns in leaves of *Prunus* (Rosaceae: Prunoideae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 224, n. 1-2, p. 83-96, 2000.
- LIMA, R. S.; OLIVEIRA, P.; RODRIGUES, L. R. Anatomia do lenho de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae-Mimosoideae) ocorrente em dois ambientes. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 2, p. 361-374, 2009.
- MCNAIR, J. B. The interrelation between substances in plants: essential oils and resins, cyanogen and oxalate. **American Journal of Botany**, p. 255-272, 1932.
- MOLANO-FLORES, B. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany**, v. 88, n. 3, p. 387-391, 2001.
- NAKATA, P. A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, v. 164, n. 6, p. 901-909, 2003.
- PINO, F.A.; FRANCISCO, V.L.F.S.; MARTIN, N.B.; CORTEZ, J.V. Perfil da heveicultura no Estado de São Paulo, 1995-96. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.30, n.8, p.7-21, 2000.
- RAMOS, L. M. A. **Características anatômicas e histoquímicas do lenho de reação em *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.** 2014. 53 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ROSSMANN, H.; GAMEIRO, M.B.P.; PEREZ, P. A competitividade da borracha natural no Brasil. In: GAMEIRO, A.H. org. **Competitividade do agronegócio brasileiro: textos selecionados**. Santa Cruz do Rio Pardo, SP: Editora Viena, 2006. p. 218-235.
- SAKAI, W. S.; HANSON, M.; JONES, R. C. Raphides with barbs and grooves in *Xanthosoma sagittifolium* (Araceae). **Science**, v. 178, n. 4058, p. 314-315, 1972.
- SAMPAIO, J. Importância da heveicultura no Estado de São Paulo. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE HEVEICULTURA PAULISTA, 7, 2010, São José do Rio Preto. **Palestras...** São José do Rio Preto: APABOR, 2010. 2 p.
- SCHNEIDER, A. The probable function of calcium oxalate crystals in plants. **Botanical Gazette**, p. 142-144, 1901.
- SCURFIELD, G.; MICHELL, A. J.; SILVA, S. R. Crystals in woody stems. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 66, n. 4, p. 277-289, 1973.

- THURSTON, E. Laurence. Morphology, fine structure and ontogeny of the stinging emergence of *Tragia ramosa* and *T. saxicola* (Euphorbiaceae). **American Journal of Botany**, p. 710-718, 1976.
- TILLMAN-SUTELA, E.; KAUPPI, A. Calcium oxalate crystals in the mature seeds of Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst. *Trees*, v. 13, n. 3, p. 131-137, 1999.
- WALKER, J. C. F. Primary wood processing: principles and practice. **Springer Science & Business Media**, 2006.
- WEBB, M. A.; ARNOTT, H. J. A survey of calcium oxalate crystals and other mineral inclusions in seeds. **Scanning Electron Microscopy**, v. 3, p. 1109-31, 1982.
- ZHAO, Y. Promotion of rubberwood processing technology in the Asia-Pacific region. In: **Proceedings of ITTO/CFC International Rubberwood Workshop**. 2008.
- ZINDLER-FRANK, E. On the formation of the pattern of crystal idioblasts in *Canavalia ensiformis* DC. VII. Calcium and oxalate content of the leaves in dependence of calcium nutrition. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 77, n. 1, p. 80-85, 1975.
- ZINDLER-FRANK, E. Oxalate biosynthesis in relation to photosynthetic pathway and plant productivity—A survey. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 80, n. 1, p. 1-13, 1976.
- ZINDLER-FRANK, E. Calcium, Calcium Oxalate Crystals, and Leaf Differentiation in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)*. **Botanica Acta**, v. 108, n. 2, p. 144-148, 1995.