



Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas- CCAAB

Campus Universitário- Cruz das Almas

Curso de Biologia

**THAYANE PEREIRA MACEDO**

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA FOLÍOLAR DE DUAS  
ESPÉCIES DE *ZANTHOXYLUM* Linn. (RUTACEAE) DA  
MATA ATLÂNTICA, BA**

**Cruz das Almas/2012**

**THAYANE PEREIRA MACEDO**

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA FOLIOLAR DE DUAS  
ESPÉCIES DE *ZANTHOXYLUM* Linn.( RUTACEAE) DA  
MATA ATLÂNTICA, BA**

Monografia apresentada à  
Universidade Federal do  
Recôncavo da Bahia, como  
exigência do curso de  
Biologia, para a obtenção do  
título de Bacharel em  
Biologia.

**Cruz das Almas/Bahia**

**2012**

FICHA CATALOGRÁFICA

M141

Macedo, Thayane Pereira.

Anatomia e histoquímica folíolar de duas espécies de *Zanthoxylum Linn (Rutaceae)* da Mata Atlântica/BA / Thayane Pereira Macedo. Cruz das Almas, BA, 2012.

46f.; il.

Orientador: Fabiano Machado Martins.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Plantas – Anatomia vegetal.  
2.Fisiologia vegetal. 3.Histoquímica.  
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,  
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e  
Biológicas. II. Título.

CDD: 571.3

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**THAYANE PEREIRA MACEDO**

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA FOLIOLAR DE DUAS ESPÉCIES DE  
*ZANTHOXYLUM* Linn. (RUTACEAE) DA MATA ATLÂNTICA/BA**

**Banca avaliadora**

---

**Profº. Dr. Fabiano Machado Martins**

**Orientador**

---

**Profº Dr. Daniel Melo de Castro**

---

**Profº Dr. Weliton Antônio Bastos de Almeida**

*A minha família. Meus pais Edmilson e Dinanci.*

*Minhas irmãs Erika e Ana Carolina.*

DEDICO

## AGRADECIMENTO

Agradeço principalmente a Deus por ter me dado saúde, forças e bênçãos para seguir sempre em frente, mesmo com todas as adversidades.

Aos meus pais, Edmilson e Dinanci que sempre estiveram e estão presentes em minha vida, por todo apoio, confiança, amor. Pessoas muito importantes na minha vida. Que acreditam que sou sempre capaz de alcançar tudo o que desejo.

As minhas irmãs, Erika e Ana Carolina, por todo apoio, amor, companhia e auxílio na montagem das pranchas e formatação do texto.

As companheiras de república, Caroline, Patrícia e Mara pelos anos de convivência, paciência, tolerância e também de muitas alegrias. A Thiara pela companhia, amizade e apoio.

Ao meu orientador, Prof<sup>o</sup>. Dr. Fabiano Machado Martins pelas orientações, confiança e paciência.'

Aos colegas de laboratório, pela convivência e trocas de experiências.

Aos membros da banca avaliadora, Prof<sup>o</sup>. Dr. Daniel Melo de Castro e Prof<sup>o</sup>. Dr. Weliton Antônio Bastos de Almeida pela presença e sugestões.

*Se nunca abandonas o que é importante para ti, se te importas tanto a ponto de estares disposto a lutar para obtê-lo, asseguro-te que tua vida estará plena de êxito. Será uma vida dura, porque a excelência não é fácil, mas valerá a pena .*

Richard Bach

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. JUSTIFICATIVA .....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1. Características taxonômicas do gênero <i>Zanthoxylum</i> L. ....	5
3.2. Características anatômicas dos folíolos de Rutaceae .....	6
3.3. Características anatômicas dos folíolos de <i>Zanthoxylum</i> L. ....	6
3.4. Estruturas secretoras .....	7
3.5. Histoquímica vegetal .....	8
4. OBJETIVOS.....	10
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
5.1. Área de coleta .....	11
5.2. Análise Estrutural .....	11
5.3. Diafanização.....	12
5.4. Testes Histoquímicos .....	12
6. RESULTADOS .....	14
7. DISCUSSÃO.....	23
8. CONCLUSÕES .....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

**LISTA DE FIGURAS E TABELAS**

Figura 1: Epiderme de <i>Z.rhoifolium</i> e <i>Z.minutiflorum</i> .....	17
Figura 2: Organização folíolar.....	18
Figura 3: Organização folíolar.....	19
Figura 4: Nervura central.....	20
Figura 5: Caracterização histoquímica.....	21
Tabela 1: Testes histoquímicos.....	22
Tabela 2: Caracterização histoquímica de cavidade, tricoma e nectário.....	22

## RESUMO

A família Rutaceae compreende 150 gêneros e 2000 espécies, no Brasil ocorrem 32 gêneros e cerca de 150 espécies. São pertencentes à família gêneros que se destacam do ponto de vista econômico, a exemplo de *Citrus* e diversas espécies produtoras de madeira de boa qualidade como *Zanthoxylum*. Espécies medicinais também fazem parte de Rutaceae como *Ruta graveolens*, *Pilocarpus* e *Zanthoxylum*. O trabalho tem o objetivo de realizar estudos anatômicos e histoquímicos em folíolos de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Z. minutiflorum* ocorrentes na Mata Atlântica. Os materiais foram coletados na Serra da Jibóia, mais precisamente na área do grupo ambientalista GAMBÁ, município de Santa Teresinha, Bahia. Os folíolos coletados foram fixados ainda em campo, desidratados, incluídos e seccionados em micrótomo rotativo, corados com Safranina e Azul de Astra. A diafanização foi realizada seguindo uma série etanólica, imersa em hidróxido de sódio e clarificada com hipoclorito de sódio, corado com Safranina e montados em resina sintética. Os testes histoquímicos foram realizados para a identificação das seguintes classes de metabólitos secundários: polissacarídeos gerais, compostos fenólicos, taninos, lipídios totais, óleos essenciais e oleoresinas. *Z. rhoifolium* possui epiderme mucilagínosa unisseriada, cavidades secretoras, tricomas tectores. *Z. minutiflorum* possui epiderme unisseriada, cavidades secretoras e nectário extrafloral. Os testes histoquímicos dos tricomas glandulares foram positivos para a presença de polissacarídeos e compostos fenólicos, sendo considerados como coléteres.

Palavra-chave: *Zanthoxylum*, histoquímica, estruturas secretoras

## ABSTRACT

The Rutaceae family comprising 150 genera and 2000 species in Brazil are 32 genera and about 150 species. Belonging to the family are genres that stand out from the economic point of view, the example of several *Citrus* species and producing good quality wood as *Zanthoxylum*. Medicinal plants are also part of Rutaceae such as *Ruta graveolens*, *Pilocarpus* and *Zanthoxylum*. The work aims to anatomical and histochemical studies on leaves of *Zanthoxylum rhoifolium* and *Z. minutiflorum* occurring in the Atlantic. The materials were collected in the Serra da Jibóia, more precisely in the area of environmental group GAMBÁ, Santa Teresinha, Bahia. The leaflets were collected in the field yet fixed, dehydrated, included and sectioned on a rotary microtome, stained with Safranin and Astra Blue. The diaphanization was performed following an ethanol series, steeped in sodium hydroxide and clarified with sodium hypochlorite, stained with Safranin mounted in synthetic resin. Histochemical tests were performed to identify the following classes of secondary metabolites: general polysaccharides, phenolic compounds, tannins, lipids, essential oils and oleoresins. *Z. rhoifolium* has mucilaginous uniseriate epidermis, secretory cavities, trichomes. *Z. minutiflorum* has uniseriate epidermis, secretory cavities and extrafloral nectary. Histochemical tests of glandular trichomes were positive for the presence of polysaccharides and phenolic compounds, are considered colleters.

Keyword: *Zanthoxylum*, histochemistry, secretory structures

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Zanthoxylum* pertence a família Rutaceae Juss. que está incluída na ordem Sapindales, juntamente com as famílias Sapindaceae Jussieu, Anacardiaceae R. Brown, Burseraceae Kunth, Meliaceae Jussieu e Simaburaceae Candolle (CRONQUIST, 1988; JUDD *et al* 2008).

A família Rutaceae está amplamente distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e temperada do mundo com grande ocorrência na Austrália, América e África (BARROSO *et al*, 1986 *apud* MELO 2004). Rutaceae inclui 150 gêneros e 2000 espécies. No Brasil, a família está representada por cerca de 32 gêneros e 150 espécies (SOUZA, 2005).

Os representantes da família podem ser arbustos ou árvores, raramente ervas ou lianas, frequentemente com acúleos; folhas alternas ou menos frequentemente opostas, compostas ou raramente simples, sem estípulas, margem inteira ou serrada, com pontoações translúcidas. A inflorescência cimoso, raramente racemosa, às vezes reduzidas a uma única flor; flores geralmente pouco vistosas, bissexuadas ou unissexuadas (SOUZA, 2005).

Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Fagara* L. apresentam vários problemas conceituais. A conceituação foi discutida por muitos autores, desde a época Lineana, quando tratou *Zanthoxylum* como gênero distinto de *Fagara*. Nessa época, as diferenças baseavam-se no perianto monoclamídeo, no primeiro gênero, e diclamídeo, no segundo (MELO, 2004).

Contudo, para as espécies monoclamídeas, a problemática estava relacionada à estrutura do perianto, se sépala ou pétala. Assim, o arranjo dos verticilos do perianto foi para ENGLER (1931) e REEDER & CHEO (1951) *apud* MELO, 2004 um caráter relevante para separar *Zanthoxylum* de *Fagara*. A ocorrência de espécies que exibem estrutura intermediária entre *Zanthoxylum* e *Fagara* foi mencionada por HARTLEY (1966) e BRIZICKY (1962) *apud* MELO, 2004 que consideraram *Zanthoxylum* uma condição derivada do tipo *Fagara* por aborto de algumas ou todas as sépalas (MELO, 2004).

As espécies brasileiras de *Zanthoxylum* apresentam perianto diclamídeo, enquanto os espécimes de regiões temperadas da América Central e leste da Ásia apresentam perianto mono e diclamídeo (MELO, 2004).

Dentre os caracteres anatômicos diagnósticos, destaca-se a presença de cavidades secretoras, células resiníferas, tricomas glandulares, idioblastos geralmente taníferos, células epidérmicas mucilaginosas (METCALFE & CHALK, 1957).

As diversas substâncias que as plantas possuem são originadas principalmente nas estruturas secretoras. Essas substâncias exercem diferentes funções no corpo vegetal, como defesa contra herbivoria, atração de polinizadores e adaptação as diversas condições ambientais (ESAU, 1976; FAHN, 1979).

O gênero *Zanthoxylum* possui espécies de interesse terapêutico e tem sido utilizado na medicina tradicional. O conhecimento tradicional sobre o uso, composição e efeito das plantas medicinais tem sido pesquisados para atender a demanda por plantas possuidoras de princípios ativos de interesse das indústrias químicas, farmacêutica e cosmética. Por isso, faz-se necessário a utilização de técnicas anatômicas e histoquímicas que são ferramentas eficazes na identificação da espécie vegetal, assim como as classes de metabólitos presentes nas plantas.

## 2. JUSTIFICATIVA

O gênero *Zanthoxylum* é empregado especialmente na Ásia, África e América na medicina tradicional, sendo utilizado como analgésico, fungicida, bactericida e no controle de parasitos. Para isso, estudos fitoquímicos identificaram os metabólitos secundários mais representativos, a exemplo de alcalóides, cumarinas, terpenos, flavonóides (VILLAMIZAR, 2007).

A espécie *Zanthoxylum minutiflorum* Lam. apresenta ação antiparasitária contra *Trypanosoma cruzi*. Estudos fitoquímicos do gênero demonstraram a presença de diversos tipos de substâncias ativas nos extratos obtidos destes vegetais, bem como vários grupos químicos, apresentando uma grande variedade de efeitos biológicos. *Zanthoxylum minutiflorum* (mama-de-porca, mamica de cadela) com sua riqueza de princípios ativos e diversidade de ações biológicas pode representar uma importante fonte de substâncias com potencial antiparasitário contra o *T. cruzi* (CUNHA, 1993 *apud* MAEDA, 2010).

A atividade de alcalóides presentes na casca do tronco de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. contra bactérias gram negativas foi relatada por GONZAGA *et al.* 2003 *apud* PENELUC, 2007 . O óleo essencial das folhas e frutos da *Zanthoxylum rhoifolium* foi ativo contra *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella setubal*, enquanto o óleo essencial das flores foi inativo para estes microrganismos .

No estudo *in vitro*, JULLIAN *et al.* 2006 *apud* PENELUC, 2007 demonstraram a atividade antiplasmodial do composto alcalóide nitidina, extraído do tronco do *Zanthoxylum rhoifolium* por sua ação inibidora da DNA topoisomerase I do *Plasmodium falciparum*. O óleo essencial das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium*, bem como seus constituintes terpenos, b-cariofileno, apresentaram eficácia antitumoral e ação imunomodulatória (SILVA *et al.*, 2007 *apud* PENELUC, 2007).

As espécies *Z. rhoifolium* e *Z. minutiflorum* são arbóreas com altura variando de 6 a 12 m, com caule acúleado, folhas compostas, sendo que *Z. rhoifolium* apresenta acúleo em alguns folíolos. Devido à forma e densidade da copa e o fato de seus frutos serem consumidos por algumas espécies de pássaros são empregadas com sucesso no paisagismo, em plantios visando à recomposição de vegetação e recuperação de áreas degradadas. Além disso, sua madeira é indicada

para construção civil, marcenaria e carpintaria, na confecção de ferramentas e outros instrumentos agrícolas (LORENZI, 1992 *apud* SILVA, 2000).

As estruturas secretoras são responsáveis pela produção de um grande número de substâncias que desempenham diferentes funções nas plantas como defesa contra a herbivoria, atração de polinizadores e na interação das plantas com outras plantas e das plantas com o ambiente. A presença de metabólitos secundários em plantas tem estimulado o interesse comercial e medicinal (FAHN, 1988). Desta forma, a caracterização das estruturas secretoras, bem como a compreensão da biologia das secreções vegetais tem recebido atenção dos pesquisadores de diferentes áreas.

A exsudação das substâncias é exercida por células individualizadas ou por agrupamentos celulares. A natureza do exsudado é variável, assim como a localização da estrutura secretora no corpo da planta (FAHN, 1988). Vários tipos de estruturas secretoras podem ser identificadas em um mesmo órgão, ou o aprisionamento de determinadas estruturas a um único órgão (SOLEREDER, 1908). A constância desses caracteres pode ser um parâmetro de distinção taxonômico (SOLEREDER, 1908; METCALFE & CHALK, 1950, FAHN, 1979, 1988).

A morfologia, localização, função, anatomia e natureza do exsudado são características que variam de acordo com a estrutura secretora (FAHN, 1979). A caracterização anatômica e a natureza química do exsudado auxilia no entendimento da função do secretado para a planta (ESAU, 1974; FAHN, 1979).

Os estudos estruturais e histoquímicos do gênero *Zanthoxylum* L. justificam-se devido à importância econômica, ecológica e paisagística de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. e *Zanthoxylum minutiflorum* Lam. O estudo visa fornecer subsídios para posteriores estudos estruturais e histoquímicos, principalmente por serem escassos os trabalhos desenvolvidos com as referidas espécies e com o gênero, necessitando de mais estudos na área.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Características taxonômicas do gênero *Zanthoxylum* L.

O gênero é constituído por arbustos ou árvores, raramente escandentes, troncos e galhos, muitas vezes com acúleos, a casca e a madeira são aromáticas. Folhas alternas, ímpar ou par-pinada, folíolada 1-3, persistente ou decíduo; pecíolo e raque angular, geralmente alados, desarmado ou espinhoso; folíolos crenado, freqüentemente inequilateral, ponteada pelúcida pelo menos marginalmente, muitas vezes apresentam pontoações glandulares. Inflorescências panículas axilares e/ou terminal, corimbosa, racemos (WOODSON, 1979).

As flores são pequenas, regulares, brancas a esverdeado amarelo ou vermelhas. As plantas são dióicas, raramente monóicas ou polígamo; sépalas 3-5 ou aparentemente ausente, livre persistente ou decíduos; pétalas 3-8, livre, imbricado ou valvar; estames 3-5, opostos às sépalas, rudimentares ou ausentes em flores carpeladas, os filetes livres, as anteras elípticas a ovadas, disco intraestaminal pequeno e anular ou obscuro; gineceu de 1-5, livres ou conados, rudimentar ou ausentes nas flores estaminadas, ovário 1-5-lóculos, os dois óvulos por lóculo, colaterais, pendentes, os estilos sublateral, conados para libertar, os estigmas capitados, livre ou conados (WOODSON, 1979).

Frutos de 1-5 para sésseis, coriáceas para carnuda, 2-valvulado, 1-semeado, livre para conado, folículos glandulares-punctados; sementes ovóides, subgloboso, obovóide, ou lenticular, muitas vezes ainda ligado à placenta através do funículo na maturidade, testa, preto, castanho ou avermelhado, brilhante, o endosperma carnudo, o embrião axial, retas ou curvas, os cotilédones plano, a radícula curta. *Zanthoxylum* L. é um gênero de mais de 200 espécies, principalmente pantropical, mas se estendendo até a região temperada, Zona Norte da Ásia Oriental e América do Norte (WOODSON, 1979).

O gênero como aqui circunscrito é considerado por alguns como dois gêneros distintos, *Zanthoxylum* L. e *Fagara* L. O nome *Zanthoxylum* L. é aplicado à espécie com um único giro de segmentos de perianto, enquanto *Fagara* L. é utilizado para aqueles com duas voltas de segmentos de perianto. No entanto, há a ocorrência de espécimes e espécie de condição intermediária que indicam uma separação natural.

As espécies americanas de *Zanthoxylum* L. tem necessidade de revisão. (BRIZICKY, 1962; HARTLEY, 1966 *apud* WOODSON, 1979).

### **3.2. Características anatômicas dos folíolos de Rutaceae**

A família tem como características anatômicas dos folíolos a presença de cavidades secretoras que a olho nu tem a aparência de pontos transparentes, células resiníferas são comuns na nervura central. As células epidérmicas foliares são compostas frequentemente de paredes mucilaginosas, possuem estômatos de todos os tipos e cristais de oxalato de cálcio são abundantes; ráfides e cristais de areia são incomuns; apresentam xilema e floema fechados (METCALFE & CHALK, 1957).

A cutícula grossa, epiderme uniestratificada em ambas as faces, compostas de células de paredes grossas, pentagonais e hexagonais, mesofilo bifacial composto por um parênquima em paliçada biestratificado e parênquima esponjoso bem desenvolvido, cavidade secretora formada por células que contém óleos, resinas e alcalóides, presença de tricomas unicelulares, estômatos tetracíticos foram encontrados na espécie *Pilocarpus goudotianus* Tul. por GALLARDO (2002). A epiderme pode ser glabra, o parênquima paliçádico às vezes é interrompido por cavidades secretoras (CAÑIZARES, 2005).

### **3.3. Características anatômicas dos folíolos de *Zanthoxylum* L.**

A epiderme apresenta-se com células poligonais, isodiamétricas, largas, parede anticlinais, estômatos actinocíticos são frequentes, mas podendo ser encontrados estômatos paracíticos, tetracíticos, hexacíticos e policíticos, a cutícula pode ser espessa ou fina, tricomas tectores ou glandulares, podendo ser unicelulares, mesofilo dorsiventral, paliçádico com células alongadas e cilíndricas, parênquima lacunoso composto por células irregulares e ramificadas, tecido vascular bem desenvolvido, inclusões celulares ocorrem no parênquima paliçádico e no lacunoso, idioblastos geralmente taníferos, drusas de oxalato de cálcio são comuns e glândulas secretoras de óleo são abundantes (OGUNDIPE, 2002).

Na nervura central, das folhas observam-se fibras esclerenquimáticas e células com conteúdo denso que podem ser células oleíferas ou resiníferas. Estas

células foram descritas para caules jovens dos gêneros *Adenandra*, *Agathosma*, *Citrus* e em folhas estas células resiníferas foram descritas para o gênero *Cneoridium* (METCALFE & CHALK, 1957).

### 3.4. Estruturas secretoras

As estruturas ou tecidos secretores definem-se como células únicas especializadas ou estruturas multicelulares de formas variadas que eliminam substâncias específicas (FAHN, 2000).

A classificação tem sido estudada por diferentes autores como FAHN (2000), ESAU (1974), METCALFE & CHALK (1957). De acordo com estes autores, as estruturas secretoras de forma geral classificam-se em externas ou internas. As estruturas secretoras externas se subdividem em: tricomas ou papilas, tricomas glandulares (glândulas), coléteres, nectários, hidatódios e estigmas; enquanto que as estruturas de secreção interna são representadas por idioblastos, cavidades, canais secretores e laticíferos (sistema de tecido laticífero).

Os idioblastos secretores caracterizam-se por serem células mais volumosas que as vizinhas, podendo em alguns casos confundirem-se com as demais células de parênquima. Apresentam considerável diversidade estrutural e de componentes, contendo variedade de óleos, mucilagens, e outras substâncias. A sua distribuição se dá por todo o corpo da planta, e nas Rutáceas observam-se os tipos cristalífero e mucilaginosos (SOLEREDER, 1908).

Os tricomas secretores são mencionados como presentes em representantes da família Rutaceae em obras de compilação sobre anatomia (SOLEREDER, 1908; METCALFE & CHALK, 1957). Entretanto, não foram encontradas referências quanto a caracterização funcional e histoquímica para *Zanthoxylum*.

Os tricomas secretores ou glandulares são apêndices epidérmicos que podem apresentar as mais variadas formas e número variado de células e, além disso, secretam substâncias da natureza química diversa e complexa. A função dos tricomas secretores está relacionada com o caráter químico da substância secretada. Eles podem proporcionar defesa e proteção para as plantas, além de atuar na atração de polinizadores ou secretar excesso de sal em plantas halófitas, dentre outras funções (ESAU, 1974).

Segundo DELL & McCOMB, 1978 secreções resinosas externas proporcionam resistência foliar e proteção às gemas vegetativas axilares e apicais, em regiões áridas, já as secreções internas parecem estar relacionadas à defesa contra o ataque de insetos.

Os nectários são estruturas que secretam néctar e podem estar presentes em diferentes partes do corpo vegetal. Os componentes principais do néctar são sacarose, glicose e frutose nas mais variadas concentrações, entretanto, diversas outras substâncias e íons podem estar presentes (FAHN, 1988; BAKER & BAKER, 1983). Os nectários extraflorais são comumente visitados por insetos que conferem proteção à planta contra o ataque de herbívoros (JANZEN, 1966; OLIVEIRA, 1997).

### **3.5. Histoquímica vegetal**

Os métodos histoquímicos de identificação de compostos presentes em vegetais são baseados no uso de reagentes cito ou químico-histológicos previamente estabelecidos. Visa identificar compostos do metabolismo primário e secundário de plantas presentes nos tecidos vegetais, tais como: compostos fenólicos, ligninas, taninos, flavonóides, cumarinas, alcalóides, açúcares, aminoácidos (DORES, 2007 *apud* CONCEIÇÃO, 2009).

Esses métodos auxiliam também na determinação da composição e idade de materiais fossilizados e ainda na composição botânica de misturas vegetais e farmacêuticas. O reconhecimento de estruturas histoquímicas nos vegetais possibilita e facilita o manejo ecológico e mais econômico das doenças propiciando maior produção e qualidade dos produtos vegetais (DORES, 2007 *apud* CONCEIÇÃO, 2009).

Os compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas são sintetizados com maior frequência quando em situações de estresse. Plantas defendem-se de patógenos e insetos por meio de mudanças bioquímicas. A célula vegetal pode reagir com inúmeras estratégias de defesa, dentre elas as estruturais como cutina, suberina, lignina, celulose, e proteínas da parede celular, ou ainda barreiras bioquímicas (AGRIOS, 2005 *apud* CONCEIÇÃO, 2009).

Os metabólitos secundários são expressões da individualidade química dos organismos, diferindo qualitativa e quantitativamente de espécie para espécie. As

reações histoquímicas nas plantas permitem detectar a presença desses metabólitos, que poderão ser quantificados, em função da intensidade observada. Muitos desses compostos, como a antocianina, carotenóides e óleos essenciais podem influenciar na polinização, na dispersão de frutos e sementes e na simbiose radicular com bactérias (MARTINS *et al.* 1994 *apud* SANTOS, 2009).

Os métodos histoquímicos estão fundamentados nas reações cromáticas para o reconhecimento de substâncias de membranas e conteúdo celular. A histoquímica vegetal distingue dois grupos de compostos, os lipofílicos (polares) formados por lipídios totais e insaturados, ácidos graxos e terpenóides (óleos, resinas e lactonas sesquiterpênicas) e o grupo compostos por substâncias hidrofílicos (apolares), sendo estes os fenólicos, amidos, taninos, alcalóides, entre outros (PEARSE, 1960; GERSBACH, 2002; DORES, 2007 *apud* CONCEIÇÃO, 2009).

#### 4. OBJETIVOS

Tendo em vista a importância econômica, ecológica e paisagística das espécies *Zanthoxylum rhoifolium* Lam e *Z. minutiflorum* Tul. Os objetivos do trabalho foram:

- Descrever a anatomia foliolar de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum minutiflorum*.
- Caracterizar as estruturas secretoras de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum minutiflorum*.
- Identificar as principais classes de compostos químicos presentes nas estruturas secretoras.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Área de coleta

As espécies estudadas foram *Zanthoxylum minutiflorum* Tul. e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. coletadas na área do grupo ambientalista Gambá, localizada na Serra da Jibóia, pertencente ao município de Elísio Medrado/ Bahia.

A serra da Jibóia localiza-se na latitude 12°51'S e longitude 39°28'W, tem extensão de 6 km. É um maciço serrano situado na porção sul do Recôncavo Baiano do Estado da Bahia entre os municípios de Castro Alves, São Miguel das Matas, Varzedo, Elísio Medrado e Santa Terezinha. Esta serra possui sentido norte/sul e área total de aproximadamente 23.000 hectares ainda cobertos por remanescentes de Mata Atlântica, sendo que cerca de 7.000 hectares são considerados Mata Atlântica em estágio avançado de regeneração (FREITAS, 2009).

A precipitação pluviométrica na área possivelmente é superior à referida para o município de Santa Teresinha (568 mm anuais), devendo atingir pelo menos 1.100 mm anuais, que é o mínimo registrado para a mata higrófila sul-baiana (GOUVÊA *et al.* 1976 *apud* VALENTE, 2006). O fato de estar inserida no semi-árido baiano faz da mata higrófila da Serra da Jibóia, um local singular, já que está isolada de outros fragmentos florestais do litoral pela caatinga que a circunda (QUEIROZ *et al.* 1996 *apud* VALENTE, 2006).

### 5. 2. Análise Estrutural

Os materiais coletados foram fixados em FAA (formalina, ácido acético, álcool etílico 50% 1:1:18 v/v) onde permaneceram por um período de 24h. Depois foram lavados em álcool etílico 50% por 12h. Após esse processo foram estocados em álcool etílico a 70% (JOHANSEN,1940). As peças foram desidratadas em série butílica e incluídas em parafina histológicas (Merck) (Johansen 1940). As amostras foram seccionadas em micrótomo rotativo com espessura de 14µm, os cortes

corados com Safranina e Azul de Astra (JOHANSEN, 1940) e as lâminas montadas em resina sintética (Permout; Fisher).

### 5.3. Diafanização

Os folíolos foram colocados em álcool etílico por 20 min, depois em água destilada por 20 min, hidróxido de sódio a 5% por 30 min, feita a lavagem das folhas em água destilada (4 a 5 vezes) por 30 min cada lavagem, hipoclorito de sódio até o completo clareamento das folhas, lavagem do material em água destilada (4 a 5 vezes) 30 min cada lavagem, seguindo para série etílica por 10 min, álcool/ xilol (1:1) por 10 min, solução corante Safranina 1 %, álcool/xilol (1:1) por 10 min, xilol por 10 min e montagem com resina sintética (SHOBE & LERSTEN, 1967).

### 5.4. Testes Histoquímicos

Os metabólitos secundários foram identificados utilizando folíolos em diferentes estádios de desenvolvimento. Os testes histoquímicos foram realizados apenas na espécie *Z. minutiflorum*, pois a espécie *Z. rhoifolium* foi fixada e preservada em etanol, não sendo possível a utilização deste material fresco.

A utilização do material fresco é a mais recomendada para que não haja interferência do fixador com as substâncias secretadas pelas estruturas, pois pode ocorrer a extração de determinadas substâncias que compõem o exsudado e as classes dos metabólitos secundários podem não ser reveladas quando aplicados os testes, como também pode ocorrer resultados falso-positivo.

Os cortes foram realizados em criomicrotomo utilizando o fluído de congelamento (Cryo Glue, Slee Mainz) com espessura aproximada de 50µm a uma temperatura de -20°C. Os cortes foram submetidos aos testes histoquímicos descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Testes histoquímicos aplicados aos cortes folíolares de *Zanthoxylum minutiflorum* Tul.

<b>Grupos de metabólitos</b>		<b>Luz visível</b>
<b>Lipídios</b>	Lipídios totais	Sudan Black (Pearse, 1985)
		Sudan Red (Pearse, 1985)
<b>Terpenóides</b>	Óleos essenciais e oleorresinas	Reagente de NADI (David e Carde, 1964)
<b>Compostos fenólicos</b>	Compostos fenólicos gerais	Dicromato de potássio (Gabe, 1968)
	Fenóis simples	Cloreto férrico (Johansen, 1940)
	Taninos	Vanilina clorídrica (Mace e Howell, 1974)
<b>Polissacarídeos</b>	Polissacarídeo neutro	PAS (McManus, 1948)

## 6. RESULTADOS

*Zanthoxylum rhoifolium* apresenta na face adaxial, em vista frontal células epidérmicas que apresentam formato irregular e contornos retos a levemente sinuosos (fig 1. A). Em vista frontal, *Zanthoxylum minutiflorum* apresenta na face abaxial, epiderme com células de formato irregular, contornos retos e levemente ondulados (fig 1.B).

Os estômatos actinocíticos estão presentes apenas na face abaxial de *Z. rhoifolium*, sendo caracterizada como hipoestomática (fig 1.C). Em secção paradérmica de *Z. minutiflorum* observa-se estômatos presentes apenas na face abaxial sendo hipoestomática, com estômatos do tipo actinocítico, estando envolvido por um número variável de células subsidiárias que estão dispostas radialmente em relação as células guardas e diferem pouco em formato e tamanho das demais células epidérmicas (fig 1. D).

O mesofilo de *Z. rhoifolium* é dorsiventral sendo composto por uma a duas camadas de parênquima paliçádico, o qual possui células bastante alongadas (fig 2. A). Enquanto que em *Z. minutiflorum* o mesofilo é dorsiventral e composto apenas por uma camada de células no parênquima paliçádico, sendo as células de pequeno tamanho. As células do parênquima lacunoso possuem tamanho e forma variável com grandes espaços intercelulares, ocorre no mesofilo à presença de pequenos feixes vasculares com presença de muitas fibras esclerenquimáticas (fig 2.B).

Observou-se em *Z. rhoifolium* entre o parênquima paliçádico cavidades secretoras de origem lisígenas que possuem muitas drusas em seu tecido secretor, pequenos feixes de fibras estão presentes em todo o mesofilo. As células do parênquima lacunoso são de tamanho variável e com espaços intercelulares relativamente grandes (fig 2.C). Há presença de cavidades secretoras lisígenas no mesofilo de *Z. minutiflorum* (fig 2.D). Na porção inferior da nervura central de *Z. rhoifolium* também foram observadas cavidades lisígenas (fig.2.E). Em *Z. minutiflorum* as cavidades estão presentes também no bordo foliar (fig 2.F)

Em vista transversal de *Z. rhoifolium*, a epiderme é unisseriada com células que variam em tamanho, apresentam idioblastos cristalíferos e células contendo mucilagem (fig 3. A). A epiderme *Z. minutiflorum* é unisseriada, possui pouca variação de tamanho entre as células, possui idioblastos cristalíferos, sendo frequente a presença de drusas por todo o folíolo (fig 3.B).

Os tricomas estrelados não pedunculado são observados em ambas as faces de *Z. rhoifolium* (fig 3. C). Na face abaxial de *Z. minutiflorum* pode-se observar tricomas glandulares pedunculados presentes em depressões epidérmicas. São formados por células basais que variam de 6 a 8 células. As células apicais do tricoma variam em forma e tamanho apresentando-se algumas vezes unisseriadas ou bisseriadas. Esses tricomas também estão presentes na face adaxial (fig 3. D). Em secção paradérmica, pode-se observar vascularização próxima as cavidades secretoras (fig 3.E). Nectários extraflorais folíolares do tipo embutido foram observados na face adaxial e na abaxial. As células do tecido secretor são globosas, pequenas, citoplasma denso e núcleo evidente. Algumas vezes são observados pequenos feixes vasculares próximo ao nectário (fig 3. F).

A nervura de *Zanthoxylum rhoifolium* em corte transversal tem formato côncavo-convexo (fig 4.A). Ocorrem cavidades na face abaxial da nervura central. O mesmo formato da nervura é observado em *Zanthoxylum minutiflorum* (fig 4.B).

O feixe vascular é do tipo colateral em *Z. rhoifolium*. Apresenta fibras em torno de todo feixe (fig 4.C). Em *Z. minutiflorum* o feixe vascular é do tipo colateral ocorrendo ao redor fibras esclerenquimáticas (fig 4.D).

No centro da nervura de *Z. rhoifolium* notam-se células que em secção transversal apresentam-se como células com conteúdo denso que aparentam conter resinas (fig 4.E). As fibras presentes em torno do feixe vascular de *Z. rhoifolium* apresentam parede bem espessa com lume reduzido (fig4.F). As células com conteúdo aparentando resina, em corte longitudinal, apresentam-se delimitadas, com paredes bem definida (fig 4. G).

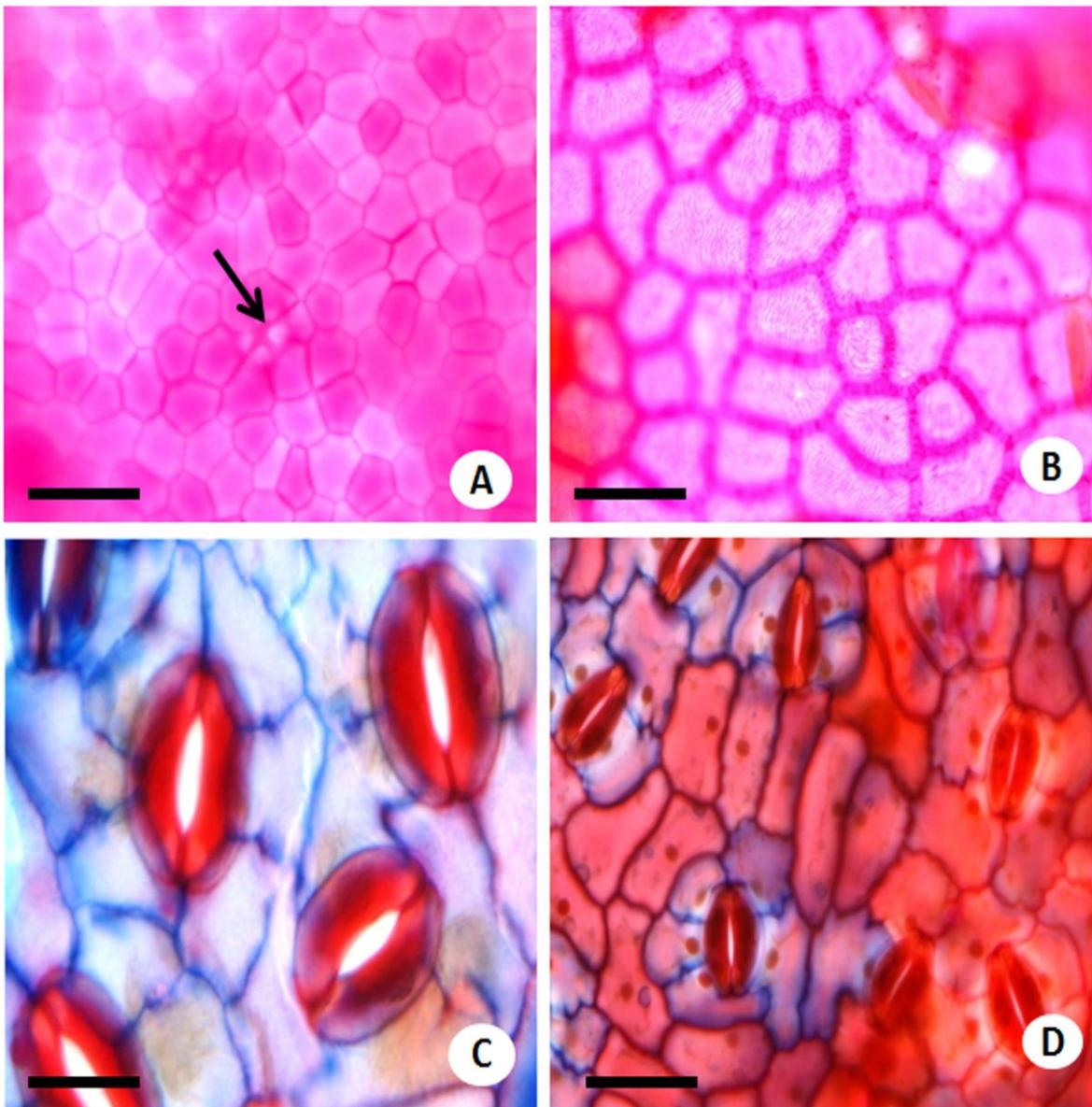
A presença dos compostos químicos no tricoma glandular foi evidenciada através da coloração diferencial da cor natural do secretado (fig 5.A) e a coloração obtida por meio dos testes.

A caracterização do coléter foi possibilitada devido a natureza hidrofílica da secreção e foi revelada por meio da reação de PAS (fig 5.B). Compostos fenólicos foram detectados nos tricomas glandulares através das reações utilizando os Reagentes Dicromato de Potássio (fig 5. C) e Cloreto Férrico III (fig 5. D), mas esses compostos não foram detectados com o reagente Vanilina Clorídrica (reagente específico para taninos).

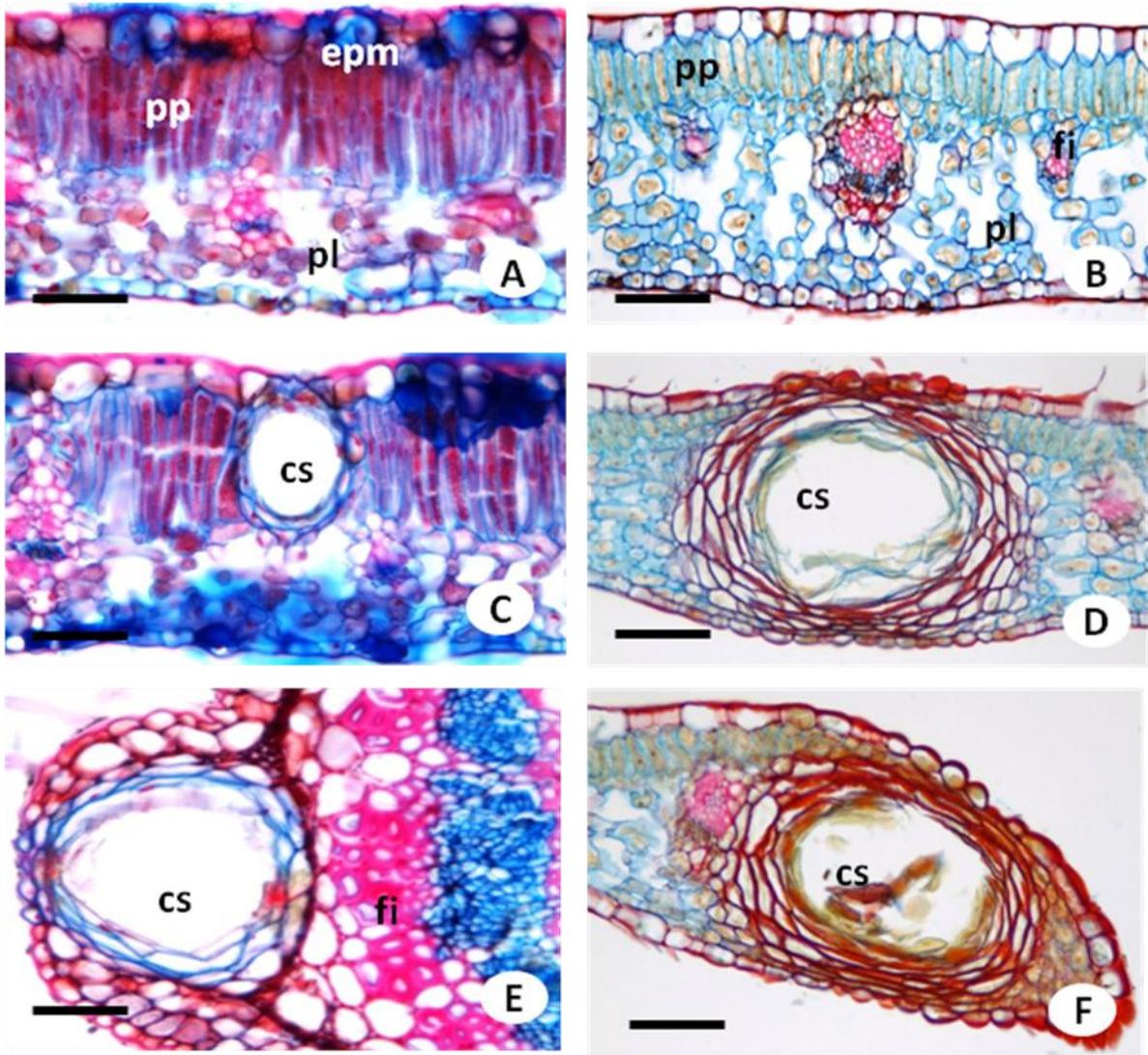
A comprovação dos lipídios não foi obtida por meio do reagente Sudan Black e Sudan Red. Não foram detectadas oleorresinas e óleos essenciais por meio do reagente de NADI.

A presença de polissacarídeos, lipídios e compostos fenólicos não foi confirmada para o nectário. Como também não foi verificada a presença de metabólitos secundários na cavidade, como observado na Tabela 2.

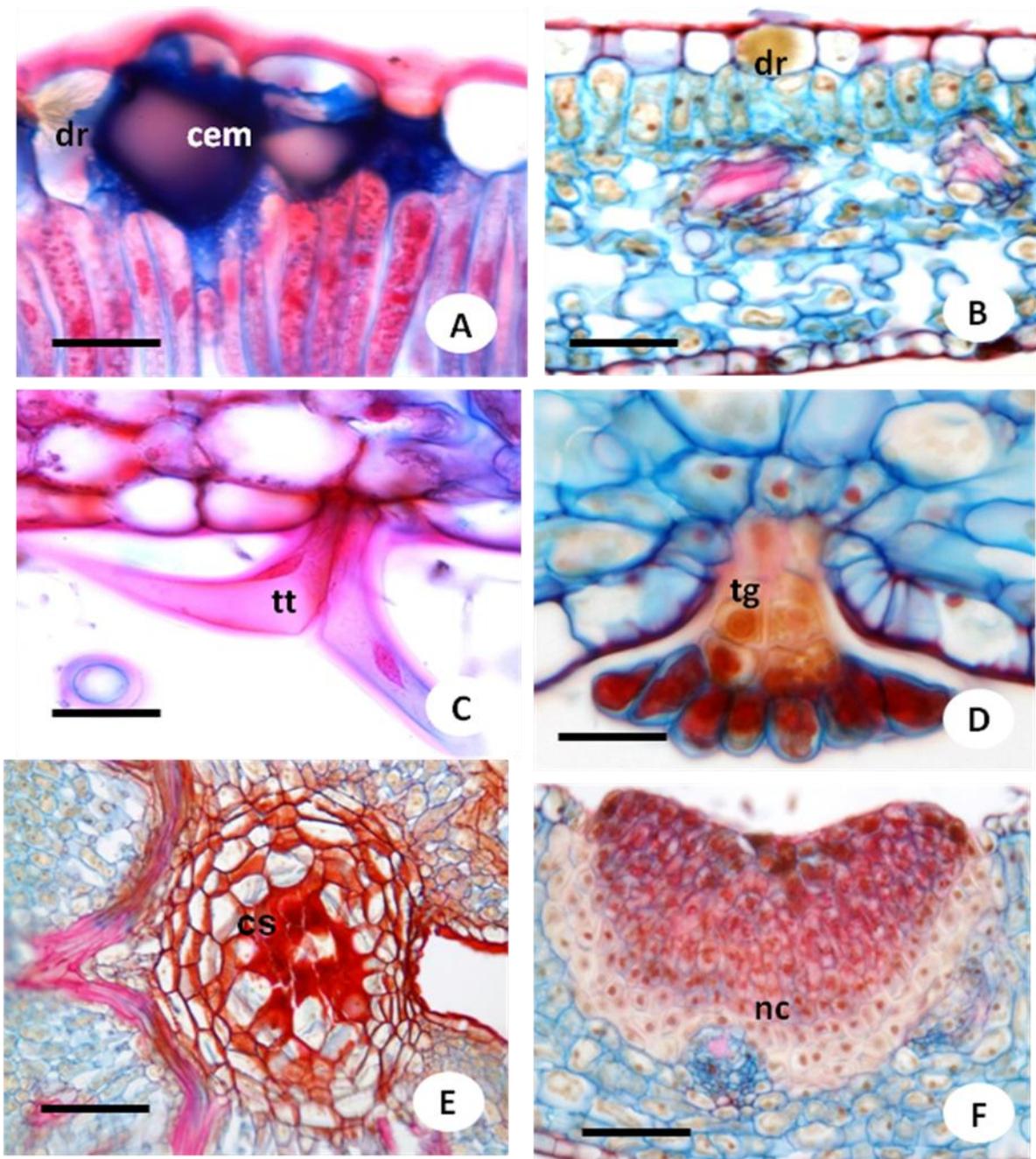
Esse resultado pode ser decorrente da interferência entre o fluído de congelamento e os reagentes aplicados, impedindo a revelação das substâncias presentes nas estruturas secretoras.



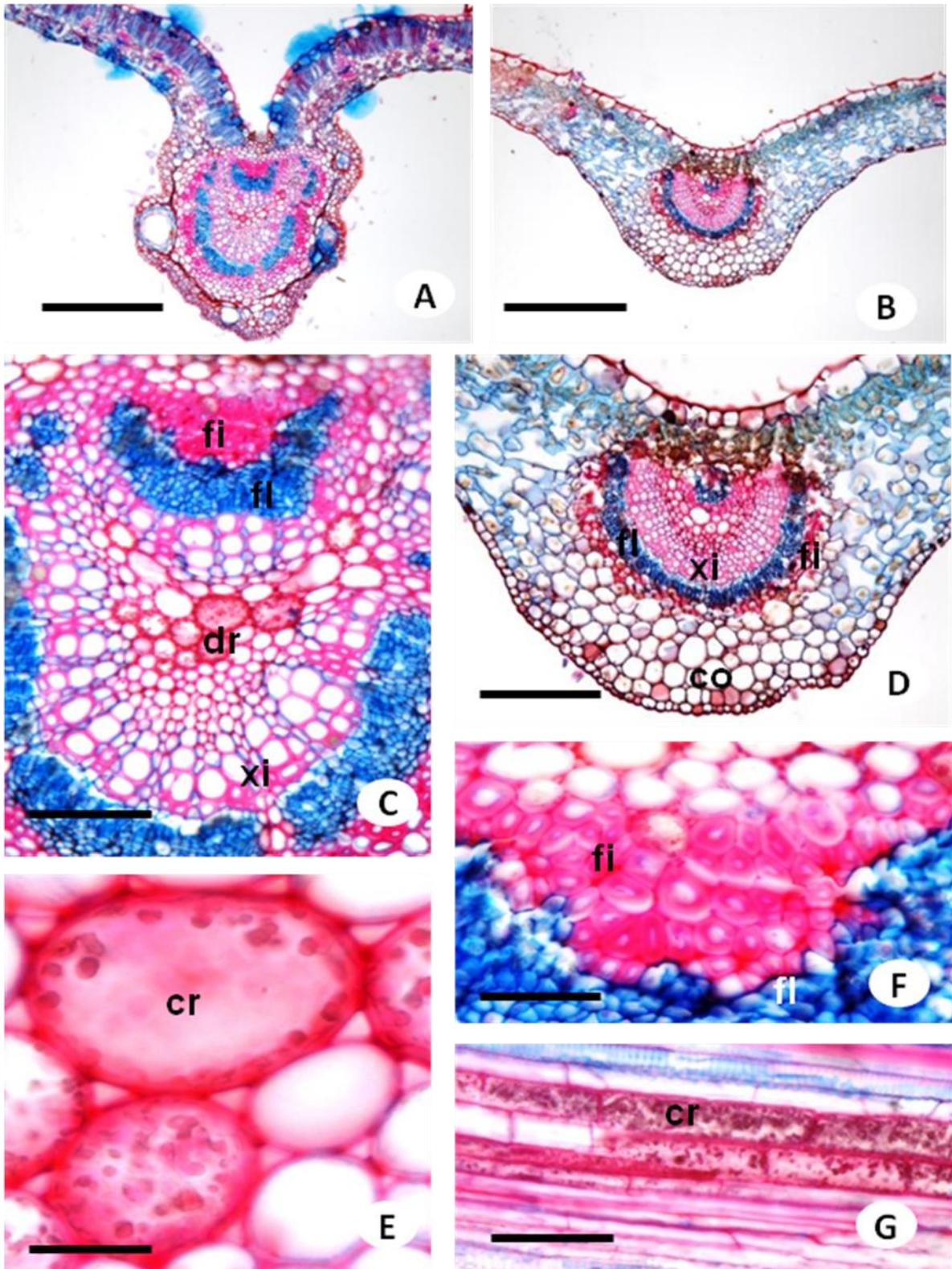
**Fig 1:** Epiderme de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum minutiflorum*. Vista frontal. **A.** Epiderme de *Zanthoxylum rhoifolium* e local de inserção do tricoma tector (seta). **B.** Epiderme *Zanthoxylum minutiflorum*. **C.** Estômato actinocítico em *Zanthoxylum rhoifolium*. **D.** Estômato actinocítico *Zanthoxylum minutiflorum*. Barra: A, B =120 $\mu$ m; C = 60 $\mu$ m; D=100 $\mu$ m



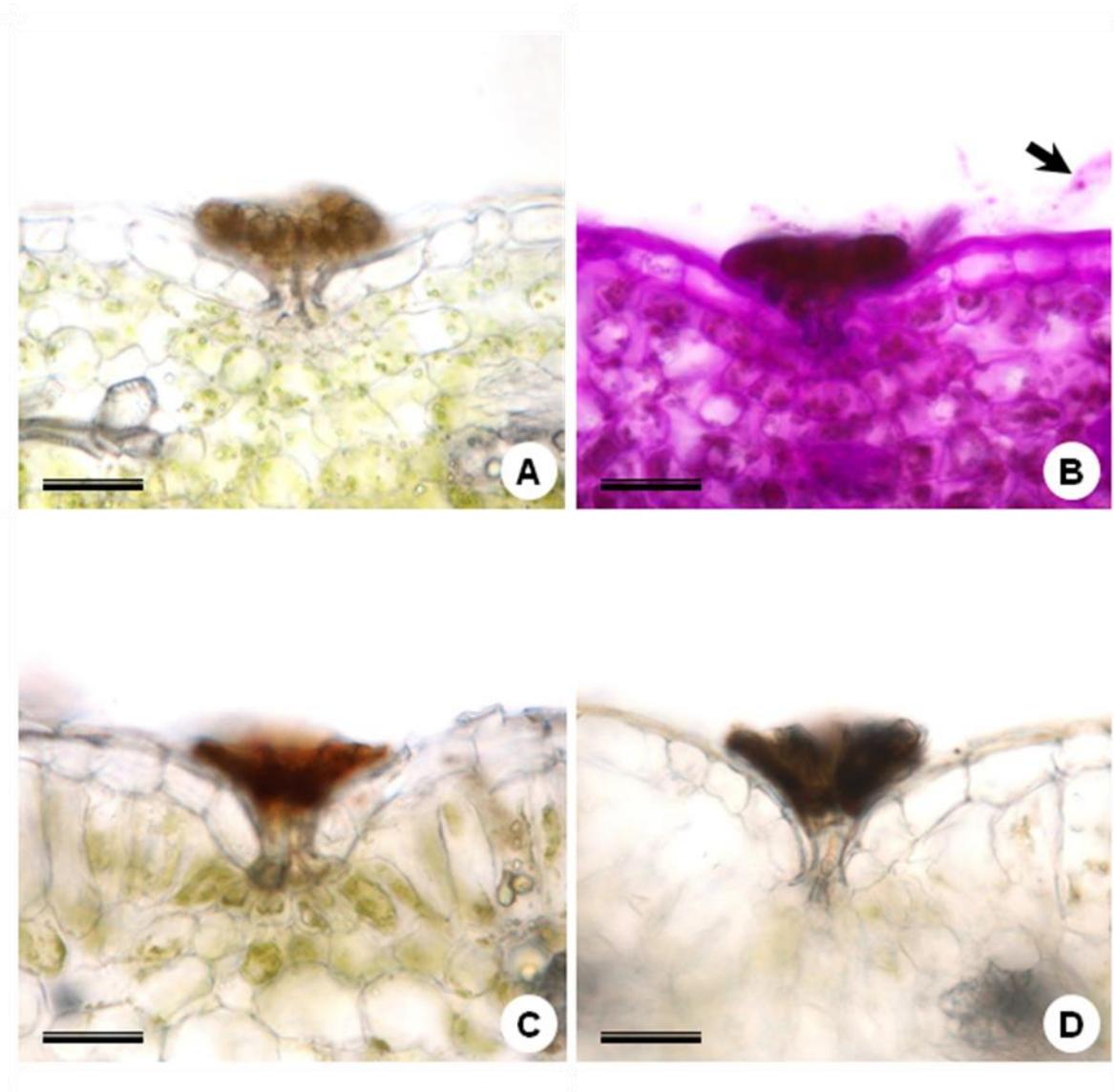
**Fig 2:** Organização foliar de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Z. minutiflorum*. Secção transversal. **A.** Mesofilo de *Z. rhoifolium*. **B.** Mesofilo de *Z. minutiflorum*. **C.** Cavidade secretora entre o parênquima paliçádico de *Z. rhoifolium*. **D.** Cavidade no mesofilo de *Z. minutiflorum*. **E.** Cavidade na porção inferior da nervura central de *Z. rhoifolium*. **F.** Cavidade no bordo foliar de *Z. minutiflorum*. **Abreviatura-** **epm:** epiderme mucilaginosa, **ep:** epiderme, **pp:** parênquima paliçádico, **pl:** parênquima lacunoso, **cs:** cavidade secretora, **fi:** fibras, **fv:** feixe vascular, **fl:** floema, **dr:** drusa. Barra: 120µm.



**Fig 3:** Organização foliar de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Z. minutiflorum*. Secção transversal e paradérmica **A.** *Z. rhoifolium*. **B.** *Z. minutiflorum*. **C.** Tricoma tector de *Z. rhoifolium*. **D.** Tricoma glandular pedunculado *Z. minutiflorum*. **E.** Glândula do bordo de *Z. minutiflorum*. **F.** Nectário extrafloral *Z. minutiflorum*. **Abreviatura-** **ed:** epiderme adaxial, **cu:** cutícula, **cem:** células mucilaginosas, **dr:** drusa, **eb:** epiderme abaxial, **tt:** tricoma tector, **fv:** feixe vascular, **tg:** tricoma glandular, **cs:** cavidade secretora, **nc:** nectário. Barra: A,C,D,E,F =80µm;B=120µm.



**Fig 4:** Nervura central de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Z. minutiflorum*. Secção transversal e longitudinal. **A.** Vista geral de *Z. rhoifolium*. **B.** Vista geral de *Z. minutiflorum*. **C.** Feixe vascular *Z. rhoifolium*. **D.** Feixe vascular de *Z. minutiflorum*. **E.** Detalhe das células resiníferas em *Z. rhoifolium*. **F.** Fibras esclerenquimáticas em *Z. rhoifolium*. **G.** Células resiníferas em *Z. rhoifolium*. **Abreviatura-** fi: fibras, fl: floema, xi: xilema, cr: célula aparentando ser resinífera, co: colênquima. Barra: A, B= 200µm; C= 80µm; D= 120µm; E= 30µm; F,G= 60µm.



**Fig 5:** Caracterização histoquímica dos tricomas glandulares em *Zanthoxylum minutiflorum* Tul. Secção transversal. **A.** Controle. **B.** Reação com o PAS. **C.** Reação com o Dicromato de Potássio. **D.** Reação com o Cloreto Férrico. **Legenda:** Seta – secreção no meio externo. Barra: 100  $\mu$ m.

**Tabela 2:** Caracterização histoquímica das cavidades, tricoma e nectário localizados nos folíolos de *Zanthoxylum minutiflorum* Tul.

<b>Grupo metabólico</b>	<b>Reagente</b>	<b>Cavidade</b>	<b>Tricoma</b>	<b>Nectário</b>
Lipídio	Sudan Black	-	-	-
	Sudan Red	-	-	-
Terpenóides	Reagente de NADI	-	-	-
Compostos fenólicos	Dicromato de potássio	-	+	-
	Cloreto férrico	-	+	-
	Vanilina clorídrica	-	-	-
Polissacarídeos	PAS	-	+	-

## 7. DISCUSSÃO

Em *Z. rhoifolium* as características encontradas como: epiderme unisseriada, células arredondadas com paredes sinuosas de tamanho variável, células mucilaginosas, difere dos dados encontrados por OGUNDIPE, 2002 que verificou em onze espécies de *Zanthoxylum*, epiderme com células mais longas que largas e, possuindo células que apresentam formato retangular, sem a presença de mucilagem.

A leve sinuosidade observada nas espécies estudadas, segundo MENEZES (2003) ocorre em razão, provavelmente, das tensões ocorridas na folha e do endurecimento da cutícula durante a diferenciação das células.

A presença de mucilagem na epiderme foi explicada por SOLEREDER, 1908, como formada por células de membranas mucilaginosas, tendo a função de proteção e hidratação das membranas fotossintéticas.

Estômatos paracíticos são descritos para a família, no entanto as espécies estudadas apresentam estômatos actinocíticos (METCALFE & CHALK 1957). Para o gênero *Zanthoxylum*, o tipo de estômato mais observado é o tipo actinocítico que possui como característica de 3-10 células subsidiárias dispostas perpendicular e radialmente em torno das células guarda, mas outros tipos podem ocorrer menos frequentemente como os paracíticos, tetracíticos, policíticos e ciclocíticos. Ambas as espécies são hipoestomática (OGUNDIPE, 2002).

Segundo KUNDU e TIGERSTEDT (1998), a distribuição dos estômatos na face abaxial pode representar proteção contra as condições microambientais, como temperatura mais elevada na face adaxial e o grau de umidade, que é maior na face abaxial.

SOLEREDER, 1908 descreve para família variados tricomas, dentre eles, os tricomas tectores estrelados e tricomas glandulares, ambos presentes nas espécies estudadas neste trabalho.

METCALFE & CHALK, 1950 classificam como tricoma estrelado qualquer tricoma não glandular e ramificado. Muitas vezes, os tipos fasciculados, multirradiados e dendríticos são denominados indistintamente como estrelados. De acordo com LARCHER (2001), a densa cobertura de tricomas sobre a superfície da folha age como um filtro capaz de modificar a radiação direta em luz difusa e

aumentar a reflexão da mesma, minimizando assim o efeito da radiação intensa nos tecidos fotossintetizantes.

Segundo WERKER (2000), os tricomas tectores densamente distribuídos em folhas podem servir como uma barreira mecânica contra temperaturas extremas, alta intensidade luminosa, perda excessiva de água, entre outros fatores.

Os tricomas glandulares são descritos para os órgãos vegetativos como predominante em folhas, havendo poucas espécies que possui esse tipo de tricoma em caule (PAULA & ALVES, 1973).

Folhas dorsiventrals são comuns em Rutaceae (METCALFE & CHALK 1957). No mesofilo, a presença de fibras e da bainha vascular pode indicar participação nos processos de condução, ampliando, assim, o contato entre as células do mesofilo e do sistema vascular; a presença de parênquima clorofiliano paliçádico, com células grandes, alongadas perpendicularmente e unidas, também contribui para formar barreira de proteção contra a perda de água (DENGLER, 1994).

Segundo DENGLER 1994, o alongamento perpendicular das células do parênquima paliçádico à custa do parênquima lacunoso é o que altera notavelmente a relação superfície/volume da folha e favorece a transferência perpendicular de carboidratos e nutrientes na folha.

As cavidades secretoras encontradas nas espécies estudadas são do tipo lisígena, pois existe rompimento das células que compõem a estrutura para a formação do lume. Os dados encontrados no presente trabalho contrariam as informações encontradas na literatura referente à família e ao gênero, como não corroboram com os dados encontrados por OGUNDIPE, 2002 que verificou a presença de cavidades secretoras de óleo de origem esquizógena, presentes no mesofilo e foi observada nas onze espécies estudadas pelo referido pesquisador. As cavidades secretoras são referidas na literatura como manchas translúcidas em folhas de rutáceas.

Inclusões celulares foram identificadas por OGUNDIPE, 2002, nas espécies estudadas pelo autor apresentaram-se como substâncias taníferas, fato não observado no presente estudo.

As drusas normalmente são formadas por oxalato de cálcio e são abundantes em Rutáceas. Adicionalmente, os cristais podem refletir uniformemente a radiação solar entre as células do mesofilo, devido às suas propriedades reflexivas (LARCHER, 2001).

Os nectários, segundo ROSHCHINA & ROSHCHINA, 1993 são estruturas secretoras de néctar que ocorrem na superfície de vários órgãos vegetais. Desempenham diferentes funções ecológicas dependendo da sua posição, estrutura, composição química do néctar, entre outros fatores. Fisiologicamente, são considerados como estruturas responsáveis pela secreção de excesso dos fotoassimilados.

O néctar é uma solução composta basicamente por glicose, frutose, sacarose, nas mais variadas concentrações, podendo conter ainda mucilagem, aminoácidos, proteínas entre outros. A composição do néctar pode variar dependendo da posição e do tipo de nectário (ROSHCHINA & ROSHCHINA, 1993).

No presente trabalho foi observado o nectário extrafloral embutido que segundo ELIAS, 1980 é uma categoria adicional de nectário extrafloral, que se apresenta totalmente imerso nos tecidos do órgão no qual ocorre.

A citação de nectário extrafloral foliolar é descrito pela primeira vez no presente trabalho. Segundo METCALFE & CHALK, 1950 a família possui registro de nectário floral para o gênero *Citrus*. BERNARDELLO, 2007 cita a presença de nectário intraestaminal, próximo a base do ovário modificado em ginóforo nectarífero, mas não especifica o gênero. Não há relatos da presença de nectário extrafloral para o gênero *Zanthoxylum*, assim como para Rutaceae.

A presença de nectários extraflorais pode estar distribuída pela extensão do mesofilo e pode ser justificada pelo patrulhamento de formigas que cobrem uma porção da folha enquanto buscam por néctar, o que pode resultar em maiores taxas de herbívoros descobertos pelas formigas, aumentando as taxas de predação (PAIVA, 2006). O mesmo autor encontrou para *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae) nectários extraflorais localizados na face abaxial e atribuiu a localização, a diminuição da evaporação do néctar, aumentando a disponibilidade para os agentes protetores.

PAIVA, 2006 observou em outros estudos que o início da secreção se dá com a folha ainda jovem, a observação do exsudado em maior quantidade no início da fase secretora, mostra que a planta oferece recompensa em uma forma mais energética no momento de maior suscetibilidade ao ataque de herbívoros, ou seja, quando as folhas estão em processo de expansão e diferenciação, no caso das Fabáceas, tem início por ocasião da ruptura das estípulas, quando a folha jovem é exposta e estende-se após a completa expansão da folha. Este padrão de

funcionalidade é freqüente em nectários extraflorais e foi observado também em outras famílias (ELIAS *et al.* 1975; DURKEE 1982 *apud* PAIVA 2006).O fim da secreção do nectário está associado ao fim da vida útil na planta podendo essa relação não ser observada em outras plantas.

A presença de vascularização próxima as glândulas secretoras podem ser indício da participação dos tecidos vasculares na transferência de materiais para o tecido secretor (PAIVA, 2006).

Segundo DELL & McCOMB, 1978 secreções resinosas externas proporcionam resistência foliar e proteção as gemas vegetativas axilares e apicais, em regiões áridas, já as secreções internas parecem estar relacionadas à defesa contra o ataque de insetos.

LANGENHEIM, 1990 sugeriu que a complexidade química das resinas faz dela um versátil componente defensivo das plantas, os compostos individuais tem potencial para serem tóxicos ou dissuasivos em várias concentrações e as frações voláteis influenciam na viscosidade da resina e a capacidade de envolver os organismos que atacam as plantas. A variação na concentração dos compostos é uma propriedade defensiva, pois os insetos são capazes de se adaptar a qualquer composto simples e algumas espécies podem utilizá-lo como atrativo para o acasalamento ou utilizá-lo em sua própria defesa.

As substâncias exsudadas pelos vegetais tem sido foco de estudos de vários pesquisadores que tem tentado explicar sua natureza química e a função que elas desempenham no vegetal (PYYKKO, 1966; METCALFE,1983; FAHN,1988 e 2000; OLIVEIRA *et al* 1996; GONZÁLEZ *et al* 1997; NOGUEIRA *et al* 2001 *apud* FERNANDES, 2007). METCALFE 1983 *apud* FERNANDES, 2007 ressalta que algumas dessas substâncias fornecem subsídios para estudos estruturais e podem auxiliar na identificação taxonômica.

Os métodos de coloração histoquímica com controle adequado podem ser utilizados para qualificação de compostos de interesse nos tecidos vegetais. Dois ou mais testes devem ser aplicados para caracterizar a mesma substância (JENSEN, 1962 *apud* FERNANDES, 2007). Essa indicação é relevante porque a maioria dos testes usados para reconhecimento de metabólitos celulares não apresentam especificidade para apenas uma substância (KRAUS & ARDUIN,1997).

O resultado positivo do tricoma glandular para as reações com Dicromato de potássio, Cloreto férrico e com o PAS indicam que o secretado é uma substância complexa, ou seja, não é formada por apenas uma classe de metabólito secundário.

A não identificação de substâncias lipídicas nos tricomas pode ser um indício de que os coléteres estivessem em uma fase pós secretora, assim como as cavidades e o nectário, ou pode ser o resultado da interação entre o fluído de congelamento e os testes aplicados, o que pode ter impossibilitado a correta verificação do exsudado. Segundo THOMAS, 1991 os lipídios e amido são predominantes em células epiteliais e centrais em estágios pré secretor.

Em relação ao tecido secretor FAHN (1982, 1988, 2000) afirmou que os mesmos são usualmente classificados de acordo com as substâncias produzidas, mas como o mesmo tecido pode produzir um número diferente de substâncias, a classificação torna-se complexa.

A identificação de polissacarídeos no tricoma glandular indica que essa estrutura é um coléter devido a sua secreção hidrofílica. Segundo FAHN (1988), os coléteres podem estar presentes em órgãos vegetativos ou reprodutivos, liberando uma secreção viscosa (mucilaginosa ou resinosa) que protege e lubrifica meristemas em início de desenvolvimento.

Através do estudo histoquímico, detectou-se a presença de compostos fenólicos que tem a capacidade de inibir o crescimento de alguns fungos (DEMARCO, 2005). Os coléteres em *Zanthoxylum* tem a função de proteger e lubrificar os meristemas. A presença de fenóis nessa estrutura diminui a proliferação de fungos.

A presença de coléter para o gênero e para a família é citada pela primeira vez no presente trabalho. Os coléteres apresentam muitas semelhanças com outras estruturas secretoras o que levou muitos pesquisadores a denominá-los erroneamente como nectários e glândulas de resina. Por isso, a caracterização histoquímica possui grande relevância para a identificação da mucilagem e caracterizar a estrutura como coléter (MARTINS, 2012).

Entre as substâncias armazenadas e secretadas pelas plantas os compostos fenólicos, principalmente os taninos são muito frequente nas xerófitas (PYYKKO, 1966). ESAU (1974) e FAHN (1988 e 2000) mencionaram a possibilidade das substâncias tânicas estarem relacionadas com a proteção contra a dessecação, apodrecimento e ataque por fungos e bactérias.

Os compostos fenólicos são considerados substâncias de efeito adstringente, sendo que o tanino é conhecido pela sua ação contra herbívoros e patógenos (KOPTUR ,1992). Os fenóis atuam também na proteção das estruturas celulares contra o excesso de radiação ultravioleta e na manutenção da integridade do protoplasto em situações de estresse hídrico (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Embora os testes histoquímicos não possam identificar inequivocamente as principais classes de metabólitos secundários, eles podem ser úteis para um estudo preliminar da localização da secreção nas estruturas secretoras (ASCENSÃO & PAIS, 1988).

## 8. CONCLUSÕES

*Zanthoxylum rhoifolium* e *Z. minutiflorum* apresentam características que são comuns a família como estruturas secretoras, tricomas tectores e glandulares, glândulas e cavidades secretoras, mas também possuem características não relatadas a exemplo do nectário extrafloral e do coléter localizado na folha.

Algumas das características encontradas em *Zanthoxylum rhoifolium* podem ser fatores de proteção à intensidade de radiação a que a planta está exposta como leves sinuosidades epidérmicas, presença de mucilagem na epiderme, parênquima paliçádico alongado, como também a presença de muitos tricomas estrelados em ambas as faces.

Ambas as espécies, possuem caracteres que conferem características adaptativas, embora pertençam ao ambiente de Mata Atlântica, já que as espécies são encontradas comumente em áreas de clareiras.

A revelação de grupos metabólitos distintos, por meio dos testes histoquímicos para a mesma estrutura, indica uma constituição complexa do material exsudado pelo tricoma glandular em *Z. minutiflorum*.

São necessários mais estudos com as espécies, principalmente no que se refere à caracterização dos grupos metabólicos que possam revelar quais classes de metabólitos secundários estão presentes nas espécies, principalmente porque são plantas de uso medicinal tradicional e que desperta interesse pela indústria farmacêutica e pela medicina veterinária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIOLI, T., VOLTOLINI, C. H., SANTOS. 2008. Morfoanatomia foliar da reófito *Raulinoa echinata* R.S. Cowan –Rutaceae, **Acta Botânica Brasilica**, 22 (3):723-732.

ASCENSÃO, L. & PAIS, M.S. 1988. **Ultrastructure and histochemistry of secretory ducts in *Artemisia campestris* ssp. *maritima* (Compositae)**. Nordic Journal of Botany 8: 283-292.

BAKER, H.G. & BAKER, I. 1983. A brief historical review of the chemistry of floral nectar. In: BENTLEY, B. & ELIAS, T. (Eds.). **The biology of nectaries**. Columbia University Press, New York.

BERNARDELLO, G. 2007. A systematic survey of floral nectarines. In: Nicolson, S. W (Eds.). **Nectaries and Nectar**, Springer, Netherlands.

CAÑIZARES, A, SANABRÍA, M, ROJAS, E. 2005. Anatomía de la hoja de Lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), **Revista Udo Agrícola**, 5 (1): 68-73.

CONCEIÇÃO, D. M. 2009. **Caracterização histoquímica de folhas de Mentas infectadas por *Puccinia menthae* e *Erysiphe biocellata***, dissertação mestrado, UNESP, Botucatu, SP.

CRONQUIST, A. 1988. **The evolution and classification of flowering plants**. The New York Botanical Garden, New York.

DAVID, R & CARDE, J.P. 1964. **Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi**. C.R. Acad. Sci. Paris, Sér. D 258: 1338-1340.

DELL, B. & McCOMB, A. J. 1978. **Plant resins: their formation and possible functions**. Advances in Botanical Research 6: 277-316.

DEMARCO, D. 2005. **Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. *Blepharodon* Decne.** (Apocynaceae s.l.), tese, Unicamp, Campinas.

DENGLER, N. G. 1994. The influence of light on leaf development. In: IQBAL, M. (Ed.). **Growth patterns in vascular plants.** Oregon: Dioscorides Press.p.100-136.

ELIAS, T.S. 1980. **Foliar nectarines of unusual structure in *Leonardoxa africana* (Leguminosae), an african obligate myrmecophyte.** American Journal of Botany 67(3): 423-425.

ESAU, K. 1974. **Anatomia das plantas com sementes;** tradução Berta Langes de Morretes. São Paulo: Edgard Blucher.

ESAU, K. 1976 – **Anatomia vegetal.** Barcelona: Ediciones Omega, S.A., 3ª. Ed.

FAHN, A. 1979 – **Secretory tissues in plants.** London: Academic Press Inc., 1a. Ed.

FAHN, A.1982. **Plant Anatomy.** Pergamon Press. Oxford.

FAHN, A.1988. **Secretory tissues in vascular plants.** New Phitol, v. 108, p 229-257.

FAHN, A. 2000. **Structure and Function of secretory cells.** Advances in Botanical Research, v.31, p 37-75.

FERNANDES, S. D da C. 2007. **Morfologia, Anatomia, Histoquímica e Aspectos Fisiológicos da lâmina foliar de espécies de *Clusia* (Clusiaceae),** Dissertação de mestrado, UNB.

FREITAS, M.A, MORAES, E. P.F.2009. **Levantamento da avifauna da fazenda Jequitibá (Serra da Jibóia), município de Elísio Medrado/Bahia**, *Atualidades Ornitológicas On-line*, nº 147, jan/fev.

GABE, M. 1968. **Techniques histologiques**. Masson & Cie, Paris.

GALLARDO, L.H; JIMENEZ, M. E. 2002. Anatomía foliar de *Pilocarpus goudotianus* TUL. (Rutaceae), **Caldacia**, 24(2).

GONZÁLEZ-TEJERO, M. R, CASARES-PORCEL, M. 1996. **La Anatomía vegetal como método de Identificación en etnobotánica**, *Monograf. Jard.Bot.Córdoba* 3:33-37.

HIGH, O.B. 1984. **Lipid histochemistry**. Oxford University Press, New York.

JANSEN, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. **Evolution**. 20: 249-275.

JOHANSEN,D.A.1940. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill, New York.

JUDD, W. S; CAMPBELL, C. S; KELLOGG, E. A; STEVENS, P. F & DONOGHUE, M. J. 2008. **Plant systematic, a phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Sunderland.

KRAUS, J.E & ARDUIN.M.1997. **Manual Básico em métodos em morfologia vegetal**,Rio de janeiro, EDUR.

KUNDU, S. K.; TIGERSTEDT, P. M. A. 1998 Variation in net photosynthesis, stomatal characteristics, leaf area and whole plant phytomass production among ten provenances of neem (*Azadirachta indica*). **Tree Physiology**, n.19, p.47-52.

LANGENHEIM, J. H. 1990. Plant resins. **American Scientist**. 78: 16-24.

LARCHER, W.2001. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima. 531p.

MACE, M.E & HOWELL, C.R.1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Can.J.Bot.** 52: 2423-2426.

MAEDA,M.H, NOGUEIRA,K.B, FERREIRA,P.C, SILVA,R.M.G, SILVA,L.P, **Levantamento etnofarmacológico da atividade tripanocida de extratos vegetais de plantas medicinais do cerrado no Alto Paranaíba- MG**, Disponível em:<<http://www.unipam.edu.br/perquirere/file/documento4.pdf>> (Acesso em: outubro, 2010).

MARTINS, F. M; LIMA, J. F; MASCARENHAS, A. A. S; MACEDO, T. P. 2012. Secretory structures of *Ipomoea asarifolia*: anatomy and histochemistry. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 22 (1):13-20.

McMANUS, J.F.A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology** 23: 99-108.

MELO, M.F.F, ZICKEL,C.S. 2004. Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Esenbeckia* Kunt (Rutaceae) no estado de Pernambuco, Brasil, **Acta Botânica Brasílica**, vol 18, nº 1, São Paulo, Jan/Mar, 2004.

MENEZES, N. L. *et al.*2003. (Eds.) **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003, 303-311.

METCALFE, C. R, CHALK. L. 1950. **Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**, vol 1. Oxford : Clarendon Press.

METCALFE, C.R, CHALK.L,1957. **Anatomy of the Dicotyledons**, vol 1, Oxford.

OGUNDIPE, O. 2002. Leaf anatomical studies on eleven species of *Zanthoxylum* Linn. (Rutaceae), **Phytomorphology**, 52 (2 &3),p 103-112.

OLIVEIRA, P.S. 1997. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). **Functional Ecology** 11: 323-330.

PAIVA, E. A.S, MACHADO,S.R. 2006. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae), **Acta bot. bras.** 20(2): 471-482. 2006.

PAULA, J. E & ALVES, J. L. H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl.( Anacardiaceae da Amazônia). **Acta Amazonica** 3: 39-53.

PEARSE, A.G.E. 1985. **Histochemistry: theoretical and applied**. Vol II. Livingstone, Edinburgh.

PENELUC, T. 2007. **Atividade Antinematóide do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutaceae)**, Dissertação mestrado,UFBA.

PEREIRA, Z. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO,A. A. 2003. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (RUBIACEAE). **Revista Árvore**, v.27, n.6, p.759-767.

PYYKKO, M. 1966.The leaf anatomy of east Patagonian xeromorphic plants. **Ann. Bot. Fenn.**, v.3(4), p. 453-622.

ROSHCHINA, V.V. & ROSCHINA, V.D. 1993, **The excretory function of higher plants**. Springer- Verlag. Berlin.

SILVA, L. L, PAOLI, A. A. S. 2000. Caracterização morfo-anatômica da semente de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam.(Rutaceae), **Revista Brasileira de Sementes**, vol 22,nº2, p 250-256.

SILVA, L. M, ALQUINI, Y, CAVALLET, V. J. 2005. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal, **Acta bot.bras.** 19(1): 183-194.

SHOBE, W. R.; LERSTEN, N.R. 1967. A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. **Botanical Gazette**, 127(2): 150-152.

SOLEREDER, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**, vol 1, Oxford.

SOUZA, V.C, LORENZI, H. 2005. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII, Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre, Editora Artmed.

THOMAS, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. **Ann Bot-London** 68: 287-305.

VALENTE, E.B, PÔRTO, K.C, Hepáticas (Marchantiophyta) de um fragmento de Mata Atlântica na Serra da Jibóia, Município de Santa Teresinha, BA, Brasil, **Acta Botânica Brasilica**, 20(2):433-441, 2006.

VILLAMIZAR, V.E.M, SUÁREZ, L.E.C, JIMÉNEZ, K. 2007. Usos em medicina folclóricas, actividad biológica y fitoquímicas de metabolitos secundarios de algunas espécies del género *Zanthoxylum*, **Revista de la Facultad de Ciencia de la Salud**, vol 4, nº2.

WERKER, E. 2000. Trichome diversity and development. In: HALLAHAN, D.L.; GRAY, J.C. **Plant Trichomes**. London: Academic, p.1-30.

WOODSON, R.E, Jr.; SCHERY, R. W, PORTER, D. M, ELIAS, T. S. 1979. **Flora of Panama**. Part VI, Family 89. Rutaceae, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, vol 66, nº 2, pag 123-164.