

MILENA DUTRA DA SILVA

**Estudo Farmacobotânico de Três Espécies
Medicinais da Caatinga em Pernambuco**

**RECIFE – PE
2008**

MILENA DUTRA DA SILVA

**Estudo Farmacobotânico de Três Espécies
Medicinais da Caatinga em Pernambuco**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientadora:

Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel

Conselheiro:

Dr. Haroudo Sátiro Xavier

**RECIFE – PE
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

S586e Silva, Milena Dutra da
Estudo Farmacobotânico de três
espécies medicinais da caatinga em Pernambuco /
Milena Dutra da Silva – 2008.
68.: il.

Orientadora: Rejane Magalhães de Mendonça
Pimentel.

Dissertação (Mestrado em Botânica) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco.
Departamento de Biologia.

Inclui bibliografia e anexo.

CDD 581.4

1. *Myracrodruon urundeuva*
2. *Sideroxylon obtusifolium*
3. *Zizyphus joazeiro*
4. metabólitos secundários
 - I. Pimentel, Rejane Magalhães de Mendonça
 - II. Título

MILENA DUTRA DA SILVA

**Estudo Farmacobotânico de Três Espécies Medicinais da
Caatinga em Pernambuco**

Dissertação defendida e aprovada com conceito _____ pela banca
examinadora:

Orientadora: _____
Prof. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel – UFRPE

Examinador: _____
Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira - UFPE

Examinador: _____
Profa. Dra. Karina Perrelli Randau - UFPE

Examinador: _____
Profa. Dra. Carmen Silvia Zickel

Suplente: _____
Profa. Dra. Jarcilene Silva de Almeida Cortez

**RECIFE - PE
2008**

À minha família, em especial aos meus pais, Geraldo Vicente e Marli Dutra.

“Cada vez que abro a porta de uma nova descoberta já encontro Deus lá dentro”.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

A Deus, por fazer o seu infinito amor e cuidado revelar-se a mim por meio de cada pessoa e instituições abaixo mencionadas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Ao corpo docente do período 2006-2008 e funcionários que contribuíram para o melhor aproveitamento das oportunidades de amadurecimento científico.

À Profa. Dra. Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel, pela orientação na realização deste trabalho, atuando como peça fundamental no meu amadurecimento como anatomista vegetal, e pelo grande incentivo à continuação desta caminhada em busca do aperfeiçoamento.

Ao Prof. Dr. Haroudo Sátiro Xavier, pela co-orientação na realização deste trabalho e por ceder o espaço físico do Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal de Pernambuco, bem como todo o necessário para realização das análises fitoquímicas.

À Profa. Dra. Karina Perreli Randau pelo grande auxílio nas análises fitoquímicas, procedimentos e interpretações, colaborando para meu amadurecimento como pesquisadora, com todos os questionamentos levantados relacionados a este estudo.

À Dra. Renata Strozi Meira pelas valiosas contribuições e sugestões para a melhoria deste trabalho.

Aos companheiros do Laboratório de Fitomorfologia Funcional (LAFF): Aurinete, Clébio, Isis, Graça e Gustavo, sem esquecer dos “ex-laffinianos” João e Priscila, por tornarem os problemas de percurso menores do que aparentavam, dividindo as cargas e pressões, unindo as forças para vencermos todos os desafios.

Ao amigo Leonardo Tabosa, pelo precioso auxílio na localização das espécies deste estudo em campo.

À Sra. Maria das Dores, por nos acolher em sua residência durante o período de coleta.

Aos amigos do PPGB da UFRPE, em especial aqueles que compartilharam da mesma turma de mestrado: Airton, Aurenívia, Clébio, Danilo, Eric, Ernani, Juarez, Juliana, Lidiane, Manoel, Márcio e Milton, além do doutorando Eduardo Almeida, por todos os auxílios na identificação taxonômica das espécies deste estudo.

A todos os meu amigos, em especial à Sheilane e à Domênica, por me darem força para fazer o necessário e por compreenderem a importância da conclusão de mais uma etapa em minha vida, fazendo com que o verbo “desistir” não fizesse parte do meu vocabulário.

À minha família, meu pai Geraldo e minha mãe Marli, por terem me apoiado e motivado, cada um à sua maneira, mas de formas muitíssimo valiosas para o alcance de mais um degrau.

Enfim, a todos que contribuíram, de forma direta ou indireta, para a realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figuras 1a – 1e. Secções paradérmicas e transversais da folha e caule de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	54
Figuras 1f – 1k. Secções paradérmicas e transversais da folha e caule de <i>Sideroxylon obtusifolium</i>	54
Figuras 1l – 1n. Secções paradérmicas e transversais da folha e caule de <i>Ziziphus joazeiro</i>	54
Figuras 2a – 2f. Resultados da histoquímica para evidenciação de compostos fenólicos e amido nos tecidos foliares e caulinares de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	55
Figuras 2g – 2h. Resultados da histoquímica para evidenciação de compostos fenólicos e amido nos tecidos foliares e caulinares de <i>Sideroxylon obtusifolium</i>	55
Figuras 2i – 2p. Resultados da histoquímica para evidenciação de compostos fenólicos e amido nos tecidos foliares e caulinares de <i>Ziziphus joazeiro</i>	55

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Sistemas Cromatográficos e reveladores utilizados para a prospecção fitoquímica de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , <i>Sideroxylon obtusifolium</i> e <i>Zizyphus joazeiro</i>	41
Tabela 2. Metabólitos presentes nos estratos metanólicos de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , <i>Sideroxylon obtusifolium</i> e <i>Zizyphus joazeiro</i>	57
Tabela 3. Histolocalização de metabólitos na folha, lâmina e pecíolo, e no caule de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	58
Tabela 4. Histolocalização de metabólitos na folha, lâmina e pecíolo, e no caule de <i>Sideroxylon obtusifolium</i>	59
Tabela 5. Histolocalização de metabólitos na folha, lâmina e pecíolo, e no caule de <i>Zizyphus joazeiro</i>	60

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	x
Resumo	xiii
Abstract	xiv
1. Introdução	15
2. Revisão de Literatura	17
2.1. Caatinga.....	17
2.2. Plantas Medicinais da Caatinga.....	19
2.3. Identificação e localização de Metabólitos.....	22
3. Referências Bibliográficas	27
4. Artigo: Anatomia e Identificação de Metabólitos em Três Espécies Medicinais da Caatinga.....	35
Resumo	37
4.1. Introdução	38
4.2. Material e Métodos	39
4.2.1. Anatomia.....	40
4.2.2. Fitoquímica.....	40
4.2.3. Histoquímica.....	41
4.3. Resultados.....	42
4.3.1. Anatomia.....	42
4.3.1.1. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão.....	42
4.3.1.2. <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T. D. Penn.....	43
4.3.1.3. <i>Zizyphus joazeiro</i> Mart.....	45
4.3.2. Fitoquímica.....	46
4.3.2.1. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão.....	46
4.3.2.2. <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T. D. Penn.....	46
4.3.2.3. <i>Zizyphus joazeiro</i> Mart.....	47
4.3.3. Histoquímica.....	47
4.3.3.1. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão.....	47
4.3.3.2. <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T. D. Penn.....	47
4.3.3.3. <i>Zizyphus joazeiro</i> Mart.....	48

4.4. Discussão.....	49
4.5. Agradecimentos.....	61
4.6. Referências bibliográficas.....	61
5. Anexos.....	68

RESUMO – *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae) e *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) são espécies nativas da caatinga, amplamente utilizadas como medicinais, especialmente de partes do caule de plantas adultas. Em sua grande maioria, eles são coletados de forma danosa, podendo ocasionar a morte do vegetal e, por conseguinte, a perda da biodiversidade. Este estudo objetivou caracterizar o perfil anatômico, histoquímico e fitoquímico dessas espécies, para certificação botânica, identificação e localização de acúmulo de metabólitos, comparando partes jovens de caule e folhas maduras em indivíduos jovens e adultos. Foram utilizados métodos usuais em anatomia vegetal, testes fitoquímicos para detecção das classes de metabólitos e testes histoquímicos específicos para compostos fenólicos, triterpenos e amido. *M. urundeuva* apresenta folhas anfiestomáticas com estômatos anomocíticos; tricomas unicelulares simples e glandulares, em maior quantidade sobre as nervuras; idioblastos com cristais prismáticos no parênquima esponjoso; ductos secretores associados ao floema na nervura principal da lâmina foliar, no pecíolo e no caule. *S. obtusifolium* apresenta folhas hipostomáticas com estômatos actinocíticos; tricomas tectores na lâmina foliar e no pecíolo; hipoderme uniestratificada, com idioblastos contendo drusas; esclereídeos no mesofilo; ductos de secreção na região medular do pecíolo e do caule. *Z. joazeiro* apresenta estômatos anomocíticos e tetracíticos, hipoderme uniestratificada, com idioblastos contendo drusas, células do esponjoso brachiformes, cristais prismáticos na nervura principal da folha, calotas de fibras gelatinosas no caule. *Z. joazeiro* apresentou moléculas de cumarinas e derivados cinâmicos no caule, apenas na planta adulta, as demais espécies apresentaram características comuns quanto à presença dos metabólitos e sua localização no caule e nas folhas, em indivíduos jovens e adultos. Isto indica que os metabólitos ocorrem em indivíduos com graus de desenvolvimento variado.

Palavras-Chave: *Myracrodruon urundeuva* - *Sideroxylon obtusifolium* - *Zizyphus joazeiro* - metabólitos secundários.

ABSTRACT – *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae) and *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) are native species of the caatinga, widely used as medicinal, specially parts from the stem bark of adult individuals. In general, it is collected hazardously and can let the plant to die and, consequently, reduce the biodiversity. This study aimed to characterize the anatomical, histochemical and phytochemical profile of these species, to the botanical certification, to identify and to localize the accumulation of the metabolites, comparing young stem and mature leaves in young and adult individuals. Usual methods in plant anatomy, phytochemical tests to detect the metabolites classes and specific phytochemical tests to phenolic compounds, iridoids and starch were made. *M. urundeuva* shows amphistomatic leaves with anomocytic stomata; unicellular simple and glandular trichomes, more abundant over the veins; idioblasts with prismatic crystals in the spongy parenchyma; secretory ducts associated with the phloem in the main vein of the leaf vein, in the petiole and in the stem. *S. obtusifolium* shows hypostomatic leaves with actinocytic stomata; tector trichomes in the leaf lamina and in the petiole; unistratified hypodermis, with idioblasts with druses; sclereids in the mesophyll; secretory ducts in the medulla of the petiole and the stem. *Z. joazeiro* shows anomocytic and tetracytic stomata, unistratified hypodermis, with idioblasts with druses, brachiform cells in the spongy parenchyma, prismatic crystals in the main vein of the leaf, cap of gelatinous fibers in the stem. *Z. joazeiro* shows cumarin molecules and cinamic derivatives in the stem, only in adult individuals. The other species show similar characteristics related to the metabolites in the stem and in the leaves, in young and adult individuals with different stadium of development.

Key-Words: *Myracrodruon urundeuva* - *Sideroxylon obtusifolium* - *Zizyphus joazeiro* - secondary metabolites.

1. Introdução

A evolução do conhecimento sobre as plantas e sua utilização pelo homem têm ocorrido através dos tempos. Civilizações primitivas perceberam a existência de plantas comestíveis e, além destas, plantas dotadas de maior ou menor toxicidade que, ao serem utilizadas no combate às doenças, revelaram, ainda que empiricamente, o seu potencial curativo (Cunha, 2006).

O Brasil é detentor do maior potencial e riqueza em biodiversidade do planeta, com uma extensão territorial de, aproximadamente, 8.500.000 km², com cerca de 40% de sua área coberta com flora nativa (Giulietti *et al.*, 2005; citados por Bieski, 2005), representando um patrimônio genético para futuro desenvolvimento de novos medicamentos de origem vegetal.

A diversidade de espécies medicinais encontradas nos biomas brasileiros constitui uma das mais importantes fontes de princípio ativo do planeta (Bieski, 2005). Martins (1995) aponta que o uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos tempos. Entre as vinte drogas mais vendidas nos EUA em 1988, apenas oito delas não eram derivadas diretamente de produtos naturais, mas ainda assim tinham a participação desses produtos em algum momento de sua produção (Ferreira, 2006).

Além da grande diversidade de espécies medicinais disponíveis, outro fator que motiva o investimento para a obtenção de remédios de origem vegetal é a diminuição do custo e do tempo de produção, já que medicamentos sintéticos, ou semi-sintéticos, possuem elevado custo de produção, pois têm como matéria-prima, em sua maioria, produtos importados. Devido ao alto custo de medicamentos, ou pela deficiência da rede pública de assistência

primária de saúde, mais de 80% da população brasileira não têm acesso aos medicamentos considerados essenciais (Barraca, 1999).

A planta medicinal, após sua coleta e processamento, transforma-se em uma droga vegetal que contém certo número de substâncias, em sua maioria, atuantes sobre o organismo humano (Rocha, 1998). O uso indiscriminado de plantas com fim terapêutico, sem o devido conhecimento e orientação médica, pode causar danos, muitas vezes irreversíveis, ao invés dos benefícios esperados. Estudos acerca da validação de espécies contendo compostos com efeitos terapêuticos são necessários, garantindo os efeitos curativos da planta, visando sanar, com maior eficiência, possíveis enfermidades.

Antes mesmo da exploração efetuada pela indústria, as plantas medicinais foram, e continuam sendo coletadas pela comunidade mais carente, para uso direto ou comercialização. Muitas vezes, essa coleta é realizada sem a devida orientação, tornando-se destrutiva. Leal *et al.* (2003) alertam para a forte ação devastadora no ambiente, como ocorre na caatinga, provocada pelo uso não-sustentável dos seus recursos naturais.

Só em Pernambuco, um levantamento preliminar, realizado em apenas quatro municípios, listou mais de 400 plantas com propriedades medicinais (Victor, 1990). Albuquerque & Andrade (2001) apontaram 36 famílias botânicas com espécies utilizadas como medicamento pela população local em um estudo etnobotânico em uma área de caatinga em Pernambuco. *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae) e *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae), espécies nativas da caatinga, são utilizadas com fins terapêuticos, sob a forma de extrato aquoso, especialmente partes do caule. Estas plantas têm o uso

amplamente difundido entre gerações e são conhecidas como eficientes antiinflamatórios, cicatrizantes, adstringentes, antidiabéticas, entre outras ações medicinais, tendo como parte vegetal utilizada para os fins mencionados o caule (casca), o qual, por muitas vezes, é obtido em coletas realizadas por pessoas sem instruções corretas para tal procedimento, possibilitando, conseqüentemente, a destruição da planta. Em casos comprovados acerca da presença de metabólitos secundários com aplicação medicinal relevante, o desaparecimento da espécie será progressivamente mais crítico ao longo do tempo, pois uma redução na biodiversidade vegetal não se limitará a apenas uma dada região.

Por estes motivos, este estudo objetiva caracterizar o perfil anatômico, histoquímico e fitoquímico de três espécies nativas da caatinga: *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro*, permitindo a identificação botânica da espécie utilizada, além da identificação e localização dos locais de acúmulo de metabólitos secundários, comparando partes jovens de caule e folhas maduras, em indivíduos jovens e adultos.

2. Revisão de Literatura

2.1 Caatinga

O ecossistema caatinga compreende uma área de, aproximadamente, 900.000 km², abrangendo parte dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais, chegando a ocupar 54% da região Nordeste e 11% das terras brasileiras (Andrade *et al.*, 2005).

A caatinga se caracteriza por apresentar um reduzido potencial hídrico no solo, precipitações escassas e irregulares, com acentuado período de estação seca, entre sete e dez meses (RADAMBRASIL, 1983). Os solos estão distribuídos em mosaico bastante dividido e com tipos diferenciados, variando em profundidade, fertilidade, salinidade e constituição mineralógica (Rodal *et al.*, 1992).

A flora nativa da caatinga apresenta espécies vegetais com caracteres anatômicos, morfológicos e funcionais especializados para a sobrevivência destas plantas às condições adversas de clima e solo, típicos desta fisionomia. A vegetação é composta por espécies lenhosas e herbáceas, de pequeno porte, muitas dotadas de espinhos, sendo, geralmente, caducifólias, e por cactáceas e bromeliáceas, com 596 espécies já registradas para esta formação, sendo 180 endêmicas, com densidade, freqüência e dominância determinadas pelas variações topográficas, tipo de solo e pluviosidade (Drumond *et al.*, 2000).

A caatinga tem sido extensamente devastada, em conseqüência do uso insustentável de seus recursos naturais (Leal *et al.*, 2003). Para estes autores, este fato é agravado por se tratar de um ecossistema menos valorizado, uma vez que sempre foi considerado pobre em biodiversidade. A elevação do índice de alteração da vegetação nativa e a exploração exacerbada dos recursos naturais têm aumentado os riscos de desertificação nas regiões do semi-árido (BRASIL, 1991).

Os estudos já realizados sobre a caatinga revelam que, além da importância biológica, este bioma encerra um considerável potencial econômico, com espécies de excelente uso como forragens, frutíferas e

medicinais (Albuquerque, 2001). Há uma vasta literatura regional sobre o uso das plantas na medicina popular (Albuquerque, 2000; Albuquerque & Andrade, 2002; Almeida & Albuquerque, 2002). Estudos têm comprovado a ação benéfica de muitas espécies ocorrentes neste bioma, promovendo o uso dos vegetais com efeito comprovado entre a população economicamente mais carente (Almeida & Albuquerque, 2002). Isto tem resultado na investigação dos princípios ativos pelas indústrias farmacêuticas (Bieski, 2005).

2.2 Plantas Medicinais da Caatinga

Uma planta é considerada medicinal quando o vegetal possui metabólitos com propriedades químicas associadas a algum tipo de ação farmacológica (Simões *et al.*, 1999). As substâncias ativas presentes nestas plantas medicinais são produtos do seu metabolismo (Rocha, 1998), os quais podem ser reunidos em dois grupos: os metabólitos primários, tais como carboidratos, aminoácidos e lipídeos, e os metabólitos secundários, resultantes da síntese dos metabólitos primários, tais como compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais e alcalóides, entre outros (Dourado, 2006). Estes metabólitos são responsáveis pelas propriedades medicinais ou tóxicas dos vegetais.

Os produtos do metabolismo secundário não estão envolvidos em funções vitais das plantas e, inicialmente, foram interpretados como meros resíduos do metabolismo. A realização de um maior número de estudos sobre esses metabólitos resultou na identificação de sua atuação no mecanismo de defesa dos vegetais, além de efeitos terapêuticos notáveis na população humana. A substância ativa presente em uma planta medicinal exerce um

melhor efeito sobre o organismo humano, quando comparada com a mesma substância obtida através de síntese química (Barraca, 1999).

Nas plantas medicinais existem substâncias eficientes como adstringente, antidiarréico, antiinflamatório, depurativo, diurético, febrífugo, calmante, antitumoral, contra hemoptises, no combate a distúrbios respiratórios, doenças da córnea, diabetes, entre outras (Degáspari *et al.*, 2004; Bornhausen, 2002; Lorenzi & Matos, 2002); é praticamente infundável a listagem completa de sua utilização fármaco-terapêutica. Martins (1995) atribui aos flavonóides, propriedade antiinflamatória, fortalecedora dos vasos capilares, antiesclerótica, anti-edematosa, dilatadora de coronárias, espasmolítica, anti-hepatotóxica, colerética e antimicrobiana. Os triterpenos atuam como bactericida, antivirótico, cicatrizante, analgésico, relaxante, expectorante e antiespasmódico e, aos taninos, ação adstringente e antimicrobiana (Martins, 1995).

Algumas das plantas medicinais conseguem sobreviver em condições adversas, como aquelas encontradas na caatinga, inclusive após longos períodos de estiagem. Como uma das estratégias de sobrevivência, as plantas aumentam a produção de metabólitos secundários. Dentre estas espécies, destacam-se pelo uso popular na caatinga pernambucana, o *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), o *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae) e o *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae).

Myracrodruon urundeuva, mais conhecida como aroeira, é uma das principais plantas utilizadas na medicina tradicional nordestina, secularmente conhecida por seu uso sob a forma de “banho-de-assento”, após o parto, com extrato aquoso do caule (casca). Árvore frondosa, com cerca de 5-10 m de

altura, possui folhas compostas, imparipinadas, com 5-7 pares de folíolos ovado-obtusos, pubescentes em ambas as faces da lâmina foliar, quando jovens (Lorenzi 1992). É indicada como antiinflamatória e cicatrizante no tratamento de ferimentos, gastrites, úlceras gástricas, cervicites, vaginites e hemorróidas (Lorenzi & Matos, 2002).

Sideroxylon obtusifolium, ou quixabeira, é amplamente empregada na medicina caseira no interior do Nordeste e, sendo fortemente ameaçada pelo extrativismo e comercialização, na falta de um projeto de manejo adequado (Agra 1996). Segundo Mors *et al.* (2000) e Braga (1976), a casca do caule e das raízes é a parte mais utilizada como adstringente, tônica, antiinflamatória e antidiabética. Essa planta apresenta porte arbóreo, altura variável entre 7 e 18 m, copa densa e ovalada, folhas simples, opostas, inicialmente espiraladas, coriáceas e glabras (Lorenzi, 1999; Lorenzi & Matos, 2002).

Zizyphus joazeiro, popularmente conhecido como juá, é objeto de exploração comercial e altamente valorizado, devido à sua utilização por importantes indústrias farmacêuticas, na fabricação de cosméticos, xampus anticaspa e creme dental (Lima, 2000; Matos, 2000). Sua utilização para assepsia bucal pela população é anterior à exploração industrial. Na medicina popular, é indicada no tratamento de gastrites, gripes, contusões e ferimentos (Lima, 2000). Braga (1976) e Lorenzi (1992) destacam a prática do cultivo de *Z. joazeiro* em pomares domésticos, em todo o Brasil. Essa espécie é nativa da caatinga arbórea (Prado & Gibbs, 2003), chegando a atingir 16 m de altura, com uma copa mais larga do que alta e espinhos fortes nos ramos (Lorenzi, 1992). Perenifólia, apresenta folhas inteiras, semi-coriáceas, elípticas, com três nervuras partindo da base da lâmina.

Embora a planta seja utilizada pela comunidade como medicamento eficaz e inofensivo, baseado em conhecimentos empíricos repassados de geração à geração, a determinação da real potencialidade fitoterápica e eventual toxicidade dessas espécies deve ser efetuada por meio de investigações fitoquímicas e farmacológicas específicas, além de análises histoquímicas (Frank-de-Carvalho & Graciano-Ribeiro, 2005).

2.3 Identificação e localização de metabólitos

A existência de diversas substâncias nos vários órgãos vegetais pode ser constatada através de ensaios histoquímicos, com a aplicação de diferentes técnicas (Fahn, 1979).

As técnicas histoquímicas para evidenciação de classes de metabólitos, como os compostos fenólicos totais, proantocianidinas, lignina, entre outras, podem ser aplicadas às secções de material fresco ou fixado (Johansen, 1940; Gabe, 1968; Sass, 1951 citado por Kraus & Arduin, 1997; Ricco, 2002). De acordo com esses autores, a coloração apresentada pelos tecidos vegetais e/ou estruturas submetidas aos reagentes específicos são características para a classe e propriedade dos produtos que se formam *in situ*, possibilitando a identificação dos metabólitos e seus locais de acúmulo, facilmente visualizados por microscopia óptica de luz.

Segundo Fahn (1979), os compostos fenólicos abrangem um grupo heterogêneo de substâncias presentes em quase todos os tecidos vegetais, podendo estar dissolvidos no vacúolo, no citoplasma, sob a forma de gotas, ou impregnando a parede celular. De acordo com Tomás-Barberán (1988), a detecção e a quantificação de compostos fenólicos são ferramentas que

auxiliam na identificação dos vegetais. Estes compostos atuam no vegetal como proteção contra o dessecamento e a herbivoria (Fahn, 1979), embora ainda existam dúvidas quanto à amplitude de sua ação.

Para a indústria farmacêutica, a localização de metabólitos nos tecidos e/ou determinadas células vegetais torna-se um fator de elevada importância, pois auxilia na indicação da melhor parte do vegetal a ser utilizada nas terapias. A indústria farmacêutica tem enfatizado a obtenção de padrões macro e microscópicos de drogas vegetais, resultantes do baixo custo e tempo reduzidos dos ensaios, além do alto grau de reprodutibilidade (Zanetti *et al.*, 2004). Tal procedimento viabiliza a validação do produto, indicando a sua qualidade e demonstrando que é cientificamente confiável para o uso farmacoterapêutico. Os estudos de validação das propriedades medicinais dos vegetais constituem uma exigência da Resolução Diretiva Colegiada (RDC), Nº 48, de 16 de março de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2004), a qual normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos como parte essencial das Boas Práticas de Fabricação, garantindo a qualidade de um medicamento (Aragão, 2006).

Em geral, quando submetidas a estresses ambientais, as plantas investem em estratégias químicas, aumentando o acúmulo dos compostos fenólicos em seus tecidos (Bussotti *et al.*, 1997) e desenvolvendo células especializadas, como os tricomas, muito importantes quando acumulam óleos essenciais (Alaimo, 2005). Muitos tipos de produtos de natureza lipofílica se acumulam nos tricomas glandulares (Fahn, 1979). Entre estas substâncias, estão os vários tipos de terpenos, incluindo os monoterpenos e os sesquiterpenos (Bussotti *et al.*, 1997).

De acordo com Riley & Kolattukudy (1975), Kolattukudy (1980), Wollenweber (1985) e Barnes & Cardoso-Vilhena (1996), compostos fenólicos estão presentes na cutícula e são liberados nas superfícies foliares de muitas espécies, permitindo que a cutícula torne-se, além de uma barreira física, um obstáculo químico que impede a entrada de bactérias e fungos fitopatogênicos (Mendgen, 1996).

Sob condições adversas, os vegetais podem, como tentativa de ajuste às oscilações do meio, aumentar o número de camadas do paliçádico, elevando, assim, o acúmulo de compostos fenólicos, com aumento da sua produção (Fahn, 1990).

Além das alterações que elevam a produção e/ou acúmulo de metabólitos no vegetal, há ainda, em algumas plantas, estruturas especializadas na produção e/ou transporte de compostos. Engler (1896) e Metcalfe & Chalk (1950) enfatizam a presença de ductos secretores de terpenos e polissacarídeos (ductos de gomorresina) como uma das características marcantes para a família Anacardiaceae, os quais ocorrem associados ao floema primário e secundário (Metcalfe & Chalk, 1950; Fahn, 1979; Carmello *et al.*, 1995; Machado & Carmello-Guerreiro, 2001). Da mesma forma, ductos secretores são encontrados nas espécies pertencentes à família Sapotaceae, somando-se a outros elementos anatômicos diagnóstico desta família (Metcalfe & Chalk, 1950). Castro (1997) ressalta a importância da realização de estudos das estruturas secretoras para o conhecimento da sua organização e funcionamento no corpo do vegetal, além da natureza química dos exsudados. Estas estruturas também foram investigadas por Fahn (1979; 1988), Bentley & Elias (1983) e Rodriguez *et al.* (1984).

Quanto aos taninos, Lorenzi & Matos (2002) indicam a presença dos tipos catéquico e pirogálicos, encontrados na periderme do caule de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), substâncias ativas que justificam o emprego desse vegetal como recurso medicinal.

Além dos taninos encontrados na periderme do caule de *Myracrodruon urundeuva*, Lorenzi & Matos (2002) indicam a presença de chalconas diméricas e outros flavonóides, todos biologicamente ativos. Zuanazzi (1999) classificou os flavonóides como pigmentos polifenólicos diversificados que exercem diversas funções no vegetal. São reconhecidos como eficientes protetores contra radiação UV (Price, 1977), encontrados nos tecidos foliares e precursores de cristais (Oliveira *et al.*, 2006). Essa classe de compostos fenólicos pode apresentar sabor amargo (Zuanazzi, 2000), protegendo o vegetal do ataque de cecidófagos.

Gros *et al.* (1985) relatam atividades farmacológicas de bioflavonóides contra a fragilidade capilar, como antiescleróticos e antiedematosos, como dilatadores das coronárias e com atividades fungitóxica, antihepatotóxica, colerética, estrógena e antimicrobiana. Morales & Lozoya (1994) afirmam que os efeitos espasmolítico e antidiarréico estão relacionados com o conteúdo de flavonóides, em particular dos derivados da quercetina, atuantes como antagonistas do cálcio nas fibras musculares lisas. De acordo com Pichl (1976), Schilling & Heiser Jr. (1981), Garg & Nes (1986) e Pasha & Sem (1991), vários compostos, como flavonóides, saponinas, proteínas e esteróides têm sido identificados e utilizados com fins quimiotaxonômicos.

Assim como as substâncias ativas encontradas no caule de *Myracrodruon urundeuva*, as particularidades anatômicas do caule, origem e

desenvolvimento da periderme são excelentes ferramentas para a identificação de plantas medicinais, podendo ser utilizadas em testes de validação (Bonzani, 2003).

Ao analisar o caule de *Spondias dulcis* (Anacardiaceae), Sant'Anna-Santos *et al.* (2006) observaram a presença de taninos nos idioblastos corticais do caule, com ductos que transportam óleos essenciais, polissacarídeos e compostos fenólicos. De acordo com Fonseca *et al.* (2006), tais compostos podem se acumular em células dos ductos foliares e caulinares.

Os saponosídeos, derivados triterpênicos, são freqüentes no caule de *Zizyphus joazeiro*. Presentes em Rhamnaceae, as saponinas são facilmente encontradas nas Sapotaceae, sendo as saponinas triterpênicas mais abundantemente encontradas nas dicotiledôneas (Robbers *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 2003).

O estudo intensivo das plantas medicinais, quanto aos seus aspectos fitoquímicos, histoquímicos e morfoanatômicos, fornece informações úteis na detecção de produtos fitoterápicos de qualidade, possibilitando a identificação de compostos terapêuticos e sua localização no vegetal. Estas informações são essenciais para indicar a melhor parte do vegetal a ser utilizada para a obtenção de compostos de interesse medicinal, informando a população acerca da utilização racional de um bem natural, minimizando o número de coletas e direcionando para uma coleta menos predatória, que pode levar a espécie à extinção.

3. Referências Bibliográficas

Agra MF. 1996. Plantas da Medicina Popular dos Cariris Velhos, Paraíba, Brasil. Editora União.

Alaimo MG, Vizzi D, Melati MR. 2005. Histochemical properties and trace element concentrations in *Parietaria* L. from urban sites (Palermo, Italy). *Aerobiologia* **21**:21–31.

Albuquerque UP. 2000. A etnobotânica no nordeste brasileiro. In *Tópicos atuais em Botânica*. Editado por Cavalcanti, T. B. e Walter, B. M. T. Brasília: EMBRAPA, São Paulo. Sociedade Botânica do Brasil. pp. 241-249.

Albuquerque UP, Andrade LHC. 2002. Uso de plantas em uma comunidade rural no semi-árido do estado de Pernambuco, município de Alagoinha (Nordeste do Brasil). *Interciência*. **26**(7): 336-346.

Almeida CFCB, Albuquerque UP. 2002. Uso e conservação de plantas medicinais no estado de Pernambuco: um estudo de caso no Agreste. *Interciência*. **26**(6): 276-285.

Andrade CA, Peitz C, Cúnico M, Carvalho JSL, Abrahão WM, Miguel OG, Miguel MD, Kerber VA. 2005. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. Ex. G. Don. Leguminosae-Mimosoideae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **15**(1): 13-15.

Aragão CFS. 2006. Controle de Qualidade de Medicamentos: Parte I - Análise de Fitoterápicos e sua Validação. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos. [online]. Retirado de <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/cqm.pdf>. [Acessado em 15 de abril de 2006].

Barnes JD, Cardoso-Vilhena J. 1996. Interactions between eletromagnetic radiation and cuticle. In *Plant cuticles: an integrated functional approach*. Edited by Kerstiens, G. Lancaster: Bios Scientific Publishers. pp. 157-174.

Barraca AS, Minami K. 1999. Relatório do Estágio Supervisionado Produção Vegetal-II: Manejo e Produção de Plantas Medicinais e Aromáticas. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luíz de Queiroz” Departamento de Produção Vegetal.

Bentley B, Elias T. 1983. *The biology of nectaries*. New York. Columbia University Press.

Bieski IGC. 2005. Plantas Medicinais e Aromáticas no Sistema Único de Saúde da Região Sul de Cuiabá-MT. Secretaria Municipal de Saúde de Cuiabá-Mt. Lavras Minas Gerais – Brasil.

Bonzani NE, Filippa EM, Barboza GE. 2003. Estudio anatómico comparativo de tallo en algunas especies de Verbenaceae. *Anales del Instituto de Biología*, Universidad Nacional Autónoma de México. **74(1)**: 31-45.

Bornhausen R. 2002. Ervas do sítio. Retirado de <http://www.ervasdositio.com.br/enciclopedia/enciclopedia.asp> [Acesso em 24 de janeiro de 2002].

Braga R. 1976. *Plantas do nordeste: especialmente do Ceará*. Natal: Fundação Guimaráes Duque. (Coleção Mossoroense, 42).

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. 1991. O desafio do desenvolvimento sustentado: Relatório do Brasil para a Conferência das Nações Unidas Sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento. Brasília.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF. Resolução RDC N^o 48.

Bussotti F, Bottacci A, Bartolesi A, Grossoni P, Tani C. 1995. Morpho-anatomical alterations leaves collected from beech trees (*Fagus sylvatica* L.) growing in conditions of natural water stress. *Environmental and Experimental of Botany*. **35**: 201-213.

Carmello SM, Machado SR, Gregório EA. 1995. Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. **18**: 95-103.

Castro MM, Leitão-Filho HF, Monteiro WR. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação do cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. **20**: 163-174.

Cunha AP. 2006. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes ativos e fitoterapia. Retirado de <http://www.antoniopecunha.com.sapo.pt>. [Acesso em 15 de maio de 2006].

Degáspari CH, Waszczyński N, Santos RJ. 2004. Atividade Antioxidante de Extrato de Fruto de Aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi). *Visão Acadêmica*. **5**(2): 83-90.

Dourado RS. 2006. Isolamento de compostos secundários em extratos de caules e folhas de *Hypericum cordatum* (Vell. Conc.) N. Robson (Clusiaceae). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo.

Drumond MA, Kill LHP, Lima PCF, Oliveira MC, Oliveira VR, Albuquerque SG, Nascimento CES, Cavalcante J. 2000. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. In *Workshop de avaliação e identificação de*

ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma caatinga. Petrolina, Embrapa/Cpatsa, UFPE e Conservation International do Brasil. pp. 47.

Engler A. 1896. *Anacardiaceae: anatomisches verhalten*. Leipzig: Die Natürlichen Pflanzenfamilien Bd. Tomo 3. pp. 139-140.

Fahn A. 1979. *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.

Fahn A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*. **108**: 229-257.

Fahn A. 1990. *Plant anatomy*. Oxford, Pergamon Press.

Fank-de-Carvalho SM, Graciano-Ribeiro D. 2005. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (Amaranthaceae). *Acta Botanica Brasilica*. **19**(2): 377-390.

Ferreira KP. 2006. Medicamentos. Retirado de [http:// www.abc.org.br/arquivos/medicamentos.pdf](http://www.abc.org.br/arquivos/medicamentos.pdf) . [Acesso em 05 de maio de 2006].

Fonseca MCM, Meira RMSA, Casali VWD. 2006. Anatomia dos Órgãos Vegetativos e Histolocalização de Compostos Fenólicos e Lipídicos em *Porophyllum ruderale* (ASTERACEAE). *Planta Daninha*. **24**(4): 707-713.

Gabe M. 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie 1113p.

Garg VK, Nes WR. 1986. Occurrence of D5-sterols in plants producing predominantly D7-sterols: studies on the sterol compositions of six Cucurbitaceae seeds. *Phytochemistry*. **25**(11): 25-47.

Gros EG, Pomilio AB, Seldes AM, Burton G. 1985. Introducción al estudio de los productos naturales. Washington, Universidade de Buenos Aires/ Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos.

Johansen DA. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York..523p.

- Kolattukudy PE. 1980.** Biopolyester membranes of plants: Cutin and suberin. *Science*. **208**: 990-999.
- Kraus J E, Arduin M. 1997.** *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR. 198 p.
- Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC. 2003.** *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Recife, Ed. Universitária da UFPE.
- Lima ISP, Viana GSB, Nobre MEP. 2000.** Estudo da ação dos taninos de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira do sertão) no modelo de úlcera induzida por indometacina. In *XXXV congresso brasileiro de farmacologia e terapêutica experimental*, Águas de Lindóia.
- Lorenzi H. 1999.** *Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. v.2 ed. Plantarum: Nova Odessa. SP.
- Lorenzi H. 1992.** *Plantas Medicinais no Brasil*. São Paulo, Instituto Plantarum,
- Lorenzi H, Matos FJA. 2002.** *Plantas medicinais no Brasil - nativas e exóticas*. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Machado SR, Carmello-Guerreiro SM. 2001.** Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Acta Botanica Brasilica*. **15**: 189-195.
- Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE. 1995.** *Plantas Medicinais*. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais.
- Matos FJA. 2000.** *Plantas medicinais: Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. 2ª ed. Fortaleza: UFC.
- Mendgen K. 1996.** Fungal attachment and penetration. In *Plant cuticles: an integrated functional approach*. Edited by Kerstiens, G. Lancaster: Bios Scientific Publishers. pp. 175-188.

- Metcalf CR, Chalk L. 1950.** *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford: Clarendon Press. v. 1.
- Morales MA, Lozoya X. 1994.** Calcium-antagonist effects of quercetin on aortic smooth-muscle. *Planta Medicinal.* **60**(4): 31-37.
- Mors WB, Rizzini CT, Pereira NA. 2000.** *Medicinal plants of Brazil*. Michigan: Reference Publications.
- Oliveira HG. 2003.** Respostas biológicas e comportamentais de *Thyrintaina arnobia* (Stoll, 1782) Lepidoptera:Geometridae) à defesa induzida de plantas de *Eucalyptus* spp. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Oliveira DC, Christiano JCS, Soares GLG, Isaias RMS. 2006.** Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawf. (Hemiptera: Psyllidae). *Revista Brasileira de Botânica.* **29**(4): 657-667.
- Pasha MK, Sen SP. 1991.** Seed protein patterns of Cucurbitaceae and their taxonomic implications. *Biochemical Systematics and Ecology.* **19**(7): 569-76.
- Pichl I. 1976.** Seed globulins of various species of Cucurbitaceae. *Phytochemistry.* **15**(5): 717-22.
- Prado DE, Gibbs PE. 1993.** Patterns of species distributions in the dry seasonal forest South America. *Annals of the Missouri Botanic Garden.* **80**: 902-927.
- Price PW. 1997.** General concepts on the evolutionary biology of parasites. *Evolution.* **31**: 405-420.
- RADAMBRASIL. 1983.** Levantamento de Recursos Naturais (anexo); folhas SC. 24/25 Aracaju/Recife. Vol. 30. Rio de Janeiro.

- Ricco RA, Sena GA, Vai VM, Wagner ML, Gurni AA. 2002.** Taninos Condensados de *Ephedra Chilensis* K. Presl (= *E. Andina* Poepp. Ex May.) – Ephedraceae. Unpublished. D. Phil. Thesis. Universidade Federal de Viçosa.
- Riley RG, Kolattukudy PE. 1975.** Evidence for covalently attached p-coumaric acid and ferulic acid in cutins and suberins. *Plant Physiology*. **56**: 650-654.
- Robbers JE, Speedie MK, Tyler VE. 1997.** *Farmacognosia e Farmacobiotecnologia*. Tradução Benedetti, I. C.; Editorial Premier: São Paulo.
- Rocha MA. 1998.** Fitoterapia. Retirado de <http://www.geocities.com/Athens/Parthenon/5140/Substveg.htm>. [Acessado em 15 de abril de 2006].
- Rodal MJN, Sampaio EVSB, Figueiredo MA. 1992.** *Manual sobre métodos de estudo florístico e fitossociológico: ecossistema caatinga*. Sociedade Botânica do Brasil. São Paulo.
- Rodriguez E, Healey PL, Mehta I. 1984.** *Biology and chemistry of plant trichomes*. New York, Plenum.
- Sant'Anna-Santos BF, Thadeo M, Meira RMSA, Ascensão L. 2006.** Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Revista Árvore*. **30**(3): 481-489.
- Schilling EE, Heiser Jr CB. 1981.** Flavonoids and the systematics of *Luffa*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **9**(4): 26-35.
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. 1999.** *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. 3 ed. Porto Alegre, Ed. FRGS/ Florianópolis, Ed. da UFSC. 576 p.
- Tomás-Barberán FA, Rejdali M, Harborne JB, Heywood VH. 1988.** External and vacuolar flavonoids from Ibero-North African *Sideritis* species. A chemosystematic approach. *Phytochemistry*. **27**: 165-170.

Trovão DMBM, Andrade LA, Fernandes PD. 2004. Estudo comparativo entre três fisionomias de Caatinga no estado da Paraíba e análise do uso das espécies vegetais pelo homem nas áreas de estudo. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. **4**: 86-93.

Wollenweber E. 1985. Exudate Flavonoids in higher plants of arid regions. *Plant Systematics and Evolution*. **150**: 83-88.

Zanetti GD, Manfron MP, Hoelzel SCS. 2004. Análise morfo-anatômica de *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae). *Iheringia*. **59**(2): 173-178.

Zuanazzi JAS. 1999. Flavonóides. In *Farmacognosia - Da planta ao medicamento*. 3a ed. Florianópolis: Editora da UFSC. pp. 197-220.

Zuanazzi JAS. 2000. Flavonóides. In *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 4 ed. Porto Alegre, Ed. FRGS/ Florianópolis, Ed. da UFSC. pp. 499-526.

4. Manuscrito – **Anatomia e Identificação de Metabólitos em Três Espécies Medicinais da Caatinga**

Manuscrito a ser enviado ao Botanical Journal of the Linnean Society

**Anatomia e Identificação de Metabólitos em Três Espécies Medicinais da
Caatinga¹**

Milena Dutra da Silva², Haroudo Sátiro Xavier³ e Rejane Magalhães de Mendonça
Pimentel²

¹Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora. Trabalho financiado pela FACEPE, CAPES, PPGb-UFRPE.

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Área de Botânica, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE. CEP: 52.171-900. dutra_ms@hotmail.com; pimentel@db.ufrpe.br

³Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Farmácia. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE - CEP: 50670-901.

RESUMO - A coleta destrutiva em plantas medicinais é comum na caatinga, promovendo a morte da planta e, conseqüente redução na biodiversidade natural. Este estudo caracteriza a estrutura anatômica de *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro* para identificação botânica e localização de acúmulo de metabólitos, comparando partes jovens de caule e folhas maduras em indivíduos jovens e adultos. Foram utilizados métodos usuais em anatomia vegetal, testes fitoquímicos e histoquímicos para identificação e localização de compostos fenólicos, terpenos e amido. Todas as espécies são anfiestomáticas. *M. urundeuva* apresenta estômatos anomocíticos, tricomas unicelulares simples e glandulares, em maior quantidade sobre as nervuras, idioblastos com cristais prismáticos no parênquima esponjoso, ductos secretores associados ao floema na nervura principal, pecíolo e caule. *S. obtusifolium* possui estômatos actinocíticos, tricomas tectores na lâmina foliar e no pecíolo, hipoderme uniestratificada, com idioblastos contendo drusas, esclereídeos no mesofilo, ductos secretores na medula do pecíolo e do caule. *Z. joazeiro* apresenta, estômatos anomocíticos e tetracíticos, hipoderme uniestratificada, com idioblastos contendo drusas; células do esponjoso são braciiformes; cristais prismáticos na nervura principal da folha e calotas de fibras gelatinosas no caule. Os metabólitos foram comuns aos indivíduos jovens e adultos de uma mesma espécie, com exceção de *Z. joazeiro* cujas moléculas de cumarinas e derivados cinâmicos estiveram presentes apenas em indivíduos adultos, no caule.

Palavras-chave: compostos fenólicos – histoquímica - *Myracrodruon urundeuva* - *Sideroxylon obtusifolium* - *Zizyphus joazeiro*.

INTRODUÇÃO

O crescente interesse no uso das plantas medicinais da caatinga evidencia sua potencialidade como ecossistema fornecedor de vegetais com propriedades fármaco-ativas. Em um levantamento etnobotânico realizado por Victor (1990) foram identificadas mais de 400 espécies utilizadas como medicinais pela população local, em apenas quatro municípios de Pernambuco.

Muitos vegetais estabelecidos na caatinga podem desenvolver caracteres morfológicos em resposta às pressões exercidas pelos diferentes fatores como o aumento do acúmulo de compostos fenólicos em seus tecidos (Bussotti *et al.*, 1997) e em células especializadas, como os tricomas (Alaimo, 2005).

Myracrodruon urundeuva Allemão (Anacardiaceae), aroeira-do-sertão; *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae), quixabeira; e *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae), juazeiro, são espécies nativas da caatinga (Lorenzi, 1992). Essas espécies compõem a vegetação arbórea dessa formação (Prado & Gibbs, 1993) e têm ampla utilização medicinal. A potencialidade sanativa de *M. urundeuva* é atribuída à propriedade fármaco-ativa dos compostos fenólicos, possibilitando sua eficaz utilização como antiinflamatória e cicatrizante (Lima, 2000). *S. obtusifolium* tem taninos e triterpenos como princípio ativo e é aplicada como antiinflamatório e antidiabético (Lorenzi & Matos, 2002; Naik *et al.*, 1991). Em *Z. joazeiro* as saponinas correspondem à classe de metabólitos que propicia o uso do vegetal no tratamento de gastrites e ferimentos (Mors *et al.*, 2000; Braga, 1976). Essas espécies têm seus princípios ativos facilmente obtidos por meio de extração aquosa (Lorenzi, 1992), o que diminui os custos para a sua obtenção. O fato mais preocupante está ligado ao método de coleta da casca do caule, o qual é, muitas vezes, realizado sem maiores cuidados, chegando a expor o floema à ação de microorganismos

fitopatogênicos, podendo levar o vegetal à morte e, por falta de um manejo sustentável, à extinção destas espécies.

Este estudo visa caracterizar a estruturação anatômica das plantas medicinais *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro*, permitindo a identificação da espécie utilizada, assim como a identificação dos metabólitos secundários e seus locais de acúmulo analisando, comparativamente, partes jovens de caule e folhas maduras em indivíduos jovens e adultos dessas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Em outubro de 2006, amostras de caule jovem e folhas maduras foram coletadas em indivíduos jovens e adultos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) (Almeida, E.B. e Silva, M.D. 848-PEUFR), *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D. Penn. (Sapotaceae) (Almeida, E.B. e Silva, M.D. 845-PEUFR) e *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae) (Almeida, E.B. e Silva, M.D. 849-PEUFR), ocorrendo espontaneamente em uma área de caatinga, na região limítrofe entre os municípios de Arcoverde, Buíque e Sertânia, no Estado de Pernambuco, Brasil (8° 24' S e 37° 03' W).

Foram consideradas plantas jovens, os indivíduos com até 1,50 metros de altura e até 10 cm de diâmetro, à altura do peito (DAP). Os indivíduos com dimensões superiores a estas foram considerados adultos.

De cada indivíduo (cinco replicatas), jovem e adulto, foram coletados dez ramos (40 cm de comprimento) mais expostos ao sol. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, mantidos em caixa de isopor contendo gelo, e levadas ao Laboratório de Fitomorfologia Funcional (LAFF) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Amostras de caule jovem (dez fragmentos) e folhas maduras (dez), de todas as espécies foram fixadas em FAA 50, por 48 horas (Johansen 1940). Foram

consideradas folhas adultas, aquelas inseridas a partir do quarto nó e com a lâmina foliar mais expandida, quando comparadas às demais folhas de um mesmo ramo.

Anatomia

Secções transversais foram confeccionadas, à mão livre, do caule e região mediana do pecíolo e da lâmina foliar. As secções foram clarificadas em solução comercial de hipoclorito de sódio a 50%, neutralizadas em água acética a 1:500, lavadas em água destilada, coradas com safranina e azul de astra (Bukatsch, 1972), montadas em glicerina a 50% (Johansen, 1940) e as lamínulas lutadas com esmalte de unhas incolor.

Para o estudo das epidermes, fragmentos foliares 1 mm^2 foram imersos em hipoclorito a 30% até dissociação, neutralizados em água acética a 1:500, lavados em água destilada, corados com safranina aquosa e montados em glicerina a 50% (Johansen, 1940).

Foram determinados o tipo e a densidade (mm^{-2}) de tricomas em cinco áreas, na região mediana da epiderme, nas faces adaxial e abaxial, em cinco folhas maduras, de três indivíduos jovens e três indivíduos adultos, por espécie.

A classificação do tipo estomático e de tricomas seguiu Metcalfe & Chalk (1983).

Todas as análises foram realizadas em imagens digitais obtidas sob microscópio de luz acoplado com câmera digital, utilizando o programa de análise de imagens *Image Tool* (Wilcox *et al.*, 2002).

Fitoquímica

Para verificar a presença de grupos de metabólitos, foram preparados extratos metanólicos a partir de 20 g de amostras de caule e folha, de indivíduos jovens e adultos de todas as espécies analisadas, submetidos a 100 mL de metanol para a extração.

Posteriormente, alíquotas de 10 µL dos vegetais foram analisadas por cromatografia em camada delgada (placas de gel de sílica Merck - Alemanha, Art.105554) com o emprego de diversas fases móveis e reveladores específicos (Tab. 1).

Tab 1. Sistemas Cromatográficos e reveladores utilizados para a prospecção fitoquímica de *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro*.

Metabólitos	Sistemas de Migração	Revelador	Referência
Alcalóides	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	Dragendorff	Wagner & Bladt (1996)
Triterpenóides e Esteróides	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:0,5:0,5:0,5v/v)	Lieberman/Burchard	Harborne (1998)
Iridóides	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	Vanilina sulfúrica	Wagner & Bladt (1996)
Saponinas	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	Vanilina sulfúrica	Wagner & Bladt (1996)
Açúcares redutores	n-BuOH-Me ₂ CO-Tampão fosfato pH= 5,0 (40:50:10v/v)	Trifeniltetrazólio	Metz (1961)
Cumarinas	Éter-tolueno-AcOH 10% (50:50:50v/v)	U. V. (365 nm)	Wagner & Bladt (1996)
Derivados cinâmicos	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	NEU	Wagner & Bladt (1996); Neu (1956)
Flavonóides	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	NEU	Wagner & Bladt (1996); Neu (1956)
Fenilpropanoglicosídeos	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	NEU	Wagner & Bladt (1996)
Proantocianidinas condensadas e Leucoantocianidinas	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27v/v)	Vanilina clorídrica	Roberts <i>et al.</i> (1957)
Mono e sesquiterpenos	AcOEt-tolueno (3:97v/v)	Vanilina sulfúrica	Wagner & Bladt (1996)

Histoquímica

Secções histológicas, realizadas à mão livre, de extremidades caulinares e da porção mediana da folha e do pecíolo, de indivíduos jovens e adultos das espécies selecionadas foram submetidas a reagentes tradicionais para investigação histoquímica: (a) lugol (Johansen, 1940), para histolocalização de amido (carboidrato de reserva); (b) sudan III (Sass, 1951 citado por Kraus & Arduin, 1997), para lipídios totais; (c)

dicromato de potássio (Gabe, 1968), para compostos fenólicos totais; (d) floroglucina ácida (Johansen, 1940), para ligninas; e (e) vanilina clorídrica (Ricco, 2002), para evidenciação de taninos.

RESULTADOS

Anatomia

Myracrodruon urundeuva (Anacardiaceae)

A folha é anfiestomática, com estômatos anomocíticos (Fig. 1a); na face adaxial estão, exclusivamente, próximos às nervuras. A epiderme é unisseriada e as células mostram contorno reto a levemente sinuoso em vista frontal. Em ambas as faces da epiderme são encontrados tricomas unicelulares simples, com ápice agudo e base circundada por células epidérmicas em roseta, e tricomas glandulares, com duas células epidérmicas basais, pedúnculo unicelular encimado por duas camadas de quatro células (Fig. 1b), distribuídos em maior quantidade sobre as nervuras. As folhas dos indivíduos jovens apresentaram densidade equivalente a $3,46 \text{ mm}^{-2}$, para tricomas simples, e $2,43 \text{ mm}^{-2}$, para tricomas glandulares. Os indivíduos adultos apresentaram densidade de tricomas igual a $4,94 \text{ mm}^{-2}$ e $2,13 \text{ mm}^{-2}$, em tricomas simples e glandulares, respectivamente.

O mesofilo é dorsiventral, com uma camada de parênquima paliádico e três a quatro camadas de parênquima esponjoso. No mesofilo, feixes vasculares de médio porte apresentam calotas de fibras sobre o floema. Presença de ductos secretores (Fig. 1c) e idioblastos contendo drusas, além de idioblastos com cristais prismáticos no parênquima esponjoso.

A nervura principal, em vista transversal, tem forma biconvexa, revestida por epiderme semelhante àquela descrita para a lâmina foliar. Subjacente ao tecido de

revestimento existem cerca de cinco camadas de colênquima lamelar na face adaxial e três camadas na face oposta. No parênquima fundamental são observados três grupos de feixes vasculares, com xilema mais interno ao floema, sendo dois diminutos e um maior, separados por células parenquimáticas. Três ductos secretores, com amplo lúmen, estão associados ao floema do feixe vascular de maior tamanho e outros três a cinco ductos secretores, não associados ao floema, estão presentes no parênquima fundamental da nervura principal (Fig. 1d).

O pecíolo é levemente achatado junto à face adaxial e convexo na face abaxial. São visualizados tricomas simples ao longo de toda a epiderme. Os feixes vasculares são semelhantes àqueles encontrados na nervura principal. Os ductos secretores também estão associados ao floema, como descritos para a nervura principal. Idioblastos com cristais prismáticos, isolados ou agrupados em uma única célula, são encontrados no parênquima cortical do pecíolo.

O caule apresenta contorno circular, revestido por epiderme unisseriada, contendo tricomas unicelulares simples. No parênquima cortical encontram-se idioblastos contendo cristais prismáticos. Presença de calotas de fibras esclerenquimáticas interrompidas por células de parênquima. O cilindro vascular apresenta 15 feixes separados por raios parenquimáticos unisseriados. No cilindro vascular, ductos secretores estão no parênquima sobre o floema (Fig. 1e). Ainda associados ao floema, são encontrados idioblastos com cristais prismáticos. O parênquima medular está constituído por células incolores.

Sideroxylon obtusifolium (Sapotaceae)

As células epidérmicas, em vista frontal, apresentam paredes anticlinais retas, em ambas as faces e estômatos actinocíticos (Fig. 1f). A epiderme é unisseriada e recoberta

por cutícula fina; estômatos apenas na face abaxial, onde também são encontrados tricomas tectores com densidade igual a $7,74 \text{ mm}^{-2}$ em indivíduos jovens e $27,72 \text{ mm}^{-2}$ em indivíduos adultos. Os tricomas possuem pedúnculos unicelulares, encimados por uma única célula alongada horizontalmente (Fig. 1g).

No mesofilo, em vista transversal, as células epidérmicas apresentam cristais prismáticos com forma cúbica. Mais internamente à face adaxial ocorre uma hipoderme uniestratificada, com idioblastos contendo drusas (Fig. 1h). O parênquima clorofiliano é dorsiventral, com quatro a cinco camadas de células de parênquima paliádico e três a quatro camadas de parênquima esponjoso. Esclereídeos percorrem toda a espessura do mesofilo, indo de uma epiderme à outra (Fig. 1i). Os feixes vasculares das nervuras secundárias estão protegidos por várias camadas de fibras.

A nervura principal tem forma plano-convexa com epiderme similar àquela já descrita para a lâmina foliar. Imediatamente abaixo da epiderme existem duas camadas de colênquima lamelar, na face adaxial, e cerca de três camadas na face oposta. No parênquima fundamental são encontrados muitos ductos de secreção (Fig. 1j). O feixe vascular é do tipo bicolateral, envolto por fibras esclerenquimáticas.

O pecíolo é plano-convexo, com duas pequenas projeções arredondadas na face adaxial. A epiderme é semelhante àquela descrita para a lâmina foliar. Ocorrem tricomas tectores ao longo de toda a epiderme, em maior quantidade na face abaxial. No parênquima cortical existem idioblastos com drusas e esclerócitos, além de muitos ductos secretores. Os feixes vasculares mostram organização estrutural semelhante àquela presente na nervura principal.

O caule apresenta contorno circular, com epiderme unisseriada e cutícula espessa, com início de formação de periderme. Na epiderme existem tricomas simples. Ductos de secreção estão dispersos no córtex (Fig. 1k). O sistema vascular está circundado por

fibras esclerenquimáticas, com cerca de 20 raios vasculares. No floema, as fibras floemáticas estão distribuídas aleatoriamente.

Zizyphus joazeiro (Rhamnaceae)

A epiderme foliar, em vista frontal, mostra células com paredes anticlinais retas em ambas as faces epidérmicas e, transversalmente, é unisseriada com cutícula fina. As células são visivelmente maiores na face adaxial, quando comparadas àquelas da face abaxial. As folhas são hipoestomáticas, com estômatos localizados em um nível ligeiramente abaixo daquele das demais células epidérmicas, do tipo anomocítico e tetracítico (Fig. 1*l*). São evidenciados tricomas simples, preferencialmente sobre as nervuras, com densidade igual a $1,85 \text{ mm}^{-2}$ em folhas maduras de indivíduos jovens e adultos.

No mesofilo, logo abaixo da epiderme adaxial, existe uma hipoderme uniestratificada, com idioblastos contendo drusas (Fig. 1*m*). Dorsiventral, o mesofilo apresenta duas camadas de parênquima paliçádico e quatro camadas de parênquima esponjoso. As células do esponjoso são braciiformes, apresentando, por vezes, grandes espaços intercelulares.

A nervura principal é plano-convexa, com epiderme semelhante àquela já descrita, com idioblastos contendo cristais prismáticos. A epiderme é seguida por quatro camadas de colênquima lamelar na face adaxial e três camadas na face abaxial. O sistema vascular é colateral em forma da letra “U”, recoberto por uma calota de fibras esclerenquimáticas sobre o floema.

O pecíolo é plano-convexo, com epiderme unisseriada, semelhante àquela anteriormente descrita, onde ocorrem raros tricomas simples. No parênquima cortical são visualizados idioblastos com cristais de tamanho e forma diferenciados. Os feixes

vasculares são colaterais, dispostos em forma de “U” e estão revestidos por uma calota de fibras sobre o floema.

O caule apresenta contorno circular, com epiderme unisseriada e cutícula espessa, com início de formação de periderme. No parênquima cortical são encontradas calotas de fibras gelatinosas, interrompidas a intervalos regulares, por células de parênquima (Fig. 1n). O cilindro vascular apresenta 15 feixes separados por raios parenquimáticos unisseriados.

Fitoquímica

A análise fitoquímica do caule e da folha de indivíduos jovens e adultos de *Myracrodruon urundeuva* permitiu constatar-se que as partes analisadas possuem compostos semelhantes quanto à presença de flavonóides, mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas, além de açúcares. Derivados cinâmicos estiveram presentes apenas no caule (Tab. 2). Não foram detectadas moléculas de alcalóides, cumarinas, fenilpropanoglicosídeos, iridóides e saponinas em nenhuma das amostras analisadas (Tab. 2).

Em *Sideroxylon obtusifolium* foram observados flavonóides, mono e sesquiterpenos, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas, triterpenos e esteróides e açúcares. As partes analisadas apresentam-se semelhantes quanto à presença desses metabólitos, porém, o caule das plantas adultas apresentou uma variedade maior de proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas e açúcares do que o visualizado em plantas jovens (Tab. 2). Este mesmo fenômeno foi observado também para as folhas, quanto às moléculas de proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas, que foram mais abundantes em folhas de plantas adultas (Tab. 2).

Não foram constatados em nenhuma das partes analisadas alcalóides, cumarinas, derivados cinâmicos e fenilpropanoglicosídeos, iridóides e saponinas nessa espécie.

Zizyphus joazeiro apresentou em todas as partes vegetais saponinas, mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides, e açúcares. Moléculas de flavonóides estiveram presentes apenas nas folhas (Tab. 2). Derivados cinâmicos foram observados apenas no caule de plantas adultas (Tab. 2). Moléculas de cumarinas foram encontradas exclusivamente no caule de plantas adultas. Não foram encontradas moléculas de fenilpropanoglicosídeos ou iridóides em nenhuma das partes analisadas para esta espécie.

Histoquímica

Nas folhas de *Myracrodruon urundeuva*, quando submetidas ao sudan III, a cutícula reagiu mostrando uma coloração avermelhada, indicando sua natureza lipofílica (Fig. 2a). O revestimento do caule também reagiu ao Sudan III, tanto a epiderme quanto a periderme. Na folha e no caule são encontrados compostos fenólicos evidenciados pela reação ao dicromato de potássio (Figs. 2b, c), à vanilina clorídrica (Fig. 2d) e ao floroglucinol (Fig. 2e), revelando a presença de compostos fenólicos totais, tanino e lignina, respectivamente, localizados em tecidos específicos (Tab. 3). Grãos de amido estão presentes em algumas células parenquimáticas, próximas aos feixes vasculares, evidenciados pelo teste com lugol (Fig. 2f). Os testes histoquímicos, em indivíduos jovens e adultos, apresentaram resultados semelhantes, sendo identificados compostos fenólicos, lipídeos e amido.

Sideroxylon obtusifolium apresenta células epidérmicas lipofílicas (Tab. 4) na lâmina foliar, pecíolo e caule, devido à reação positiva, evidenciada pela coloração avermelhada após o uso de sudan III. Além de evidenciar a cutina e a suberina na

epiderme, este mesmo reagente revelou a natureza lipídica do material exsudado pelas células secretoras encontradas nos ductos do caule, pecíolo e nervura principal da folha (Fig. 2g). Compostos fenólicos totais foram encontrados nas folhas e caule (Fig. 2h); após reação com vanilina clorídrica e floroglucinol foi evidenciada a presença de taninos e lignina, respectivamente (Tab. 4). Os taninos foram evidenciados nas células do parênquima clorofiliano do mesófilo e na periderme do caule (Fig. 2i); lignina foi encontrada nos vasos de xilema e fibras esclerenquimáticas (Fig. 2j). No pecíolo, algumas poucas células do parênquima cortical, mais próximas ao floema, e nas células dos raios parenquimáticos, no caule, grãos de amido foram revelados na presença de lugol (Fig. 2k). Indivíduos jovens e adultos mostraram resultados semelhantes para todos os testes histoquímicos aplicados. Foram identificados compostos fenólicos, lipídeos e amido (Tab. 4).

A epiderme da folha e do caule de *Zizyphus joazeiro* reagiu positivamente ao sudan III, evidenciando a presença de cutina e suberina, respectivamente. Compostos fenólicos totais foram detectados apenas na epiderme e periderme do caule, após teste com dicromato de potássio (Fig. 2l). A reação positiva à vanilina clorídrica indica que a periderme é de natureza tanífera (Fig. 2m). Quando submetidos ao floroglucinol, o xilema e as fibras esclerenquimáticas reagiram para a presença de lignina (Tab. 5), com intensa coloração na nervura principal, pecíolo e caule (Figs. 2n, 2o). No caule, algumas células dos raios parenquimáticos e do parênquima cortical apresentam grãos de amido revelados na presença de lugol (Fig. 2p). Os testes histoquímicos, em indivíduos jovens e adultos, apresentaram resultados semelhantes. Foram identificados compostos fenólicos, lipídeos e amido (Tab. 5).

DISCUSSÃO

Os caracteres anatômicos descritos para a lâmina foliar, pecíolo e caule de *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro* estão de acordo com as descrições existentes em Metcalfe & Chalk (1950), permitindo a identificação dos indivíduos utilizados neste estudo.

O contorno das células epidérmicas, em vista frontal, de todas as espécies em estudo, variou de reto a levemente sinuoso; este fato indica uma resposta à influência do meio, apesar de pertencerem a famílias distintas. Para Wagner *et al.* (2000), Metcalfe & Chalk (1950), Cutter (1986) e Raven (1996), a intensidade luminosa e a umidade são fatores externos que exercem influência significativa no grau de sinuosidade das paredes nas células da epiderme, por ocasião da definição de sua forma e tamanho.

A presença de estômatos nas faces adaxial e abaxial em *Myracrodruon urundeuva* é divergente dos resultados obtidos por Martínez-Millan & Cevallos-Ferriz (2005). Para estes autores, a espécie tem folhas hipoestomáticas; esta divergência pode ser resultante da baixa frequência destas estruturas na face adaxial, somada à localização restrita às áreas mais próximas às nervuras.

Todas as espécies apresentaram mesofilo dorsiventral, embora o número de estratos do parênquima clorofiliano tenha sido variável. De acordo com Metcalfe & Chalk (1979), o número de estratos do parênquima paliçádico pode variar entre espécies, podendo, também, ocorrer variações em indivíduos de uma mesma espécie. Para Nobel (1991), os fatores ambientais podem afetar a anatomia foliar, sobretudo durante o seu desenvolvimento, ocasionando mudanças na arquitetura do mesofilo.

A presença de esclereídeos no mesofilo de *Sideroxylon obtusifolium* se constitui em caractere diagnóstico auxiliar para a identificação dessa espécie, uma vez que os

esclereídeos não são elementos anatômicos comuns para as Sapotaceae (Jorge *et al.*, 2006). Estes autores encontraram esclereídeos dispostos em “tabiques”, ao analisar a anatomia foliar de *Achras sapota* L. (Sapotaceae), indicando que a presença destas células, em tal disposição, seria consequência de uma seleção genética que evitaria o colapso das paredes celulares em situações de estresse hídrico, fato que também pode estar ocorrendo em *S. obtusifolium*.

Fahn (1979), Joel & Fahn (1980a, 1980b, 1980c), Nair *et al.* (1983), Venkaiah & Shah (1984), Venkaiah (1992) e Carmello *et al.* (1995) investigaram ductos secretores em indivíduos da família Anacardiaceae, enfatizando, principalmente, a ontogenia, anatomia, ultraestrutura e o processo de secreção, sendo escassas as informações quanto à natureza química dos exsudados e caracterização dos idioblastos.

Ductos secretores associados ao tecido vascular, como os encontrados em *Myracrodruon urundeuva*, também são mencionados na descrição do caule de outras espécies de Anacardiaceae, como *Spondias dulcis* (Sant’Anna-Santos, 2006), *Anacardium spruceanum* (Paula & Alves, 1973), *Lithraea molleoides* (Carmello *et al.*, 1995), *Schinus terebinthifolius* (Venning, 1948), *Protorhus namaquensis* (Von Teichman & Van Wyk, 1994) e *Mangifera indica* (Venning, 1948). Para Engler (1896) e Metcalfe & Chalk (1950), os ductos secretores associados ao floema são característicos para espécies pertencentes à família Anacardiaceae.

Quanto à presença de metabólitos secundários em indivíduos com diferentes graus de amadurecimento, há registro na literatura de que a idade e o desenvolvimento do vegetal, bem como dos seus órgãos, em particular, podem exercer influência sobre a quantidade total dos metabólitos produzidos e nas proporções relativas dos componentes da mistura (Hendriks *et al.*, 1997; Evans, 1986; Vogt & Gutz, 1994). Havendo, ainda, registros da presença de determinado metabólito apenas em uma fase da vida vegetal

(Schmidt *et al.*, 1998; Menkovic, 2000), corroborando com o perfil fitoquímico de *Zizyphus joazeiro*, a qual apresentou cumarina e derivados cinâmicos, presentes apenas no caule do indivíduo adulto. Estes compostos podem atuar na maximização do potencial da referida espécie para sanar gastrites e ferimentos, já atribuído às saponinas, por sua ação antifúngica e antibactericida (Taiz & Zeiger, 1991), pois as cumarinas também têm propriedades antioxidantes (Martin-Aragon *et al.*, 1996) e os derivados cinâmicos agilizam a cicatrização (Negrel *et al.*, 1996).

Myracrodruon urundeuva e *Sideroxylon obtusifolium* não diferiram quanto ao perfil fitoquímico encontrado no caule jovem e folhas maduras de seus indivíduos jovens e adultos. De acordo com Hendriks *et al.* (1997), este fato indica que a produção e/ou acúmulo dos metabólitos têm início na fase jovem, continuada na fase adulta.

A presença de compostos fenólicos, sobretudo taninos, detectados nas células dos ductos secretores das folhas de indivíduos jovens e adultos de *Myracrodruon urundeuva* não foram encontrados nas células dos ductos do caule; apenas resquícios foram ocasionalmente encontrados no lúmen desses ductos. Para Venkaiah & Shah (1984) e Sant'Anna-Santos (2006), a secreção produzida pelas células do ducto ocorre em eventos cíclicos, após a liberação do secretado acumulado nas células, dando início a uma nova síntese e armazenamento, fato aparentemente não relacionado à idade do vegetal. O mesmo fenômeno explicaria a presença de compostos fenólicos apenas no lúmen dos ductos secretores do caule de *Sideroxylon obtusifolium*, aqui observada.

Os compostos fenólicos estiveram presentes em tecidos e estruturas diversas em todas as espécies estudadas. Segundo Esau (1985) e Fahn (1979), os compostos fenólicos totais constituem um grupo heterogêneo de substâncias presentes em quase todos os tecidos vegetais, dissolvidos no vacúolo, em forma de gotas no citoplasma ou impregnando a parede celular. De acordo com estes autores, esse grupo de metabólitos

está relacionado com a proteção da planta quanto ao dessecamento e ataque de animais, haja vista a presença de lignina e taninos, principais responsáveis por tais efeitos.

A presença de compostos fenólicos, em ductos associados ao floema e em células do parênquima, atua em indivíduos jovens e/ou adultos como uma importante estratégia de proteção da planta contra a ação de patógenos, os quais, acumulados em feridas, evitam a dessecação, putrefação e posterior destruição, além de proteger o vegetal contra a predação (Souza & Marquete, 2000). A presença de taninos nas espécies aqui investigadas justifica a indicação terapêutica na fitoterapia popular, como antiinflamatórios e cicatrizantes, como afirmado por Lorenzi & Matos (2002).

O tecido esclerenquimático e as células do xilema das espécies estudadas apresentam lignificação, variando quanto à intensidade, de acordo com a maturação do órgão analisado. De acordo com Abreu (1994), a luminosidade pode interferir nas atividades enzimáticas, promovendo a formação da fenilalanina e tirosina; a presença de enzimas em tecidos diferenciados catalisa a desaminação dessas substâncias para a síntese de unidades monoméricas aromáticas precursoras da lignina. Segundo Pyykkö (1966), o esclerênquima é abundante nas plantas de ambientes secos, ocorrendo em profusão nas folhas da espécie perenifólia da caatinga, como o *Zizyphus joazeiro*.

Embora os vegetais mostrem variação química e anatômica em seus órgãos durante seu desenvolvimento (Fahn, 1985; Esau, 1985; Cutter, 1986), aparentemente, não existem registros acerca de diferenças quanto à presença de metabólitos em tecidos do caule e folha, com graus de desenvolvimento similar entre indivíduos com idades distintas, em espécies da caatinga, como *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro*.

Considerando os resultados da histoquímica, diferentes classes de metabólitos ocorrem no caule e folha de indivíduos jovens e/ou adultos. A maioria destes

metabólitos esteve presente no caule, desde o início de sua formação, ou seja, em porções herbáceas de caule, em indivíduos jovens e adultos, do mesmo modo que ocorreu em folhas maduras de indivíduos jovens e adultos.

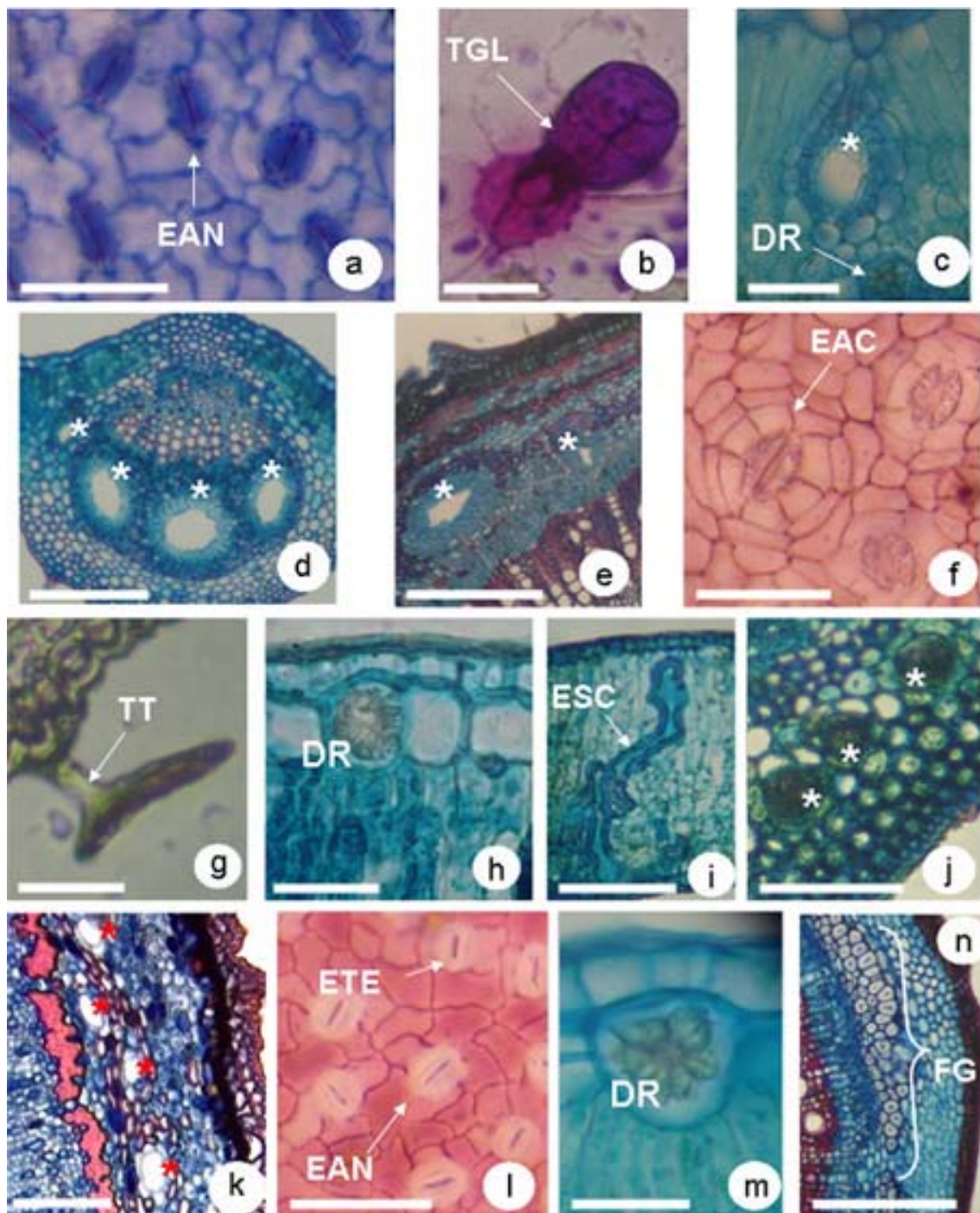


Figura 1. Secções paradérmicas e transversais da folha e caule de *Myracrodruon urundeuva* (a-e), *Sideroxylon obtusifolium* (f-k) e *Zizyphus joazeiro* (l-n). a. Face abaxial com estômatos anomocíticos (EAN). b. Tricoma glandular (TGL). c. Ductos secretores (*) e idioblastos contendo drusas no mesófilo. d. Ductores secretores (*) associados ao floema na nervura principal. e. Ductos secretores (*) sobre o floema no no cilindro vascular do caule. f. Face abaxial com estômatos actinocíticos (EAC). g. Tricoma tector (TT). h. Hipoderme com idioblastos contendo drusa (DR). i. Esclereídeos (ESC) no mesófilo. j. Ductos secretores (*) na nervura principal da folha. k. Ductos secretores (*) na região cortical do caulecípale. l. Face abaxial com estômatos anomocíticos (EAN) e tetracíticos (ETE). l. Hipoderme com idioblastos contendo drusa (DR). m. Fibras gelatinosas (FG) nos parênquima cortical do caule. Barra a = 50µm. Barras b-e = 50µm. Barra g = 30µm. Barra h = 20µm. Barras i e j = 100µm. Barra k = 100µm. Barra l = 50µm. Barra m = 20µm. Barra n = 300µm.

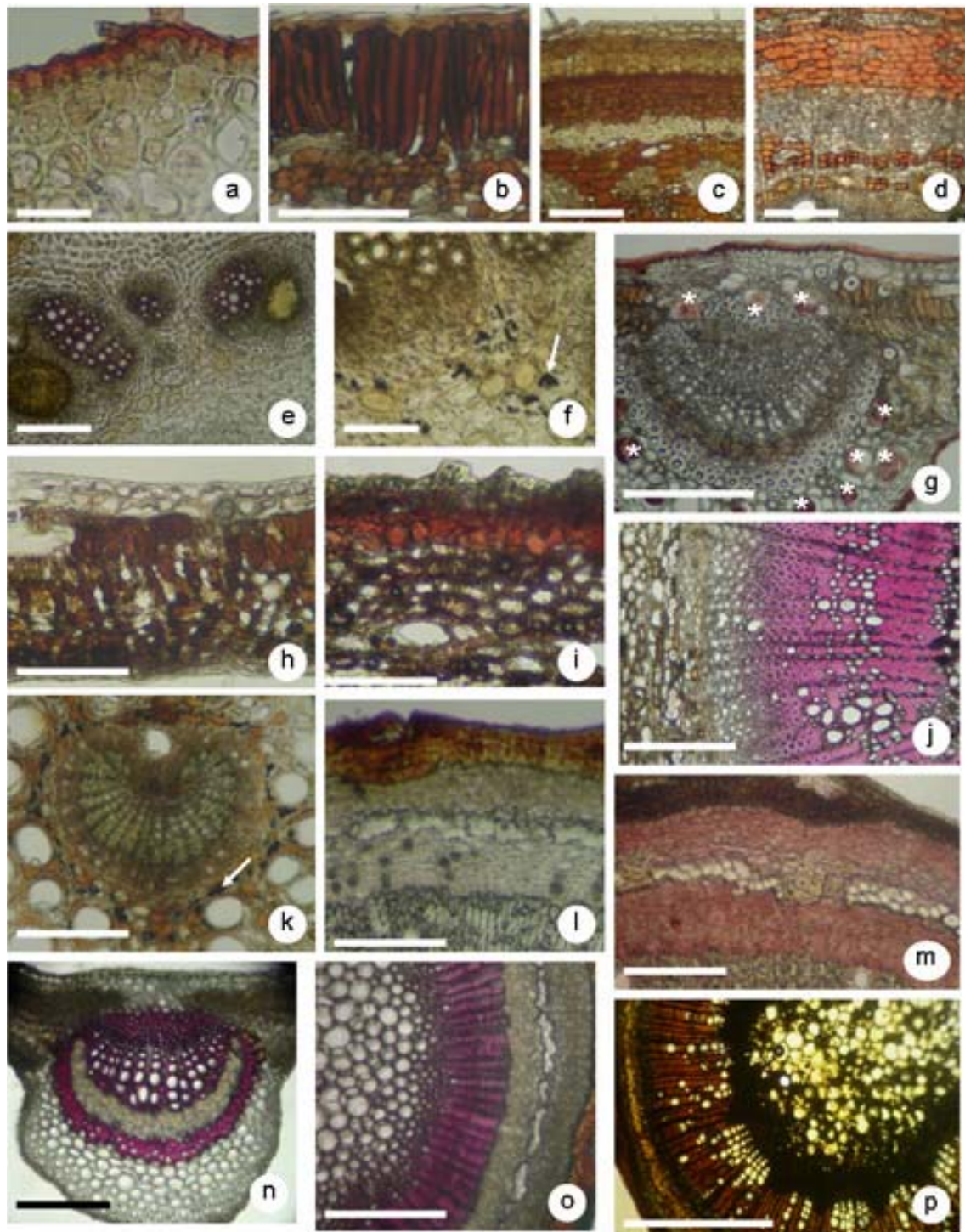


Figura 2. Investigação histoquímica de compostos fenólicos, lipídeos e amido nos tecidos foliares e caulinares de *Myracrodruon urundeuva* (a-f), *Sideroxylon obtusifolium* (g-h) e *Zizyphus joazeiro* (i-p). a. Cutícula do pecíolo (vermelho=cutina) . b. Parênquima paliçádico (vermelho= compostos fenólicos totais). c. Periderme e parênquima cortical do caule (vermelho= compostos fenólicos totais). d. Células da periderme e do parênquima cortical do caule (vermelho= taninos). e. Fibras e vasos do xilema no pecíolo (arroxeado= lignina). f. Células parenquimáticas próximas aos feixes vasculares do pecíolo (negro= amido (SETA)). g. Cutícula no pecíolo e material exsudado dos ductos (*) da folha (vermelho= lipofílicos). h. Mesófilo (vermelho= compostos fenólicos totais). i. Periderme e parênquima cortical do caule (vermelho= taninos). j. Fibras e vasos de xilema no caule (arroxeado= lignina). k. Células parenquimáticas próximas aos feixes vasculares do pecíolo (negro= amido (SETA)). l. Células peridérmicas do caule (vermelho= compostos fenólicos totais). m. Células da periderme e do parênquima cortical do caule (vermelho= taninos). n-o. Fibras esclerenquimáticas e vasos do xilema da folha e do

caule (arroxeadado= lignina). *p*. Parênquima medular e células dos raios parenquimáticos (negro= amido)
.Barras *a* e *b* = 100µm. Barras *c* e *d* = 300µm. Barras *e-h* = 100µm. Barras *i* e *j* = 300µm. Barras *k* =
100µm. Barra *l* = 300µm. Barras *m-n* = 100µm. Barras *o-p* = 300µm.

Tabela 2. Metabólitos presentes nos estratos metanólicos de *Myracrodruon urundeuva*, *Sideroxylon obtusifolium* e *Zizyphus joazeiro*. (-) reação negativa. (+) reação positiva. (++) reação positiva intensa. (+++) reação positiva intensa com mais de duas moléculas. (++++) reação positiva intensa com mais de três moléculas.

Metabólitos	<i>Myracrodruon urundeuva</i>				<i>Sideroxylon obtusifolium</i>				<i>Zizyphus joazeiro</i>				
	Caule		Folha		Caule		Folha		Caule		Folha		
	J	A	J	A	J	A	J	A	J	A	J	A	
Alcalóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Flavonóides	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Fenilpropanoglicosídeos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Iridóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mono e Sesquiterpenos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Proantocianidinas condensadas e Leucoantocianidinas	+	+	+	+	+	++	++	++++	-	-	-	-	-
Triterpenos e Esteróides	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Açúcares	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+
Derivados cinâmicos	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Tabela 3. Histoquímica da folha, lâmina e pecíolo, e do caule de *Myracrodruon urundeuva*. (+) reação positiva intensa. (-) reação negativa. (+/-) reação positiva discreta.

Parte do vegetal	Dicromato K	Sudan III	Lugol	Floroglucina	Vanilina clorídrica
<i>Folha</i>					
<u>Lâmina</u>					
Epiderme	+	+	-	-	+
Tricomas	-	-	-	-	-
Paliçádico	+	-	-	-	+
Esponjoso	+	-	-	-	+
Ductos mesófilo	+	-	-	-	+/-
Ductos córtex	+	-	-	-	+/-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	+	-
Parênquima cortical	+	-	-	-	+
<u>Pecíolo</u>					
Epiderme	-	+	-	-	-
Tricomas	-	-	-	-	-
Parênquima cortical	+	-	+	-	+
Ductos no córtex	+	-	-	-	-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	+/-	-
<i>Caule</i>					
Sistema de revestimento	+	+	-	-	+
Parênquima cortical	+	-	-	-	+
Ductos no córtex	-	-	-	-	-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	+	-

Tabela 4. Histoquímica da folha, lâmina e pecíolo, e do caule de *Sideroxylon obtusifolium*. (+) reação positiva intensa. (-) reação negativa. (+*) reação positiva para os raios parenquimáticos do floema. (+**) reação positiva apenas para algumas células do parênquima próximas ao floema. (+***) reação positiva para os raios parenquimáticos do xilema.

Parte do vegetal	Dicromato K	Sudan III	Lugol	Floroglucina	Vanilina clorídrica
<i>Folha</i>					
<u>Lâmina</u>					
Epiderme	-	+	-	-	-
Hipoderme	-	-	-	-	-
Tricomas	-	-	-	-	-
Paliçádico	+	-	-	-	+
Esponjoso	+	-	-	-	+
Ductos mesófilo	-	-	-	-	-
Parênquima cortical	-	-	-	-	-
Ductos no córtex	-	-	-	-	-
Floema	+ *	-	-	-	+ *
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	+	-
Material exudado	-	+	-	-	-
<u>Pecíolo</u>					
Epiderme	-	+	-	-	-
Tricomas	-	-	-	-	-
Parênquima cortical	+	-	+ **	-	+
Ductos no córtex	-	-	-	-	-
Floema	+ *	-	-	-	+ *
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	+	-
Material exudado	-	+	-	-	-
<u>Caule</u>					
Epiderme/Periderme	+	+	-	-	+
Parênquima cortical	+	-	+ **	-	+
Ductos no córtex	+	-	-	-	-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	+ ***	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	-	-

Tabela 5. Histoquímica da folha, lâmina e pecíolo, e do caule de *Zizyphus joazeiro*. (+) reação positiva intensa. (-) reação negativa. (+**) reação positiva apenas para algumas células do parênquima próximas ao floema.

Parte do vegetal	Dicromato K	Sudan	Lugol	Floroglucina	Vanilina clorídrica
<i>Folha</i>					
<u>Lâmina</u>					
Epiderme	-	+	-	-	-
Hipoderme	-	-	-	-	-
Tricomas	-	-	-	-	-
Paliçádico	-	-	-	-	-
Esponjoso	-	-	-	-	-
Ductos no mesofilo	-	-	-	-	-
Parênquima cortical	-	-	-	-	-
Ductos no córtex	-	-	-	-	-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	-	-
Material exsudado	-	-	-	-	-
<u>Pecíolo</u>					
Epiderme	-	+	-	-	-
Tricomas	-	-	-	-	-
Parênquima cortical	-	-	+**	-	-
Ductos no córtex	-	-	-	-	-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	-	+	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	-	-
Material exsudado	-	-	-	-	-
<i>Caule</i>					
Epiderme/Periderme	+	+	-	-	+
Parênquima cortical	-	-	-	-	-
Ductos córtex	-	-	-	-	-
Floema	-	-	-	-	-
Xilema	-	-	-	+	-
Parênquima medular	-	-	+	-	-
Fibras esclerenquimáticas	-	-	-	+	-

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós Graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa para o primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu dos S. 1994. *Biossíntese da lignificação*. Ed. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.

Alaimo, MG, Vizzi D, Melati MR. 2005. Histochemical properties and trace element concentrations in *Parietaria* L. from urban sites (Palermo, Italy). *Aerobiologia* **21**:21-31.

Alquini YBC, Boeger MRT, Costa CG, Barros CF. 2006. *Epiderme*. In Anatomia vegetal. Editado por Appezzato-da-Glória, B. e Carmello-Guerreiro, S.M. 2006. (Ed.). Universidade Federal de Viçosa. p. 87-108.

Braga R. 1976. *Plantas do nordeste: especialmente do Ceará*. Natal: Fundação Guimarães Duque. (Coleção Mossoroense, 42).

Bukatsch F. 1972. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablau-safranin. *Mikrokosmos*, Stuttgart, **61**(8): 255.

Bussotti F, Grossoni P, Bottacci A. 1997. Sclerophylly in beech (*Fagus sylvatica* L.) trees: its relationship with crown transparency, nutritional status and summer drought. *Forestry*. **70**: 267-271.

Carmello SM, Machado SR, Gregório EA. 1995. Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. **18**: 95-103.

- Cormack PGH, Gorham AL. 1953.** Effects of exposure to direct sunlight upon the development of leaf structure of two deciduous shrub species. *Canadian Journal of Botany*. **31**(5): 537-541.
- Costa CG. 1989.** *Morfologia e anatomia dos órgãos vegetativos em desenvolvimento de Marcgravia polyantha Delp. (Marcgraviaceae)*. São Paulo, Universidade de São Paulo.
- Cronquist A. 1981.** *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York.
- Cutter EG. 1986.** *Anatomia vegetal: células e tecidos*. São Paulo, Roca.
- Engler A. 1896.** *Anacardiaceae: anatomisches verhalten*. Leipzig: Die Natürlichen Pflanzenfamilien Bd. Tomo 3. pp. 139-140.
- Esau K. 1960.** *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo: Edgard Blücher.
- Esau K. 1974.** *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo, Edgard Blücher, 2^a ed.
- Esau K. 1985.** *Anatomia vegetal*. Omega, Barcelona.
- Fahn A. 1979.** *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.
- Fahn A. 1985.** *Anatomía Vegetal*. Ediciones Pirámide S.A., Madrid.
- Fahn A. 1990.** *Plant anatomy*. Oxford, Pergamon Press.
- Fahn A, Cutler DF. 1992.** *Xerophytes*. Gebrüder Borntraeger. Berlin, Stuttgart.
- Gabe M. 1968.** *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie 1113p.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. 2007.** Plantas Mediciniais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. *Química Nova*. **30**(2): 374-381.
- Gratani L. 1993.** Response to microclimate of morphological leaf attributes, photosynthetic and water relations of evergreen sclerophyllous shrub species. *Photosynthetica*. **29**: 573-582.
- Harbone JB. 1998.** *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. New York: Chapman and Hall.

- Joel DM, Fahn A. 1980a.** Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). 1. Differentiation and senescence of the shoot ducts. *Annals of Botany*. **46**: 225-233.
- Joel DM, Fahn A. 1980b.** Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). 2. Resin secretion in the primary stem ducts. *Annals of Botany*. **46**: 779-783.
- Joel DM, Fahn A. 1980c.** Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). 3. Secretion of the protein-polysaccharide mucilage in the fruit. *Annals of Botany*. **46**: 785-790.
- Johansen DA. 1940.** *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York..523p.
- Jorge LIF, Silva AM., Gonzalez E, Figueiredo TAR. 2006.** *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) e *Achras sapota* L. (Sapotaceae) – Elementos Morfo-Anatômicos de Orientação Diagnóstica. *Revista do Instituto Florestal*. **18**: 39-48.
- Kraus J E, Arduin M. 1997.** *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR. 198 p.
- Kubinová L. 1991.** Stomata and Mesophyll Characteristics of Barley Leaf as Affected by Light: tereological Analysis. *Journal of Experimental Botany*. **42**(241): 995-1001.
- Lima ISP, Viana GSB, Nobre MEP. 2003.** *Estudo da ação dos taninos de Myracrodruon urundeuva (aroeira do sertão) no modelo de úlcera induzida por indometacina*. In XXXV congresso brasileiro de farmacologia e terapêutica experimental, Águas de Lindóia.
- Lorenzi H, Matos FJA. 2002.** *Plantas medicinais no Brasil - nativas e exóticas*. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Lorenzi H. 1992.** *Árvores Brasileiras - Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Ed. Plantarum Ltda., Nova Odessa.

- Martín-Aragón S, Benedí J, Villar A. 1996.** Oxygen active species-scavenger properties of coumarins. *Phytotherapy Research*. **10**: 575-578.
- Martínez-Milláni M, Cevallos-Ferriz SRS. 2005.** Leaf architecture of Anacardiaceae. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. **76** (2): 137-190.
- Mauseth JD. 1988.** *Plant anatomy*. California: The Benjamin, Cummings Company.
- Metcalf CR, Chalk, L. 1950.** *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford: Clarendon Press.
- Metcalf CR, Chalk L. 1983.** *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, VI, 2nd.
- Metcalf CR, Chalk L. 1979.** *Anatomy of the Dicotyledons*. 2^a ed.. Oxford, Clarendon Press.
- Metz H. 1961.** Thin-layer chromatography for rapid assays of enzymic steroid transformations. *Naturwissenschaften* **48**: 569-570.
- Morretes BL, Ferri MG. 1972.** Contribuição ao conhecimento da anatomia das folhas de plantas de uma “caatinga” do Rio Negro (Amazonas). *Revista de Biologia*. **8**(4): 97-122.
- Mors WB, Rizzini CT, Pereira NA. 2000.** *Medicinal plants of Brazil*. Michigan: Reference Publications.
- Naik SR, Barbosa Filho JM, Dhuley JN, Deshmukh V. 1991.** Probable mechanism of hypoglycemic activity of bassic acid, a natural product isolated from *Bumelia sartorum*. *Journal of Ethnopharmacology*. **33**: 37-44.
- Nair GM, Venkaiah K, Shah JJ. 1983.** Ultrastructure of gum-resin ducts in Cashew (*Anacardium occidentale*). *Annals of Botany*. **51**: 297-305.
- Nakata PA. 2003.** Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*. **164**: 901-909.

- Napp-zinn K. 1978.** *La influencia de factores externos sobre la estructura de la hoja.* Resumos dos trabalhos do II Congresso Latinoamericano de Botânica. XXIX Congresso Nacional de Botânica (SBB). pp. 94.
- Negrel J, Pollet B, Lapierre C. 1996.** Ether-linked ferulic amides in natural and wound peridermis of potato tuber. *Phytochemistry*. **43**(6): 1195-1199.
- Neu R. 1956.** A new Reagent For differentiating and Determining Flavones on Paper Chromatograms. *Naturwissenschaften* **43**: 82.
- Nobel PS. 1991.** *Physicochemical and Environmental Plant Physiology.* Academic Press, San Diego.
- Paula JE, Alves JLH. 1973.** Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. Ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). *Acta Amazônica*. **3**: 39-53.
- Prado DE, Gibbs PE. 1993.** Patterns of species distributions in the dry seasonal forest South America. *Annals of the Missouri Botanic Garden*. **80**:902-927.
- Pyykkö M. 1966.** The leaf anatomy of East Patagonian xerophytic plants. *Annals of Botany Fennici*. **3**: 453-622.
- Raven PH, Evert RF, Eichorn SE. 1996.** *Biologia Vegetal.* Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Ricco RA, Sena GA, Vai VM, Wagner ML, Gurni AA. 2002.** Taninos Condensados de *Ephedra Chilensis* K. Presl (= *E. Andina* Poepp. Ex May.) – Ephedraceae. Unpublished. D. Phil. Thesis. Universidade Federal de Viçosa.
- Rio MCS, Kinoshita, LS, Castro MM. 2005.** Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. *Revista Brasileira de Botânica*. **28**(4): 713-726.

- Roberts EAH, Cartwright RA, Oldschool M. 1957.** Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **8**: 72-80.
- Sant'Anna-Santos BF, Thadeo M, Meira RMSA, Ascensão L. 2006.** Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Revista Árvore*. **30**(3): 481-489.
- Souza RSOC, Marquete O. 2000.** *Miconia tristis* Spring e *Miconia doriana* Cogn. (Melastomataceae): anatomia do eixo vegetativo e folhas. *Rodriguésia* **51**(78/79): 133-142.
- Taiz L, Zeiger E. 1991.** Surface protection and secondary metabolites defense compounds. In: *Plant Physiology*. Edited by Taiz, L. & E. Zeiger. Califórnia: Cummins company, pp.318-345.
- Venning FD. 1948.** The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. *American Journal of Botany*. **35**: 637-644.
- Venkaiah K, Shah JJ. 1984.** Distribution, development and structure of gum ducts in *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merrill (Anacardiaceae). *Annals of Botany*. **54**: 175-186.
- Venkaiah K. 1992.** Development, ultrastructure and secretion gum ducts in *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merrill (Anacardiaceae). *Annals of Botany*. **69**: 449-457.
- Von Teichman I, Van Wyk AE. 1994.** The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae): evidence from fruit structure. *Annals of Botany*. **73**: 175-184.
- Wagner F, Neuvonen S, Kürschner WM, Visscher H. 2000.** The influence of hybridization on epidermal properties of birch species and the consequences for palaeoclimatic interpretations. *Plant Ecology*. **148**: 61-69.

Wagner H, Blatt S. 1996. *Plant drug analysis – a thin layer chromatography atlas.*
Springer. 2^a ed. Munich.

Wilcox D, Dove B, McDavid D, Greer D. 2002. *Image Tool.* University of Texas
Health Science Center. San Antonio. Texas.

5. ANEXOS

Botanical Journal of the Linnean Society

Instructions for Authors

The Linnean Society publishes four periodicals: the *Biological*, *Botanical* and *Zoological Journals*, and *The Linnean*, the Society's newsletter and proceedings.

The *Botanical Journal of the Linnean Society* publishes original papers on systematic and evolutionary botany and comparative studies of both living and fossil plants. Review papers are also welcomed which integrate fields such as cytology, morphogenesis, palynology and phytochemistry into a taxonomic framework. The Journal will publish new taxa as part of larger monographic revisions.

Submissions to the *Botanical Journal* are now made on-line using Manuscript Central. To submit to the journal go to <http://mc.manuscriptcentral.com/botjls>. If this is the first time you have used the system you will be asked to register by clicking on 'create an account'. Full instructions on making your submission are provided. You should receive an acknowledgement within a few minutes. Thereafter, the system will keep you informed of the process of your submission through refereeing, any revisions that are required, and a final decision.

Manuscripts submitted by other methods will not be considered.

Copyright assignment

Authors will be required to assign copyright in their paper to the Linnean Society of London. Copyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. **Authors can click here to download a copy of the copyright assignment form. Please include it when submitting a manuscript.** (Please note where work is carried out by an author in their capacity as an employee of a Company, it may be the case that copyright is held by the Company. In this case it is important to ensure that someone with suitable authority within that Company signs the Copyright Assignment Form, and that you tick box B. UK government employees should tick box B, noting that the title of the copyright holder is 'Crown copyright'. Employees of the US federal government should tick box C.)

OnlineOpen

OnlineOpen is a pay-to-publish service from Blackwell that offers authors whose papers are accepted for publication the opportunity to pay up-front for their manuscript to become open access (i.e. free for all to view and download) via the Blackwell Synergy website. Each OnlineOpen article will be subject to a one-off fee of £1300 (equivalent to \$2600) to be met by or on behalf of the Author in advance of publication. Upon online publication, the article (both full-text and PDF versions) will be available to all for viewing and download free of charge. The print version of the article will also be branded as OnlineOpen and will draw attention to the fact that the paper can be downloaded for free via the Blackwell Synergy service.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen must complete the combined payment and copyright licence form available [here](#). (Please note this form is for use with OnlineOpen material ONLY.)

Once complete this form should be sent to the Editorial Office along with the rest of the manuscript materials at the time of acceptance or as soon as possible after that (preferably within 24 hours to avoid any delays in processing). Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to.

The copyright statement for OnlineOpen authors will read:

© [date] The Author(s)

Journal compilation © [date] The Linnean Society of London, *Botanical Journal of the Linnean Society*.

Read more about Online Open [here](#).

Author material archive policy

All original hardcopy artwork will be returned to authors after publication. **Please note that, unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all electronic material and remaining hardcopy two months after publication.** If you require the return of any of this material, you must inform the editorial office upon submission.

Offprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Paper offprints of the printed published article may be purchased if ordered via the method stipulated on the instructions that will accompany the proofs.

Manuscript preparation

Authors should aim to communicate ideas and information clearly and concisely, in language suitable for the moderate specialist. Papers in languages other than English are not accepted unless invited. When a paper has joint authorship, one author must accept responsibility for all correspondence; the full postal address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author who is to check proofs should be provided. Although the Society does not specify the length of manuscripts, it is suggested that authors preparing long texts (20 000 words or more, including references, etc.) should consult the Editor before considering submission. **Please submit your manuscript in an editable format such as .doc or .rtf. If you submit your manuscript in a non-editable format such as PDF, this will slow the progress of your paper as we will have to contact you to request an editable copy.**

Papers should conform to the following general layout:

Title page

This should include title, authors, institutions and a short running title. The title should be concise but informative, and where appropriate should include mention of family or higher taxon in the form: 'Taxonomy of the oak, *Quercus* (Fagaceae)'. A subtitle may be included, but papers in numbered series are not accepted. Names of new taxa should not be given in titles.

Abstract

This must be on a separate page. The abstract is of great importance as it may be reproduced elsewhere, and is all that many may see of your work. It should be about 100-200 words long and should summarize the paper in a form that is intelligible in

conjunction with the title. It should not include references. The abstract should be followed by up to ten keywords additional to those in the title (alphabetically arranged and separated by hyphens) identifying the subject matter for retrieval systems.

Subject matter

The paper should be divided into sections under short headings. Except in systematic hierarchies, the hierarchy of headings should not exceed three. Authors submitting papers to the Botanical Journal should consult *Authors of Plant Names* edited by R.K. Brummitt and C.E. Powell (Royal Botanic Gardens, Kew, 1992; ISBN 947-643-44-3).. Names of genera and species should be printed in italic or underlined to indicate italic; do not underline suprageneric taxon names. Cite the author of species on first mention. Use SI units, and the appropriate symbols (mm, not millimetre; μm , not micron., s, not sec; Myr for million years). Use the negative index (m^{-1} , l^{-1} , h^{-1}) except in cases such as "per plant". Avoid elaborate tables of original or derived data, long lists of species, etc.; if such data are absolutely essential, consider including them as appendices or as online-only supplementary material. Avoid footnotes, and keep cross references by page to an absolute minimum.

References

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here:

<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here:

<http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

In the text, give references in the following forms: "Stork (1988) said", "Stork (1988: 331)" where it is desired to refer to a specific page, and "(Rapport, 1983)" where giving reference simply as authority for a statement. Note that names of joint authors are connected by "&" in the text. When papers are by three authors, use all names on the first mention and thereafter abbreviate to the first name *et al.* For papers by four or more authors, use *et al.* throughout.

The list of references must include all publications cited in the text and only these. Prior to submission, make certain that all references in the text agree with those in the references section, and that spelling is consistent throughout. In the list of references, titles of periodicals must be given in full, not abbreviated. For books, give the title, place of publication, name of publisher (if after 1930), and indication of edition if not the first. In papers with half-tones, plate or figure citations are required only if they fall outside the pagination of the reference cited. References should conform as exactly as possible to one of these four styles, according to the type of publication cited.

Burr FA, Evert RF. 1982. A cytochemical study of the wound-healing proteins in *Bryopsis hypnoides*. *Cytobios* **6**: 199-215.

Gould SJ. 1989. *Wonderful life: the Burgess Shale and the nature of history*. New York: W.W. Norton.

Dow MM, Cheverud JM, Rhoads J, Friedlaender J. 1987b. Statistical comparison of biological and cultural/history variation. In: Friedlaender J, Howells WW, Rhoads J, eds. *Solomon Islands project: health, human biology, and cultural change*. New York: Oxford University Press, 265-281.

Gay HJ. 1990. The ant association and structural rhizome modifications of the far eastern fern genus *Lecanopteris* (Polypodiaceae). Unpublished D. Phil. Thesis, Oxford University.

Other citations such as papers "in press" may appear on the list but not papers "submitted", "in review" or "in preparation". These may be cited in the text as "unpubl. data". A personal communication may be cited in the text but not in the reference list. Please give the initials and surnames for all authors of personal communications and unpublished data.

In the case of taxonomic reviews, authors are requested to include full references for taxonomic authorities.

Give foreign language references in ordinary English alphabetic form (but copy accents in French, German, Spanish, etc.), if necessary transliterating in accordance with a recognized scheme. For the Cyrillic alphabet use British Standard BS 2979 (1958). If only a published translation has been consulted, cite the translation, not the original. Add translations not supplied by the author of the reference in square brackets.

Tables

Keep these as simple as possible, with few horizontal and, preferably, no vertical rules. When assembling complex tables and data matrices, bear the dimensions of the printed page (225 x 168 mm) in mind; reducing typesize to accommodate a multiplicity of columns will affect legibility.

Illustrations

These normally include (1) half-tones reproduced from photographs, (2) black and white figures reproduced from drawings and (3) diagrams. Use one consecutive set of Arabic numbers for all illustrations (do not separate "Plates" and "Text-figures" - treat all as "Figures"). Figures should be numbered in the order in which they are cited in the text. Use upper case letters for subdivisions (e.g. Figure 1A-D) of figures; all other lettering should be lower case.

1. *Half-tones reproduced from photographs*

Increasingly, authors' original images are captured digitally rather than by conventional film photography. In these cases, please use settings on your equipment for the highest possible image quality (minimum 300dpi).

Desktop technology now allows authors to prepare plates by scanning photographic originals and then labelling them using graphics programs such as Adobe Illustrator. These are acceptable provided:

1. Resolution is a minimum of 300 dpi at the final required image size. The labelling and any line drawings in a composite figure should be added in vector format. If any labelling or line drawings are embedded in the file then the resolution must be a minimum of 800 dpi. Please note that vector format labelling will give the best results for the online version of your paper.
2. Colour images are supplied in CMYK rather than RGB mode.
3. Electronic files are saved uncompressed as TIFF or EPS files.

In the case that it is not possible to provide electronic versions, please supply photographic prints with labelling applied to a transparent overlay or to a photocopy.

Grouping and mounting: when grouping photographs, aim to make the dimensions of the group (including guttering of 2 mm between each picture) as close as possible to the page dimensions of 168 × 225 mm, thereby optimizing use of the available space. Remember that grouping photographs of varied contrast can result in poor reproduction. If supplied as photographic prints, the group should be mounted on thin card. Take care to keep the surface of the prints clean and free of adhesive. Always provide overlays to protect the photographs from damage.

Lettering and numbering: If supplied as photographic prints, letters and numbers should be applied in the form of dry-transfer ("Letraset") letters, numbers, arrows and scale bars, but not measurements (values), to transparent overlays in the required positions, rather than to the photographs themselves; this helps to avoid making pressure marks on the delicate surface of the prints, and facilitates relabelling, should this be required. Alternatively, pencilled instructions can be indicated on duplicates or photocopies marked "FOR LABELLING ONLY". Self-adhesive labels should be avoided, but if they are used, they should not be attached directly to either photographs or overlays, but to photocopies, to indicate where they are to be positioned. Labelling will be inserted electronically by the typesetter in due course.

Colour: Online-only colour in figures is free of charge, however it is essential in these cases that the figure legends apply equally well to both printed greyscale and online colour versions, and do not specifically refer to the colour.

Alternatively you can opt for paid full colour (see the Colour Work Agreement Form [here](#)), covering the full cost of reproduction, such that colour is used both in the hardcopy and online. In this case, legends may make reference to colour if necessary, such as for a key. If your paper is accepted and you have opted for paid full colour, we will need a completed Colour Work Agreement Form. **Colour illustrations will be published free of charge provided that the colour is deemed essential by the Editor for interpretation of the figure.**

2. *Black and white figures reproduced from drawings*

These should be scanned at a minimum resolution of 800 dpi and supplied in TIFF format. Please note that JPEG, Powerpoint and doc files are not suitable for publication. If it is not possible to provide electronic versions, the figures supplied should be in black ink on white card or paper. Lines must be clean and heavy enough to stand reduction; drawings should be no more than twice page size. The maximum dimensions of published figures are 168 × 225 mm. Scale bars are the most satisfactory way of indicating magnification. Take account of proposed reduction when lettering drawings; if you cannot provide competent lettering, it may be pencilled in on a photocopy.

3. *Diagrams*

In most instances the author's electronic versions of diagrams are used and may be re-labelled to conform to journal style. These should be supplied as vector format Encapsulated PostScript (EPS) files. Please note that diagrams or graphs will not

reproduce well in the online version of your paper unless they are in vector format due to low maximum screen resolution.

Type legends for Figures in numerical order on a separate sheet. Where a "key" is required for abbreviations used in more than one Figure, this should be included as a section of the main text.

Authors whose manuscripts contain large phylogenies, and who feel that these cannot be represented well in the standard page format, may opt to pay for fold-out pages as part of their article (see the Fold-Out Agreement Form [here](#)). Please note that fold-out pages will be included only with the Editor's agreement.

Authors wishing to use illustrations already published must obtain written permission from the copyright holder before submitting the manuscript. Authors may, in the first instance, submit good xerox or photographic copies of figures rather than the originals.

Detailed instructions on preparing illustrations in electronic form are available [here](#).

Authors may be charged for alterations at proof stage (other than printer's errors) if they are numerous.

Supplementary Material

Authors wishing to submit material to be hosted as online supplementary material should consult the author guidelines [here](#). Authors should note that the Editor may suggest that figures, tables, and lists not deemed necessary for the understanding of the paper should be published online as supplementary material.

Please follow these guidelines carefully:

- Include all parts of the text of the paper in a single .doc or .rtf file. The ideal sequence is: (1) **Header** (running heads; correspondence; title; authors; addresses; abstract; additional keywords, etc.). (2) **Body of article**. (3) **Acknowledgements**. (4) **References**. (5) **Figure Legends**. (6) **Tables** (for each table, the legend should be placed before the body of the table). (7) **Appendices**.
- Include all figure legends, and tables with their legends if available.
- **Do not embed figures in the text file**
- Do not use the carriage return (enter) at the end of lines within a paragraph.
- Turn the hyphenation option off.
- Specify any special characters used to represent non-keyboard characters.
- Take care not to use l (ell) for 1 (one), O (capital o) for 0 (zero) or ß (German esszett) for β (beta).

Copyright

Authors receiving requests for permission to reproduce work published by the Linnean Society should contact Blackwell Publishing for advice.

Pre-submission English-language editing

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found [here](#). All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.