

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

CARACTERIZAÇÃO ANATOMICA E HISTOQUÍMICA DE
Mabea uleana Pax & K. Hoffm. (EUPHORBIACEAE)

Bolsista: Thiago Pessoa Barros, CNPq.

MANAUS
2011

CARACTERIZAÇÃO ANATOMICA E HISTOQUÍMICA DE
Mabea uleana Pax & K. Hoffm. (EUPHORBIACEAE)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

CARACTERIZAÇÃO ANATOMICA E HISTOQUÍMICA DE
Mabea uleana Pax & K. Hoffm. (EUPHORBIACEAE)

Bolsista: Thiago Pessôa Barros, CNPq.

Orientadora: Prf^a Dr^a Maria Gracimar Pacheco de Araújo.

MANAUS
2011

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Instituto de Ciências Biológicas e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Instituto de Ciências Biológicas e se caracteriza como subprojeto do projeto de pesquisa “Morfologia de plantas amazônicas com ênfase na ilustração científica e como contribuição à taxonomia vegetal”.

RESUMO

Mabea (Euphorbiaceae) é bem representado na região amazônica, onde está sua maior diversidade. Não há nenhum estudo visando a anatomia e histoquímica neste gênero, apesar da necessidade de definição de parâmetros de diferenciação de gêneros ou mesmo de espécies, devido à grande diversidade de caracteres na família. Com isso, o objetivo do estudo foi caracterizar a anatomia e histoquímica das folhas de *Mabea*, visando contribuir para o reconhecimento das espécies. Durante o estudo foi possível descrever apenas uma espécie, *Mabea uleana* Pax & K. Hoffm. O material botânico foi coletado em três indivíduos no baixio da Área de Proteção Permanente do ramal DNER, km 16 da BR 174, AM, Brasil, e de três indivíduos localizados no campus da UFAM, Setor Sul, obtendo-se dez folhas/indivíduo. Parte das folhas foi fixada em FNT para a caracterização anatômica. A histoquímica foi feita com material fresco, utilizando-se três repetições para cada teste, utilizando-se Lugol, Sudan IV, Oil Red, Reagente de Wagner, Dicromato de potássio, Xilidine Ponceau, Cloreto de Ferro e Vanilina clorídrica, para evidenciar amido, lipídios, proteínas terpenóides, alcalóides, compostos fenólicos em geral e taninos, respectivamente. *Mabea uleana* tem características de planta escleromorfa, possui tricomas glandulares, multicelulares e com um ou dois braços e ceras epicuticulares. Foi possível distinguir diversos compostos, os quais: alcalóides, lipídeos, terpenóides, açúcares e proteínas. A espécie possui caracteres de potencial taxonômico e úteis para o reconhecimento do gênero, e, quem sabe, pode ser utilizados como padrão de diferenciação interespecífica, como os tricomas, por exemplo. Foram observadas características anatômicas mais precisas que adicionam informações a trabalhos mais antigos e contribuem com a sistemática. Algumas destas características podem estar relacionadas com interações ecológicas, como a presença de tanino como dissuasor alimentar e o fato de *Mabea uleana* ser escleromorfa no baixio, demonstrando que a planta possui mecanismos de resistência ao stress hídrico e plasticidade fenotípica em resposta ao ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia, metabólitos secundários, *Mabea*, Euphorbiaceae.

ABSTRACT

Mabea (Euphorbiaceae) is well represented in the Amazon region, where is its greatest diversity. There is no study to the anatomy histochemistry in this genre, despite the need to define parameters for differentiation of genera or even species, due the great diversity of characters in the family. Therefore, the objective of the study was to characterize the anatomy and histochemical of *Mabea uleana*, to contribute to the recognition of species. During of study went possible describe only one species, *Mabea uleana* Pax & K. Hoffm. The botanical material was collected in three individuals in the shallows of the Permanent Protection Area Extension DNER, km 16 BR 174, AM, Brazil, obtaining ten sheets / individual. Part of the leaves was fixed at FNT for anatomical characterization. The staining was done with fresh material, using three replicates for each test, using Lugol, Sudan IV, Oil Red, Reagent Wagner, potassium dichromate, xyloidines Ponceau, ferric chloride and hydrochloric acid Vanillin, to show starch lipids, proteins, terpenoids, alkaloids, phenolics and tannins in general, respectively. *Mabea uleana* has characteristics of plant sclerophylly, has glandular trichomes, multicellular and one or two arms and epicuticular waxes. It was possible to distinguish several compounds, including: alkaloids, lipids, terpenoids, sugars and proteins. The species has potential taxonomic characters and useful for the recognition of the genre, and can be used as a standard of interspecific differentiation, such as trichomes, for example. More precise anatomical features were observed, that add information to earlier work and contribute to the systematic. Some of these features may be related to ecological interactions, such as the presence of tannin as deterring food and the fact that *Mabea uleana* be sclerophylly on shoal environment, showing that plants have mechanisms of resistance to water stress and phenotypic plasticity in response to the environment

KEYWORDS: anatomy, secondary metabolites, *Mabea*, Euphorbiaceae.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. METODOLOGIA	4
2.1 ÁREA DE ESTUDO	4
2.2 AMOSTRAGEM E COLETA	4
2.3 ESTUDOS ANATÔMICOS	4
2.4 ESTUDOS HISTOQUÍMICOS	4
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
3.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA	9
3.2 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA	15
4. CONCLUSÃO	20
5. BIBLIOGRAFIA	21

1. INTRODUÇÃO

Euphorbiaceae está representada nas regiões tropicais e temperadas de todo o planeta em um total de 8.000 espécies, distribuídas em 317 gêneros, agrupados em 49 tribos e cinco subfamílias (WEBSTER, 1994b). No Brasil, de acordo com Barroso *et. al* (1991) ocorrem cerca de 72 gêneros e 1.100 espécies.

Levantamentos florísticos realizados no Brasil (LIMA *et. al*, 2009; KINOSHITA *et. al*, 2006 e RODRIGUES *et. al*, 2003, dentre outros) revelam que a família é uma das mais ricas e abundantes em diversos biomas.

A família Euphorbiaceae pode ser reconhecida vegetativamente por folhas simples alternas, látex branco leitoso, glândulas na base da lâmina foliar ou no ápice do pecíolo e pela presença de estípulas ou cicatrizes nas estípulas. No reconhecimento dos gêneros e das espécies dentro da família, outros caracteres vegetativos importantes são folhas de margem serreada ou dentada, venação palmada ou trinérvia, presença de escamas ou pêlos estrelados e, de forma menos evidente, pecíolos de base e ou ápice dilatados de comprimentos diferentes entre as folhas do mesmo ramo (RIBEIRO *et al.* 1999).

O gênero *Mabea* (Euphorbiaceae) abrange aproximadamente 50 espécies e pertence à tribo Hippomaneae, subtribo Mabeinae e subfamília Euphorboideae (WEBSTER, 1994). Esser (1993) destaca que o gênero possui ampla distribuição nos países neotropicais, com maior diversidade na região amazônica. São arvoretas

pequenas, com folhas dísticas em ramos horizontais ou pendentes. Os galhos são mais ou menos verticilados na inserção do tronco. O caule tem crescimento descontínuo, ou seja, em cada verticilo seu crescimento se dá a partir de uma gema lateral (RIBEIRO *et al.* 1999).

Na relação planta-ambiente, geralmente as variações morfoanatômicas mais expressivas são observadas nas folhas (FAHN, 1978; DICKISON 2000). Diversos estudos comprovam a importância da anatomia foliar na distinção de grupos taxonômicos e relações ecológicas das plantas. Pelegrin *et al.* (2009) destaca a anatomia foliar como ferramenta fundamental para diferenciar espécies separadas geograficamente, usando caracteres como células suberosas na face abaxial da folha, a forma oblonga de corpos silicosos e quantidade de esclerênquima na lâmina foliar em secção transversal. Arioli *et al.* (2008) conseguiu constatar através da análise estomática, da espessura, largura e de outros aspectos da lâmina foliar, a influência do regime de fluxo dos rios sobre folhas em uma planta reófito.

Estudos anatômicos favorecem ainda a identificação de plantas em um determinado ambiente natural, facilitando sua conservação, preservação e age em benefício das pesquisas taxonômicas.

Junto com a anatomia, a histoquímica também fornece subsídios não só para o conhecimento em taxonomia, respondendo e até levantando questões nessa área, mas também para o evidenciamento de potencial econômico de muitas plantas e princípios ativos revelando potencial medicinal ou não. Sant'anna-Santos *et al.* (2006) comprova a importância econômica do gênero *Spondias* (Anarcadiaceae) através da ausência de taninos na goma de *Spondias dulcis*. Com relação a uso de plantas em medicina popular, Fank-de-Carvalho (2006) questiona o real potencial fitoterápico de uma

espécie de cerrado através de análise de flavanóides em suas folhas. As evidências que a histoquímica fornece em todas essas áreas ajuda a moldar um conhecimento científico mais amplo e preciso sobre determinados gêneros de plantas.

A família Euphorbiaceae é conhecida por sua variabilidade de formas vegetativas, dificultando o reconhecimento dos seus representantes, sendo necessários estudos que visem estabelecer caracteres morfológicos como parâmetros de diferenciação dos gêneros desta família e de várias espécies do mesmo gênero. Araújo (2005) enfatiza que o estudo morfoanatômico com caráter unicamente descritivo, por si só já representa uma enorme contribuição aos estudos taxonômicos e filogenéticos. Entretanto, salienta a autora, este conhecimento pode, também, ser uma valiosa ferramenta para o entendimento da ontogênese dos órgãos de uma planta.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a anatomia e histoquímica de *Mabea uleana* Pax & K. Hoffm (Euphorbiaceae), visando contribuir com a taxonomia do grupo e fornecendo informações adicionais a respeito do gênero estudado.

2. METODOLOGIA

2.1 Área de estudo

O material botânico do estudo é proveniente da Área de Proteção Permanente localizada no ramal DNER, km 15 da BR 174, AM, Brasil e do Campus da Universidade Federal do Amazonas, Setor Sul. Os indivíduos do ramal ocorrem em ambiente de baixio e os da UFAM em ambiente de platô. Nestes locais, foram realizadas visitas para marcação de indivíduos de *Mabea* (Euphorbiaceae) e posteriormente houve a coleta de material botânico (folhas) para os estudos anatômicos e histoquímicos. A identificação da espécie deu-se no herbário da UFAM.

Os estudos anatômicos e histoquímicos foram realizados no Laboratório de Botânica Agroflorestal (LABAF) da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas.

2.2 Amostragem e coleta

Foi estudada a espécie *Mabea uleana* Pax & Hoffm., e foram utilizadas as folhas de três indivíduos em cada área de estudo, sendo coletada a média de dez folhas/indivíduo, perfazendo um total de 30 folhas/local de coleta e 60 folhas no geral.

Foram coletadas as folhas maduras, localizadas no terceiro nó, abaixo da gema apical, com a utilização de tesoura de poda e podão, dependendo da altura dos ramos.

O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos, umedecidos, devidamente identificados e conduzidos ao LABAF.

2.3 Estudos anatômicos

No LABAF, parte do material coletado (10 folhas/local de coleta) foi fixado em FNT (formalina neutra tamponada) e outra parte foi colocada em um recipiente com água e guardado na geladeira.

Após 24 horas, com o material acondicionado na geladeira (fresco), procedeu-se os cortes transversais da região central da folha (nervura central e lâmina foliar) utilizando micrótomo manual, para a confecção das lâminas que foram utilizadas para a caracterização estrutural.

Para a preparação destas lâminas, foram feitos cortes dos três indivíduos, em micrótomo manual e em seguida lavados em água destilada e hipoclorito de sódio por cinco minutos, e em água acética para neutralizar o hipoclorito, por três minutos.

Após este processo, aplicou-se o corante (Safrablau) 9:1 e os cortes passaram por uma bateria alcoólica de 30%, 50% e 70%, por três minutos cada, para desidratar o material.

Após o processo de coloração dos cortes, estes foram distribuídos em 6 lâminas, duas para cada indivíduo. Os cortes foram montados com gelatina glicerinada e vedados com esmalte (Figura 1).

O material fixado em FNT ficará estocado para a confecção de lâminas permanentes e inclusão no Laminário de Botânica Agroflorestal (LABAF) da UFAM.

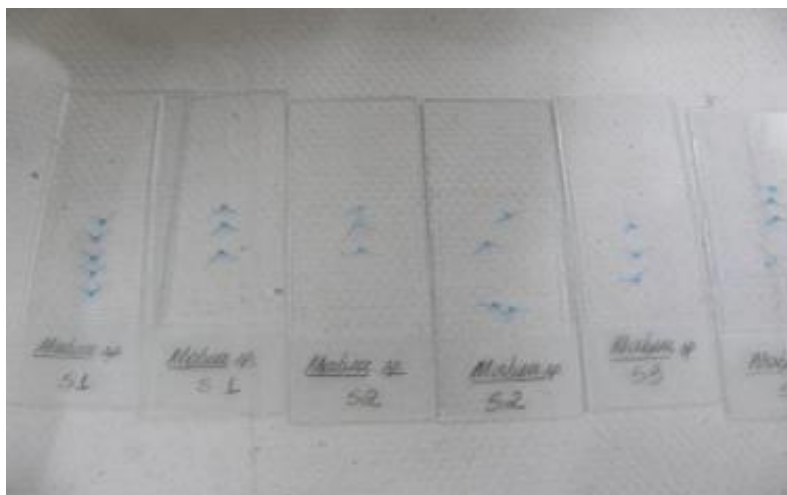


Figura 1 - Lâminas de cortes transversais da região mediana das folhas.

2.4 Estudos histoquímicos

Os procedimentos histoquímicos foram realizados com material fresco, apenas de folhas coletadas no Ramal DNER. Foram feitas secções transversais da região mediana das folhas (nervura central e lâmina foliar) e foi feita inicialmente uma lâmina branca (testemunha, sem qualquer reagente ou corante) com três cortes frescos correspondentes aos três indivíduos, para posterior comparação com as lâminas com os cortes que foram submetidos aos testes.

Em seguida, foram feitas as lâminas com três cortes cada, para os testes histoquímicos. Os cortes foram lavados em água e colocados nas lâminas, que

receberam cada um dos reagentes (Figura 2): Sudan IV por 15 minutos para evidenciar lipídios (PEARSE, 1980), Oil Red O por 5 minutos para evidenciar acúmulo de borracha (PEARSE, 1968 modificado por JAYABALAN & SHAH, 1986), Lugol por 5 minutos para evidenciar amido (JENSEN, 1962), Xilidine Ponceau por 15 minutos para evidenciar proteínas totais, reagente de Wagner por 5 minutos para evidenciar alcalóides (FURR & MAHLBERG, 1981), dicromato de potássio por 15 minutos para evidenciar compostos fenólicos (GABE, 1968), cloreto de ferro por 15 minutos para evidenciar compostos fenólicos gerais (JOHANSEN, 1940) e vanilina clorídrica por 10 minutos para evidenciar taninos.



Figura 2 – Reagentes (da esquerda para a direita): Sudan IV, Oil Red O, Lugol, Xilidine Ponceau, dicromato de potássio, Wagner e suas respectivas lâminas.

Após o tempo de reação, os cortes foram lavados e montados em água destilada ou em glicerina (no caso de Oil Red O) e as lâminas foram levadas a um

fotomicroscópio Karl Zeiss com câmera Cannon acoplada (Figura 3.) onde foram tiradas as fotomicrografias para proceder a análise histoquímica.



Figura 3 - fotomicroscópio Karl Zeiss.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracterização anatômica

Na nervura central, as células da epiderme observadas em *Mabea uleana* são papilosas na face abaxial e adaxial (Figura 5), como descrito por Solereder (1908) para o gênero *Mabea*, porém não há informações quanto ao tamanho das células de cada face, que pode ser um parâmetro de diferenciação. As células da face abaxial são menores e as da adaxial são mais alongadas, mas sempre papilosas. Na região intercostal, as células da face abaxial são papilosas, e as da face adaxial são mais alongadas ainda do que as da região da nervura central. Também foi observado que a epiderme é revestida por uma grande quantidade de ceras epicuticulares formando agregados aleatoriamente orientados na face abaxial da lâmina foliar (Figura 8), e tricomas glandulares (Figura 5) longos e espessos, multicelulares, simples (sem ramificações), que foram encontrados tanto nos indivíduos de baixio (Ramal DNER) como de platô (UFAM), ou com dois braços iguais, nos indivíduos de baixio. Metcalfe e Chalk (1988) e Solereder (1908) descrevem os tricomas de Euphorbiaceae como glandulares e não-glandulares, e quando com dois braços, apenas não-glandulares, contrariando o que foi observado, sugerindo-se estudos mais aprofundados quanto a morfologia destes tricomas na família e no gênero, bem como a natureza glandular.

O colênquima é angular (Figura 6), presente na face abaxial e adaxial da nervura central, em uma camada fina de células irregulares, precedendo o esclerênquima. Está visivelmente presente em menor quantidade se comparado ao esclerênquima, o que sugere que *Mabea uleana* seja uma espécie com características de planta

escleromorfa. Pode haver uma relação desse fator com o ambiente onde os indivíduos foram coletados, e a disponibilidade de água. Metcalfe e Chalk (1988) supõem que a presença de uma grande quantidade de esclerênquima se dá em condições de estresse hídrico, que previne a planta de um colapso.

Nos indivíduos de baixio, o esclerênquima é presente em grande quantidade entre o parênquima cortical e o colênquima na face abaxial (Figura 5), e sendo apenas um agrupamento de braquiesclereídes ou fibras na face adaxial (Figura 6), agrupamento este que não se verifica nos indivíduos de platô. Além destes, também se observa fibras esclerenquimáticas circundando o floema.

O tecido vascular da nervura central é constituído em um único arco colateral, em forma de “U”, sendo mais pronunciado nas folhas do baixio e mais aberto e “raso” nas folhas do platô. Circundando o floema foi verificada a presença de fibras, segundo Metcalfe & Chalk (1988), a presença de fibras no floema é de considerável importância taxonômica como caráter de diferenciação, porém são difíceis de classificar com exatidão, sugerindo-se estudos mais aprofundados, para detectar se existem fibras floemáticas ou apenas tecido esclerenquimático comum que geralmente circunda o sistema vascular. Canais secretores foram observados no floema, certamente relacionados à produção de látex, sendo mais freqüentes nas folhas do platô.

Na região intercostal da lâmina foliar, observa-se o mesofilo dorsiventral, formado por parênquima paliçádico, abaixo da epiderme adaxial (Figuras 7-8), organizado em uma camada de células alongadas horizontalmente, retangulares, de paredes retas. Nos indivíduos de *Mabea uleana* no platô, coletados no campus da UFAM), as células alongadas deste parênquima são menores que as encontradas nos indivíduos de baixio do ramal DNER. O parênquima paliçádico é seguido de um

parênquima lacunoso (Figura. 8), voltado para a face abaxial, com células alongadas horizontalmente, cúbicas e retangulares, e presença de grandes espaços intercelulares. Também foi possível distinguir a presença de feixes vasculares longitudinais nessa área (Figura 8).

O pecíolo é constituído de epiderme lignificada, com tricomas pluricelulares, seguida de uma extensa camada de colênquima angular, ocupando dois terços da região cortical; o córtex interno é constituído de células parenquimáticas globosas, paredes delgadas e tamanho variado. O tecido vascular é central, constituído em três freixes colaterais dispostos em arco aberto, circundando a medula parenquimática. Na região subepidérmica encontram-se drusas e ráfides (cristais de oxalato de cálcio), densamente distribuídas no colênquima. Estas drusas também são observadas na medula e circundando o floema (Figura 7).

Nas folhas de *Mabea uleana* proveniente do ramal DNER, há menos concentração de drusas, maior densidade de tricomas e os feixes vasculares são mais afastados, possivelmente uma adaptação ao ambiente. Os indivíduos do campus da UFAM, uma área antropizada, possuem uma maior concentração de drusas de oxalato de cálcio e uma menor densidade de tricomas, além de não apresentarem ramificações. É sabido que plantas de ambientes alterados, como mata secundária, por exemplo, tem uma tendência a concentrar muitos cristais de oxalato de cálcio, por possuir uma menor cobertura vegetal. Os cristais de oxalato de cálcio, que possuem propriedades reflexivas, apresentam-se como uma adaptação que reflete uniformemente a radiação solar entre as células do mesofilo (Larcher, 2000). Correa *et al.* (2008) observou que drusas em tecidos sub-epidérmicos foliares são uma estratégia de adaptação estrutural relacionada ao ambiente em espécies de Melastomataceae, ampliando o

aproveitamento da luz em locais sombreados. Então, provavelmente esta seja a razão para *M. uleana* apresentar uma maior densidade de drusas no platô, pois as plantas se encontram em um trecho muito alterado da área verde da UFAM.

A ausência de esclerênquima é compensada pelo colênquima e pela epiderme lignificada. Isto se justifica pelo fato do pecíolo ser um órgão de artifulação e sofrer ação mecânica do vento e outros agentes externos, e neste caso um tecido mais rígido poderia causar rompimento do órgão.

O aspecto geral da nervura central também apresenta diferenças para os dois ambientes, sendo mais achatada nos indivíduos de *Mabea uleana* do Campus e mais alongada no ramal DNER.

Embora os grupos de indivíduos (Ramal DNER e Campus UFAM) tenham sido identificados como sendo da mesma espécie, por externamente serem morfológicamente idênticos, apresentam nítidas diferenças anatômicas quando em ambientes diferentes. Isto reforça a necessidade de estudos anatômicos para possibilitar uma tomada de decisão entre duas opções: primeira, apesar de indivíduos da mesma espécie serem idênticos morfológicamente, os mesmos podem apresentar diferenças anatômicas em decorrência do ambiente; segunda, indivíduos que podem ser muito parecidos morfológicamente podem apresentar-se diferentes anatomicamente.

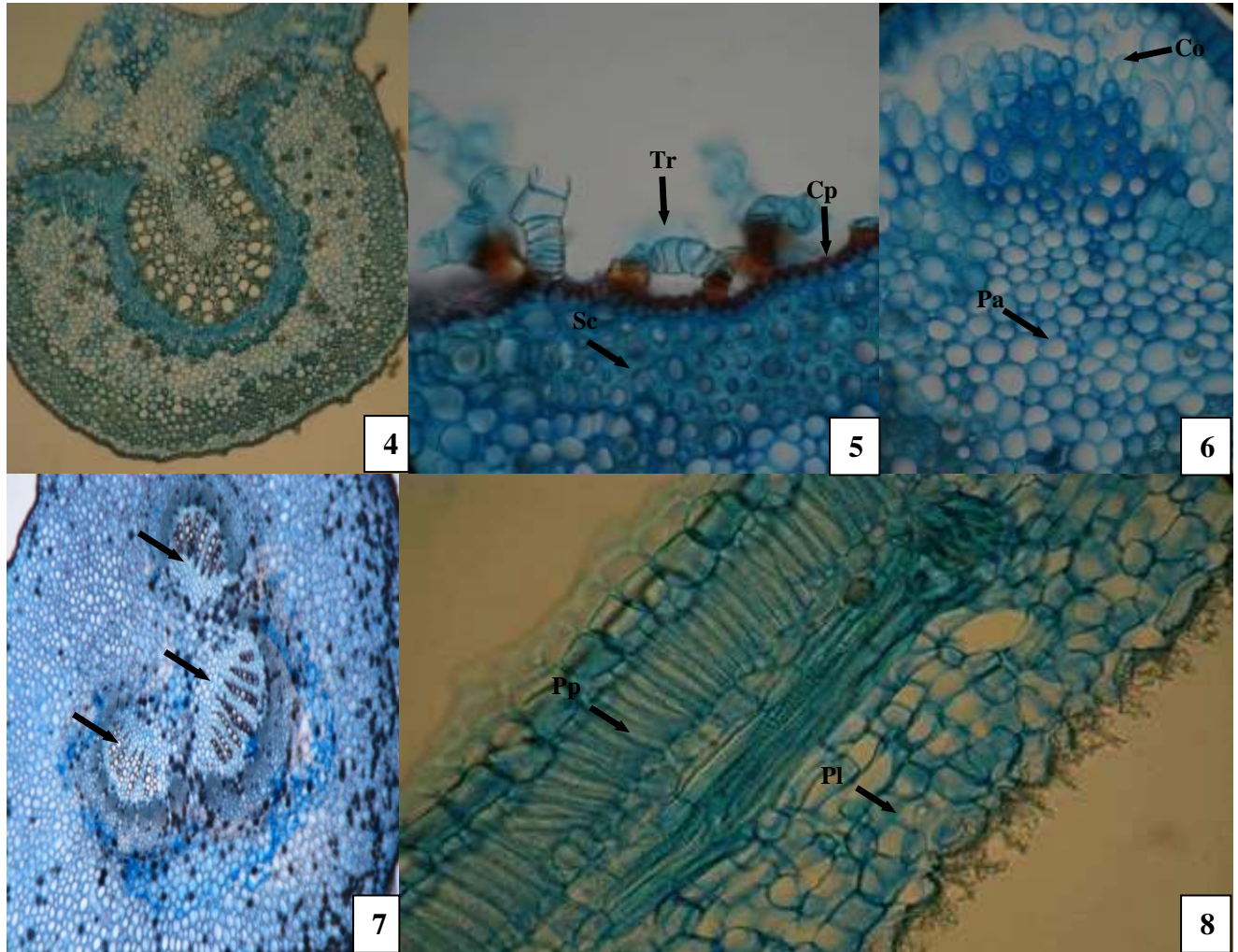


Figura 4-8 - Anatomia foliar de *Mabea uleana*, em corte transversal. 4. Detalhe da nervura central. 5. As setas indicam os tricomas glandulares (**Tr**) e o esclerênquima (**Sc**), além de ser possível a visualização da epiderme com células papilosas (**Cp**). 6. As setas indicam colênquima (**Co**) e parênquima (**Pa**). 7. Pecíolo. As setas indicam os três feixes que circundam a medula parenquimática. As setas indicam8. Mesofilo, destacando o parênquima paliçádico (**Pp**) e lacunoso (**Pl**).

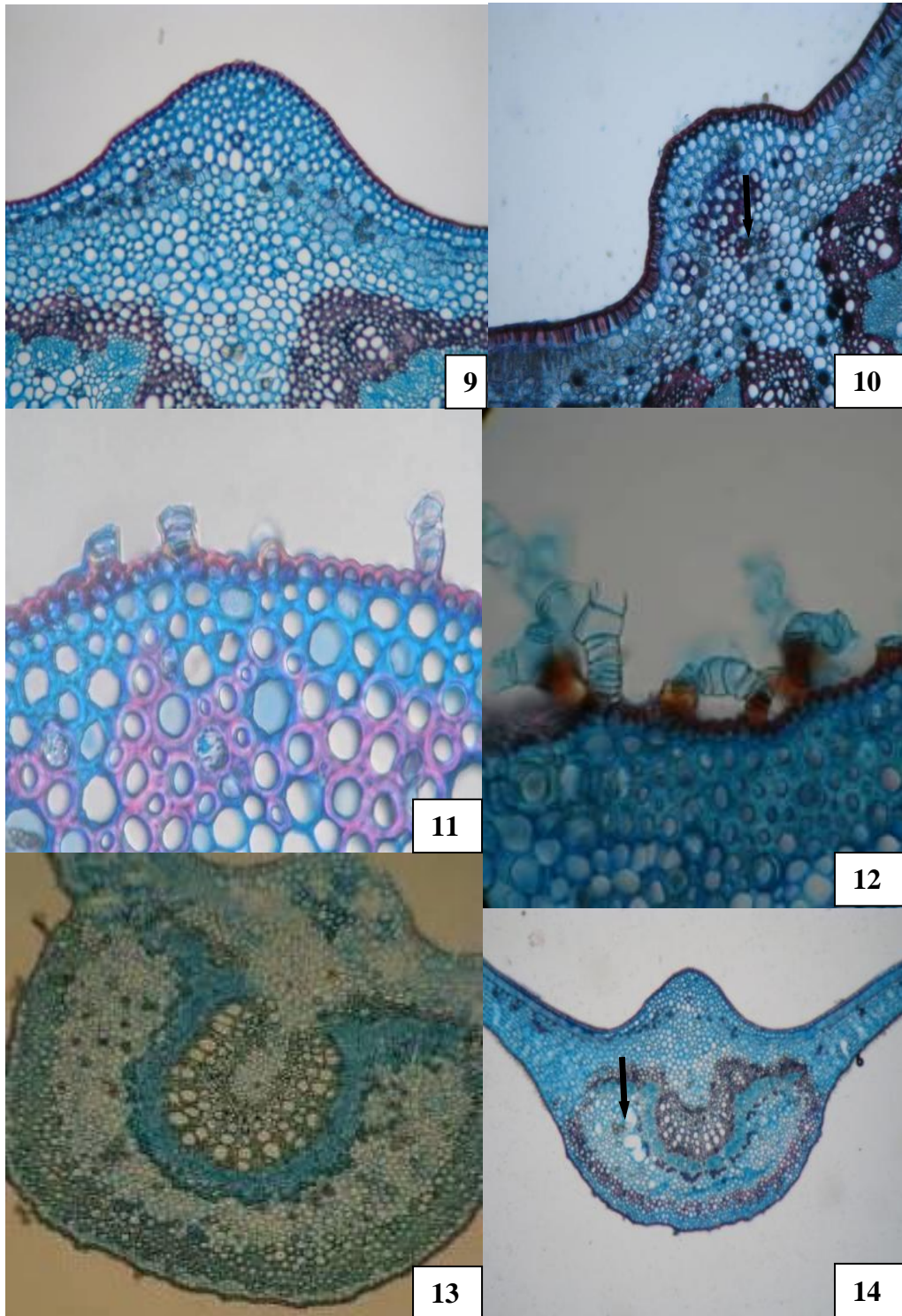


Figura 9-14 - Diferenças anatômicas observadas nas estruturas dos indivíduos de *Mabea uleana* coletados em ambiente de baixio e platô. 9-10. A seta indica o agrupamento de braquiesclereídes presente nos indivíduos do baixio (Fig. 10) e ausente nos de platô (Fig. 11). 11-12. Diferença anatômica entre os tricomas simples nos indivíduos de platô (Fig. 11) e ramificados no baixio (Fig. 12). 13-14 Aspecto geral da nervura central dos indivíduos do baixio e platô, respectivamente. A seta na Fig. 14 indica canais secretores.

3.2 Caracterização histoquímica

O Teste com Sudan IV foi positivo, revelando lipídios no conteúdo dos tricomas e na região da nervura central (Figura 9), na parede celular de células do parênquima cortical (Figura 10). Como foi observado na caracterização anatômica a presença de ceras epicuticulares, os lipídios nos tricomas glandulares podem estar associados com a secreção dessas ceras, que possuem na planta uma função estrutural segundo Raven (2001), que podem ajudar, por exemplo, formando barreiras à perda de água, mostrando, desta vez pela análise histoquímica, a adaptação de *Mabea uleana* a ambientes que proporcionam grande stress hídrico. Os lipídios identificados nas paredes celulares de células do parênquima cortical também possuem função estrutural.

O teste com reagente Oil Red O foi positivo, comprovando a presença de borracha na região nervura central (parênquima cortical), onde foi possível observar vários idioblastos com seu conteúdo corado de vermelho (Figura 11), e nas células papilosas da epiderme, que também coraram de vermelho (Figura 12). Esse fato está relacionado com o armazenamento de borracha, um terpenóide esperado em membros da família Euphorbiaceae. *Hevea* é um gênero explorado comercialmente devido a sua composição de borracha no látex, que vai de 40 a 60% segundo Raven (2001), tal volume necessário para o interesse comercial não é encontrado em *Mabea*.

O teste com Lugol (Jensen, 1962) foi positivo, corando de roxo o amido presente na nervura central (parênquima cortical) (Figura 13), e no mesófilo foi positivo nos parênquimas paliádico e lacunoso (Figura 14), o que era esperado, pois estes dois parênquimas são fotossintetizantes e apresentam açúcares nos cloroplastos como reserva natural da planta.

O método Xilidine Ponceau evidenciou a presença de proteínas totais através da coloração vermelha. Foi positivo nas paredes da epiderme, na região da nervura central (Figura 15), e também em esclereídes e fibras extraxilemáticas, na mesma região (Figura 16), mostrando-se apenas como elemento natural da parede celular e não como substância de reserva.

O teste com reagente de Wagner (Furr & Mahlberg, 1981), que evidencia alcalóides corando-os de vermelho, também foi positivo em fibras do esclerênquima, corando o conteúdo dentro das fibras (Figura 17), além de também corar o conteúdo dos tricomas (Figura 18). Alcalóides estão entre os mais importantes compostos ativos do ponto de vista farmacológico, ou medicinal, de muito interesse devido ao seu efeito psicológico e fisiológico nos seres humanos (Raven, 2001). São sugeridos estudos mais específicos e aprofundados sobre o potencial farmacológico ou medicinal destes alcalóides, mas sua presença no gênero *Mabea uleana* é confirmada.

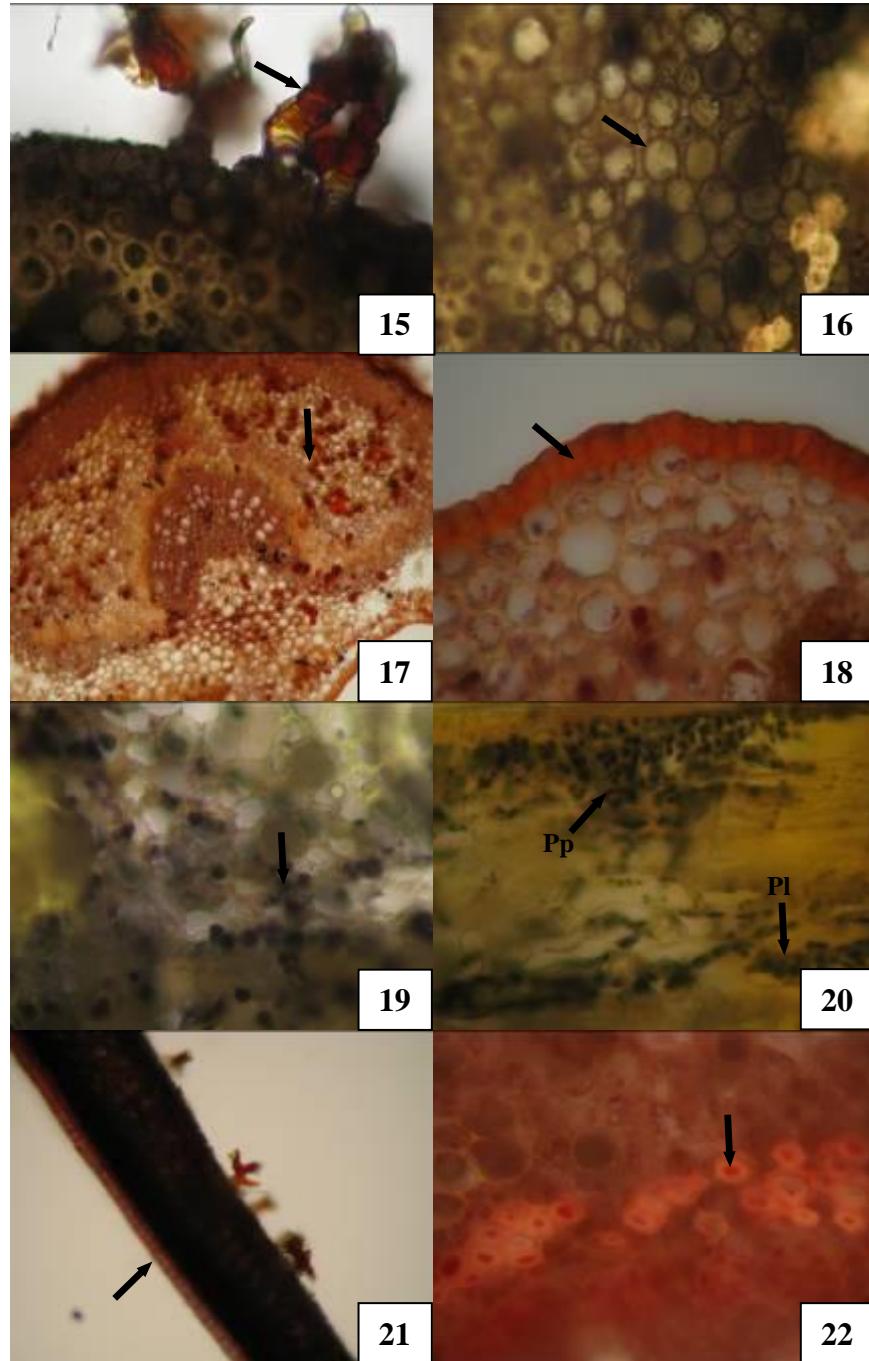
A reação com Dicromato de Potássio que evidencia compostos fenólicos, corando-os de castanho enegrecido (Gabe, 1968), foi positivo na região da nervura central (Figura 19), onde o conteúdo de algumas células da epiderme e parênquima cortical coraram de castanho, além do conteúdo dos tricomas (Figura 20).

A reação com Cloreto de Ferro, um teste que também evidencia compostos fenólicos, comprovou que os observados na reação com Dicromato de Potássio são

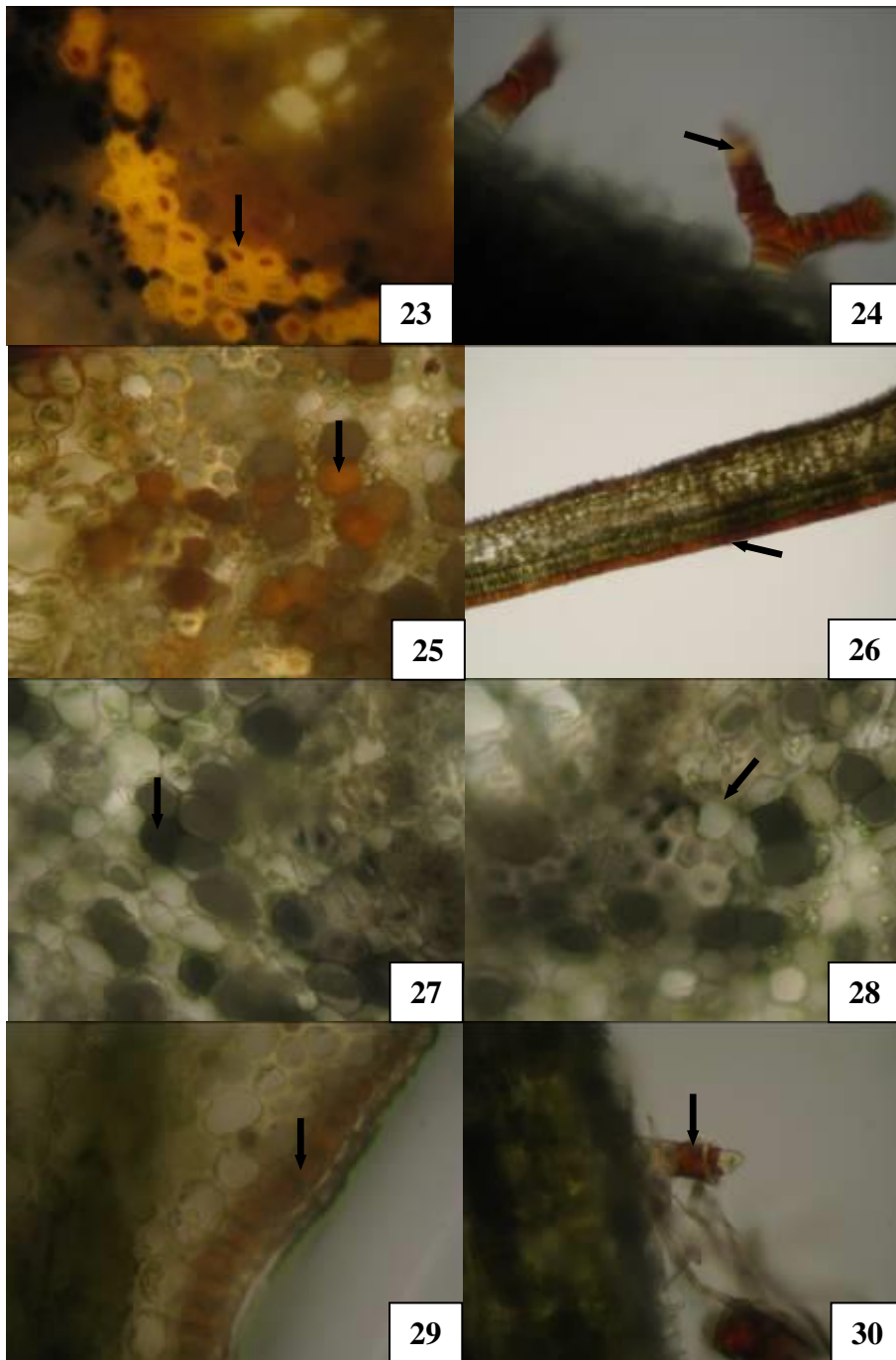
taninos, presentes em concentrações elevadas nas folhas de uma ampla variedade de plantas lenhosas, como descrito por Raven, (2001). Coraram de uma cor acinzentada o conteúdo de células do parênquima cortical (Figura 21) e as paredes celulares destas células com um verde intenso (Figura 22), sendo que, desses dois, apenas o conteúdo das células é tanino. A presença de taninos também sugere que seu conteúdo sirva como dissuasor alimentar, repelindo insetos, répteis, pássaros e animais superiores, principalmente o conteúdo dos tricomas.

Por fim o teste com Vanilina Clorídrica (Mace & Howell, 1974) confirmou a presença destes taninos vistos em células da epiderme (Figura 23) e no conteúdo dos tricomas (Figura 24) com a reação de dicromato de potássio, onde aqui seus conteúdos coraram de vermelho.

Observou-se que o conteúdo dos tricomas apresentou-se positivo em uma variedade de reações. Alguns trabalhos como Coutinho *et al.* (2010) descobriram que glândulas de *Sapium biglandulosum* (Euphorbiaceae), devido a sua complexidade, são na verdade nectários extraflorais. Diante disso sugere-se estudos mais aprofundados acerca dos tricomas de *Mabea uleana* e de outras espécies de *Mabea*.



Figuras 9-16 - Testes histoquímicos em cortes transversais de *Mabea uleana*. 9. Lipídios no conteúdo das glândulas. 10. Lipídeos na parede celular de células do parênquima. 11. Idioblastos no parênquima cortical, com acúmulo de terpenóides. 12. Terpenóides nas células papilosas da epiderme. 13. Grãos de amidas células do parênquima cortical. 14. Açúcares no parênquima paliádico (**Pp**) e parênquima lacunoso (**Pl**). 15. Proteínas na parede celular de células do mesofilo. 16. Proteínas no conteúdo de fibras.



Figuras 17-24 - Testes histoquímicos em cortes transversais de *Mabea uleana*. 17. Alcalóides no conteúdo de fibras do esclerênquima. 18. Alcalóides no conteúdo dos tricomas. 19. Compostos fenólicos nas células do parênquima cortical. 20. Compostos fenólicos nas células epidérmicas do mesofilo. 21. Taninos evidenciados em células do parênquima cortical. 22. Compostos fenólicos evidenciados nas paredes celulares de células do parênquima cortical (corados de verde). 23. Taninos em células da epiderme. 24. Taninos no conteúdo dos tricomas.

4. CONCLUSÃO

A caracterização anatômica em conjunto com a histoquímica mostrou que *Mabea uleana* apresenta uma grande variedade de caracteres, que podem ter potencial taxonômico e ser utilizados como padrão de diferenciação desse gênero com outros, e a nível específico, descartar caracteres como os tricomas, que nas análises apresentaram tipos distintos na mesma espécie, bem como o acúmulo de diversos compostos.

A anatomia mostrou-se uma ferramenta importante quando comparou-se os indivíduos de *Mabea uleana* nos dois ambientes, evidenciando diferenças anatômicas em plantas que se mostraram morfológicamente idênticas. A anatomia e a histoquímica também fornecem informações valiosas para complementar trabalhos anteriores, que possuem informações muito generalizadas sobre Euphorbiaceae.

Algumas características observadas em *Mabea uleana* podem ter relações ecológicas, como a presença de taninos que podem repelir insetos, além do grande acúmulo esclerênquima, mostrando ser uma resposta adaptativa da planta a estresse hídrico ocasionado pelo ambiente onde elas se encontram.

A presença de alcalóides sugere um possível potencial farmacológico.

5. Referências bibliográficas

ARAUJO, M. G. P. Morfo-anatomia e desenvolvimento dos frutos e sementes de três espécies da subfamília Arecoideae (Arecaceae). 2005. Tese. (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) PPGBTRN/INPA-UFAM, Manaus: 2005. 182p.

ARIOLI, T.; VOLTOLINI, C. H.; SANTOS, M. Morfoanatomia foliar da reófito *Raulinoa echinata*

R.S. Cowan - Rutaceae. **Acta Bot. Bras.** **22**(3): pp. 723-732, 2008.

CORREA, P.G.; PIMENTEL, R. M. de M; CORTEZ, J. S. A. and XAVIER, H. S. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais brasileiras. **Cienc. Cult.** 2008, v. 60, n. 3 , pp. 54-57.

COUTINHO, I. A. C., VALENTE V. M. M., MEIRA R. M. S. A Ontogenetic, anatomical and histochemical study of the extrafloral nectaries of *Sapium biglandulosum* (Euphorbiaceae). **Australian Journal of Botany** **58**, 224–232. 2010.

ESSER, H. J., New Species and a new combination in *Mabea* (Euphorbiaceae) from South America. **Novon** (3)4: 341-351, 1993.

FAHN, A. **Anatomia Vegetal**. Madrid: H. Blume, 1978.

FANK-DE-CARVALHO, S. M.; GRACIANO-RIBEIRO, D. Arquitetura, anatomia e histoquímica das folhas de *Gomphrena arborescens* L.f. (Amaranthaceae). **Acta Bot. Bras.**19 (2): pp. 377-390, 2005.

FURR, M., MAHLBERG, P. G. 1981. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **J Nat Prod** **44**: 153-159.

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

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry (principles and practice)**. San Francisco: W. H. Freeman and Company. 1962.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw-Hill Book Company, 1940.

KINOSHITA, L. S. TORRES, R. B., FORNI-MARTINS, E. R., SPINELLI, T., AHN, Y.J., CONSTÂNCIO, S. S. Composição florística e síndromes de polinização e de dispersão da mata do Sítio São Francisco, Campinas, SP, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, **20**(2): pp. 553-573, 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000. 531 p.

LIMA, J. R., SAMPAIO, E. V. S. B., RODAL, M. J. N., ARAÚJO, F. S. Composição florística da floresta estacional decídua montana de Serra das Almas, CE, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, **23**(3): pp. 756-763. 2009.

MACE, M. E., HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condense tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Phytopathology**, v. 64, p. 1297-1302. 1974.

METCALFE, C. R., CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. 2^o edition. London, Oxford, Clarendon. 1988.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology**. 4. Ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. 1980. 439p.

PELEGRIN, C. M. G. de; LONGHI-WAGNER, H. M.; OLIVEIRA, P. L. de. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de espécies do Complexo Briza L. (Poaceae: Pooideae: Poaeae). **Acta Bot. Bras.**, **23**(3): pp. 666-680. 2009.

RAVEN P. H., EVERT, R. F., EICHHORN, S. E. 2001. A composição molecular das células vegetais. In: RAVEN P. H., EVERT, R. F., EICHHORN, S. E. (orgs). **Biologia Vegetal**. 6^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 17-39.

Ribeiro, J. E. L. S., HOPKINS M. J. G., VINCENTINI, A. Euphorbiaceae. *In: Flora da Reserva Ducke*. Guia de identificação de plantas em uma floresta de terra firme na Amazônia central. Manaus: INPA, 1999. 484-487p.

RODRIGUES, L. A., CARVALHO, D. A., FILHO, A. T. O., BOTREL, R. J., SILVA, E. A. Florística e estrutura da comunidade arbórea de um fragmento florestal em Luminárias, MG. **Acta Bot. Bras.**, **17**(1): pp. 71-87. 2003.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F., THADEO, M., MEIRA, R. M. S. A., ASCENSÃO, L. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Rev. Árvore**, **30**(3): pp. 481-489. 2006.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press. 1182p.

WEBSTER, G. L. Classification of the Euphorbiaceae, **Annals of Missouri Botanical Garden**, **81**: 3-32. 1994b.

WEBSTER, G. L. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. **Annals of Missouri Botanical Garden**, **81**: 33-144. 1994a.

