

FABIANO MACHADO MARTINS

ESTRUTURAS SECRETORAS DA LÂMINA FOLIAR DE ESPÉCIES DE *SENECIO*
TOURN EX. L. (ASTERACEAE)

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do Título de *Magister Science*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

FABIANO MACHADO MARTINS

ESTRUTURAS SECRETORAS DA LÂMINA FOLIAR DE ESPÉCIES DE *SENECIO*
TOURN EX. L. (ASTERACEAE)

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do Título de “*Magister Science*”.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2003.

Dra. Aristéa Alves Azevedo
(Conselheira)

Dr. João Marcos de Araújo
(Conselheiro)

Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira

Dra. Marília Contin Ventrella

Dra. Renata Maria Strozi Alves Meira
(Orientadora)

A luz passa, mas, animadoramente, antes de passar, ela nos dá tempo para compreender um pouco este lugar em que efemeramente nos encontramos e a razão de aqui estarmos. Somos os únicos dentre os animais a prever o nosso fim. Somos também os únicos dentre os animais a poder dizer antes de morrer: “Sim, é por isso que valeu a pena viver”.

R. Dawkins (1998)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização desta tese.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A professora Renata Maria Strozi Alves Meira, pela orientação, confiança, dedicação, carinho e principalmente por servir como um modelo de profissionalismo.

Aos meus conselheiros professores João Marcos de Araújo e Aristéa Alves Azevedo pelas sugestões e críticas no decorrer do trabalho.

A professora Denise Maria Trombert de Oliveira pelas inúmeras sugestões na tese.

A professora Marília Contin Ventrella pela agradável convivência no laboratório de anatomia vegetal da UFV, bem como pelas relevantes sugestões na tese.

Aos curadores dos herbários VIC (UFV), CESJ (UFJF) e OUPR (UFOP) pelo envio do material botânico.

Ao professor Nelson Ivo Matzenbacher (PUC-RS) pela identificação do material botânico.

As técnicas do laboratório de anatomia vegetal, UFV, Rosane Cruz e Zilda Alzira, pela ajuda durante a fase de preparação do laminário.

A professora Leila Macias (UFPel), pela amizade e carinho durante todos esses anos de botânica.

Aos meus pais, Paulo Roberto S. Martins e Léia Machado Martins, por tudo que sou hoje, pela minha formação intelectual e principalmente moral, por todo amor

que eles dedicam a mim e por sempre lutarem para me propiciar uma educação de qualidade.

Aos amigos Paulo Roberto Bunde e Demétrius Martins, que mesmo distante sempre apoiaram meu trabalho.

Ao amigo Leonardo Davi Tuffi dos Santos, pelo companheirismo e ajuda durante todo o meu trabalho no laboratório de anatomia vegetal.

Aos meus colegas de laboratório, Letícia, Luzimar, Silvana, Bruno, Evander, Ressiliane, pela agradável convivência.

A amiga Tatinha pelo companheirismo e pelos inúmeros momentos alegres compartilhados.

Aos meus colegas de turma: Carlinhos, Brás, Sânzia, Andresa, Sheila, Celice, Zefa, Maurecilne e Ana pelos agradáveis momentos juntos.

A Flavia N. Caiafa e José Rafael N. Caiafa por terem me acolhido como novo membro da família, sempre tão amigos e carinhosos.

Por último mas nem por isso menos importante, ao meu amor, Alessandra, por todos os momentos compartilhados durante esse mestrado, por me ajudar a enfrentar inúmeras dificuldades e por sempre apostar no nosso amor.

ÍNDICE

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
OBJETIVOS GERAIS.....	04
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	05
CAPITULO I: Estruturas secretoras da lâmina foliar em espécies de <i>Senecio</i> Tourn. ex L. (Asteraceae).....	09
RESUMO.....	10
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO II: Caracterização anatômica histoquímica de <i>Senecio leptolobus</i> Bong. (Asteraceae).....	32
RESUMO.....	33
INTRODUÇÃO.....	35
MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
CONCLUSÕES FINAIS.....	49

RESUMO

MARTINS, Fabiano Machado, M. S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2003. **Estruturas secretoras da lâmina foliar de espécies de *Senecio* Tourn. ex L. (Asteraceae).** Orientador: Renata Maria Strozi Alves Meira. Conselheiros: Aristéa Alves Azevedo, João Marcos Araújo e José Jacinto Demuner.

Muitas estruturas secretoras já foram relatadas para a família Asteraceae, ocorrendo hidatódios, nectários, ductos, cavidades, idioblastos, laticíferos, coléteres e diversos tipos de tricomas. O gênero *Senecio* é o maior entre as fanerógamas e pode ser caracterizado pela presença de alcalóides pirrolizidínicos os quais apresentam propriedades tóxicas e atividade biológica. Poucas espécies de *Senecio* foram estudadas anatomicamente, e apenas uma pertencente a flora brasileira. Esse trabalho teve como objetivos descrever a anatomia das estruturas secretoras foliares de espécies de *Senecio* ocorrentes na Zona da Mata de Minas Gerais; avaliar a importância dessas estruturas como subsídio para a taxonomia do grupo e caracterizar a histoquímica foliar de *Senecio leptolobus* DC. Foram analisados exemplares herborizados depositados nos herbários VIC (UFV), OUPR (UFOP) e CESJ (UFJF) das seguintes espécies: *Senecio argyrotichus* Dusen, *S. erisithalifolius* Sch. Bip. ex Baker, *S. pulcher* Hook, *S. icoglossus* DC., *S. pellucidinervis* Sch. Bip. ex Baker, *S. pluricephalus* Cabr., *S. adamantinus* Bang., *S. stigophlebius* Baker, *S. mikanoides* Otto ex. Baker, *S. brasiliensis* Less., *S. leptoschizus* Bong., *S. pinnatus* Poir., *S. leptolobus* DC., *S. pohlii* Sch. Bip. Ex Baker, *S. pseudopohlii* Cabr., *S. emilioides* Baker, *S. nemoralis* Dusen, *S. linguei* Malme, *S. tweediei* Hook. et Arn., *S. vernomioides* Baker, *S. oleosus* Vell., *S. heterotrichus* DC., *S. oxiphyllus* DC., *S. confusus* Britten., *S. ellipticus* DC., *S.*

imbricatus Garden, *S. selloi* Spreng., *S. jacobaca* D. Don., *S. desiderabilis* Vell., *S. aureus* Linn. Das exsicatas, foram retiradas folhas totalmente expandidas e submetidas ao processo de reidratação. Fragmentos foram diafanizados conforme metodologia usual e a região mediana (nervura central e margem) foi incluída em glicol-metacrilato para obtenção de cortes em micrótomo. Os cortes foram corados com azul de toluidina, e as peças diafanizadas em safranina solução xilólica. As lâminas foram montadas em Permount. Para os testes histoquímicos foram utilizados materiais frescos, sendo os cortes realizados com lâmina de barbear em micrótomo de mesa. Os testes utilizados foram: sudan III, sudan IV e sudan black B para lipídios; xylidine ponceau para proteínas; PAS para polissacarídeos neutros; vermelho de rutênio para substâncias pécticas; floroglucina ácida para lignina; lugol para amido; sulfato ferroso em formalina para compostos fenólicos como fixador e reagente de Dragendorff para alcalóides. Foram observados quatro tipos de estruturas secretoras. Os tricomas secretores são de três tipos, e ocorrem em 15 espécies, que estão distribuídas em 5 seções. Os hidatódios, que são formados por um poro aquífero, epitema, terminações vasculares xilemáticas e por uma bainha incompleta, não ocorrem na Seção Dichoria. Os ductos estão ausentes apenas em *S. icoglossus*. Nas demais espécies, eles podem ocorrer associados os feixes vasculares ou dispersos no mesofilo. Quando associados a feixes, eles podem estar voltados apenas para o floema ou para floema e xilema simultaneamente. Foram observadas cavidades apenas em *S. icoglossus* e *S. oxyphyllus*. Os testes com PAS, xylidine ponceu e lugol apresentaram resultados negativos. A presença de alcalóide foi observada pela reação positiva ao teste com Dragendorff, mostrando acúmulo de alcalóides nos plastídeos. Uma forte reação positiva foi observada no teste com sulfato ferroso, evidenciando um acúmulo de compostos fenólicos principalmente nas células epidérmicas e no parênquima clorofiliano. Gotas de óleo foram evidenciadas no parênquima aclorofilado. Não se observou reação positiva aos diferentes testes histoquímicos nos ductos secretores.

ABSTRACT

MARTINS, Fabiano Machado, M. S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2003. **Structures secretory of the sheet to foliate of species of *Senecio* Tourn. ex L. (Asteraceae).** Advisor: Renata Maria Strozi Alves Meira. Committee members: Aristéa Alves Azevedo, João Marcos de Araújo e José Jacinto Demuner.

Many structures secretory were already told for the family Asteraceae, happening hydathode, nectary, ducts, cavities, idioblast, laticiferous, colleter and several trichomes types. The genus *Senecio* is the largest among the vascular plant and it can be characterized by the presence of alkaloids pirrolizidinic which present toxicant properties and biological activity. Few species of *Senecio* were studied anatomical, and just a belonging one the Brazilian flora. That work had as objectives to describe the anatomy of the structures secretorys you foliate of species of *Senecio* to happen in the Zone of the Forest of Minas Gerais; to evaluate the importance of those structures as subsidy for the taxonomy of the group and to characterize the histochemical to foliate of *Senecio leptolobus* DC. Plant were analyzed deposited in the herbaria VIC (UFV), OUPR (UFOP) and CESJ (UFJF) of the following species: *Senecio argyrotichus* Dusen, *S. erisithalifolius* Sch. Bip. ex. Baker, *S. pulcher* Hook, *S. icoglossus* DC., *S. pellucidinervis* Sch. Bip. ex. Baker, *S. pluricephalus* Cabr., *S. adamantinus* Bang., *S. stigophlebius* Baker, *S. mikanoides* ex. Otto. Baker, *S. brasiliensis* Less., *S. leptoschizus* Bong., *S. pinnatus* Poir., *S. leptolobus* DC., *S. pohlii* Sch. Bip. ex. Baker, *S.*

pseudopohlii Cabr., *S. emilioides* Baker, *S. nemoralis* Dusen, *S. linguei* Malme, *S. tweediei* Hook. et Arn., *S. vernomioides* Baker, *S. oleosus* Vell., *S. heterotrichus* DC., *S. oxiphyllus* DC., *S. confusus* Britten., *S. ellipticus* DC., *S. imbricatus* Gardem, *S. selloi* Spreng., *S. jacobaca* D. Don., *S. desiderabilis* Vell., *S. aureus* Linn. The exsiccates, leaves were totally removed expanded and submitted to the reidratação process. Fragments were diafanized according to usual methodology and the medium area (central rib and margin) it was included in glicol-metacrilato for obtaining of cuts in microtomo. The cuts were red-faced with toluidina blue, and the pieces diafanized in safranina. The sheets were mounted in Permunt. For the tests histochemycal fresh materials were used, being the cuts accomplished with razor blade in table microtomo. The used tests were: sudan III, sudan IV and sudan black B for lipids; xylidine ponceau for proteins; for neutral polissacarídeos; red of rutênio for pectical substances; acid floroglucin for lignin; lugol for starch; ferrous sulfato in formalin for composed fenolicol as fixador and reagente of Dragendorff for alkaloids. Four types of structures secretorys were observed. The trichomes secretorys are of three types, and they happen in 15 species, that are distributed in 5 sections. The hydathodes, that you/they are formed by a water pores, epithem, ends of vascular bundles and for an incomplete hem, they don't happen in the Seção Dichoria. The ducts are just absent in *S. icoglossus*. In the other species, they can happen associated the vascular bundles or dispersed in the mesophyll. When associated to bundles, they can just be gone back to the phloem or for phloem and xylem simultaneously. Cavities were just observed in *S. icoglossus* and *S. oxyphyllus*. The tests with PAS, xylidine ponceu and lugol presented negative results. The alkaloid presence was observed by the positive reaction to the test with Dragendorff, showing accumulation of alkaloids in the plastídeos. A strong positive reaction was observed in the test with ferrous sulfate, evidencing an accumulation of compositions fenolic mainly in the cells epidermical and in the chlorophyllian parenchyma. Oil drops were evidenced in the parenchyma colorless. Positive reaction was not observed to the different tests histochemistry in the ducts secretory.

INTRODUÇÃO GERAL

O termo secreção é empregado para definir fenômenos complexos, que podem envolver a síntese e a separação ou o isolamento de diversas substâncias do protoplasto das células secretoras. O produto da secreção pode permanecer em compartimentos intracelulares ou ser eliminado para espaços extracelulares internos ou para a superfície da planta (Esau, 1977; Cutter, 1978; Fahn, 1979, 1988; 1990).

O processo de secreção é desempenhado por células individualizadas ou por agrupamentos celulares. O tipo de material secretado é variável, bem como a posição da estrutura secretora no corpo da planta (Fahn, 1988). Podem ocorrer vários tipos de estruturas secretoras em um mesmo órgão, ou até mesmo o confinamento de determinadas estruturas a um único de órgão (Solereder, 1908). Quando esses parâmetros são constantes na entidade taxonômica avaliada, as estruturas secretoras podem se constituir num importante caráter taxonômico (Solereder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950, 1979, 1983; Metcalfe, 1987; Pyykkö, 1966; Fahn, 1979, 1988).

As estruturas secretoras variam quanto a sua morfologia, anatomia, função, posição e tipo de substância que secretam (Fahn, 1979). Assim, o estudo da composição química do material secretado associado à caracterização anatômica dessas estruturas pode contribuir para a compreensão do seu papel e da função do produto secretado para a planta (Schnepf, 1974; Esau, 1977; Fahn, 1979).

Muitas estruturas secretoras têm função desconhecida, entretanto a sua presença pode estar relacionada com a capacidade da planta em sobreviver no seu habitat, superando limitações de ordem climática, edáfica ou atuar na defesa contra a herbivoria ou ataque de patógenos, bem como nas estratégias reprodutivas da espécie (Uphof, 1962; Fahn, 1979; Bentley & Elias, 1983; Rodríguez et al., 1984; Roshchina & Roshchina, 1993).

Vários são os produtos secretados que têm importância econômica, tais como a borracha, o ópio, o bálsamo, a cânfora, as resinas e os óleos essenciais (Fahn, 1979). O estudo da composição química do material secretado pode indicar novas fontes de materiais a serem explorados pela indústria (Fahn, 1979; Margaris et al., 1982).

A família Asteraceae é reconhecidamente a maior família do reino vegetal, compreendendo 1535 gêneros e cerca de 23.000 espécies (Bremer, 1994; Judd *et al.*, 1999). Metade destas espécies ocorrem no Novo Mundo, predominando na América Latina, e estima-se a existência de 3.000 espécies como pertencentes à flora brasileira (Hind, 1993).

Foram relatadas propriedades terapêuticas, tais como: antiflogísticas, espasmódica, virostática, colerética, hepatoprotetoras, antibiótica e anticarcinogênica em cerca de 25 espécies da família Asteraceae; ocorrendo também espécies altamente tóxicas. Entretanto, são poucas as espécies efetivamente utilizadas e de reconhecido valor medicinal e econômico, sendo o conhecimento acumulado, o resultado de pesquisas nas áreas de sistemática, quimiotaxonomia e farmacognosia (Wagner, 1977; Bruneton, 1999; Judd *et al.*, 1999).

Hidatódios, nectários, ductos, cavidades, idioblastos, laticíferos, coléteres e diversos tipos de tricomas já foram relatados em espécies de Asteraceae (Solleder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950; Pyykkö, 1966; Castro, 1987; Castro *et al.*, 1997; Meira, 1991; Claro, 1994). O tipo e a posição ocupada por diferentes estruturas secretoras são parâmetros considerados de importância para a taxonomia da família, podendo inclusive servir para o reconhecimento de espécies morfológicamente semelhantes (Castro, 1987; Castro *et al.*, 1997) e até para a confirmação da identidade de fragmentos vegetais em amostras de própolis (Oliveira & Bastos, 1988; Freire, 2000).

O elevado número de espécies de Asteraceae, que é considerada como um grupo monofilético com inúmeras sinapomorfias morfológicas e moleculares, tem dificultado a organização taxonômica em níveis inferiores. Os trabalhos mais recentes organizam a família em 3 subfamílias e 18 tribos (Bremer, 1994; Judd *et al.*, 1999). A tribo Senecioneae, que está incluída na subfamília Asteroideae, é a maior dentre as Asteraceae,

com aproximadamente 3400 espécies (Jeffrey, 1992; Hind, 1993; Bremer, 1994; Judd *et al.*, 1999).

Morfologicamente, membros da tribo Senecioneae não diferem acentuadamente dos demais membros da família. Entretanto, o padrão químico, marcado pela presença dos alcalóides pirrolizidínicos (APs) venenosos e de sesquiterpenos do tipo eremofiliano e pela ausência de poliacetilenos (Robins, 1977) distinguem a tribo. Tais compostos garantem defesa contra o ataque de predadores conferindo vantagem seletiva, que é refletida na ampla distribuição, ocorrência e abundância de espécies (Cronquist, 1981; Matzembacher, 1998).

O gênero *Senecio* é considerado o maior dentre as fanerógamas, com cerca de 3000 espécies distribuídas por o todo mundo (Bremer, 1994; Judd *et al.*, 1999). No Brasil ocorrem cerca de 92 espécies, distribuídas em 15 seções, sendo que oito destas ocorrem no Estado de Minas Gerais (Cabrera, 1957) totalizando 26 espécies.

As plantas de *Senecio* podem ser terrestres, anfíbias ou aquáticas emergentes, possui habito variado, predominando ervas anuais ou perenes, subarbustos ou arbustos. Suas folhas são alternas ou rosuladas, geralmente sésseis, inteiras ou serrado-denteadas, lobuladas, pinatipartidas ou pinatissectas, membranáceas e raramente suculentas (Matzembacher, 1998).

A ingestão de espécies de *Senecio* pode resultar na morte de bovinos, devido a lesões hepáticas produzidas pelos APs (Robins, 1977). Abelhas que utilizam o néctar de *Senecio* podem contaminar o mel com os APs; além disso, os APs podem ser excretados pelo leite de animais que tenham consumido plantas desse gênero (Deinzer *et al.*, 1977). Devido à ação cancerígena e mutagênica deste alcalóide (Bruneton, 1999), deve-se considerar os riscos potenciais à saúde pública pelo consumo de produtos alimentícios contaminados (Mendez & Riet-Correa, 1993).

Além da atividade tóxica, os APs apresentam uma atividade biológica variada e interações ecológicas (Hartmann & Witte, 1995; Brown & Trigo, 1995; Hartmann, 1999; Trigo, 2000). Esses alcalóides são de grande funcionalidade para a defesa da planta contra predadores e patógenos, como agentes alelopáticos e estão envolvidos na polinização e dispersão de sementes (Swain, 1977).

Em *S. cerberoanus* e *S. viscosissimus*, o exsudato que contém APs é produzido em tricomas secretores. Estes alcalóides são considerados como a primeira linha de defesa e resistência (física e química) contra insetos e microorganismos (Urzúa *et al.*, 2000).

Entretanto, *Senecio* é considerado como uma exceção dentre as Asteraceae, por apresentar reduzido número de espécies portadoras de tricomas secretores. Por outro lado, ductos associados ao floema e hidatódios são estruturas comuns no gênero (Meira, 1991). Morfológica e principalmente anatomicamente, poucas espécies de *Senecio* foram estudadas (Metcalf & Chalk, 1950; Pykkö, 1966) e entre elas, apenas uma (*S. brasiliensis* Less.) pertence à flora brasileira (Meira, 1991). Portanto, essas informações necessitam ser confirmadas em um estudo mais amplo envolvendo um número maior de espécies.

OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos deste trabalho foram: identificar as estruturas secretoras foliares das espécies de *Senecio*, ocorrentes na Zona da Mata de Minas Gerais; avaliar a importância dessas estruturas como subsídio para taxonomia do grupo e caracterizar a histoquímica foliar de *Senecio leptolobus* DC.

O trabalho foi organizado em dois capítulos. O primeiro capítulo faz um levantamento e descrição dos tipos de estruturas secretoras nas 30 espécies de *Senecio* catalogadas para a Zona da Mata de Minas Gerais. O segundo capítulo caracteriza anatômica e histoquimicamente as folhas de *Senecio leptolobus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENTLEY, B.; ELIAS, T.S. **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press. 1983. 259p.
- BREMER, K. **Asteraceae. Cladistic and Cassification**. Portland: Timber Press. 1994. 753p.
- BROWN Jr.; K.S., TRIGO, J.R. Ecological activities of the alkaloids. In: Cordell, G. (Ed.), **The Alkaloids**. New York: Academic Press. 1995. 462p. p. 227-356.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy**. Paris: Intercept. 1999. 1119p.
- CABRERA, A.L. El género *Senecio* (Compositae) em Brasil, Paraguay y Uruguay. **Arq. Jar. Bot. RJ**, v. 15, p. 161-325. 1957.
- CASTRO, M.M. **Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos**. São Paulo: USP. 1987. 118p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biologia.
- CASTRO, M.M.; LEITÃO-FILHO, H.F.; MONTEIRO, W.R. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação do cerrado. **Rev. bras. bot.**, v. 20, p. 163-174. 1997.
- CLARO, S.M.C.A. **Levantamento dos tipos de estruturas secretoras em folhas de Asteraceae da restinga de Setiba, Guarapari (ES)**. Campinas: Unicamp. 1994. 100p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981. 1263p.

- CUTTER, E.G. **Plant anatomy**. Part I. Cells and tissues. London: Edward Arnold. 1978. 315p.
- DEINZER, M.L.; THOMPSON, P.A.; BURGETT, D.M; ISAACSON D.L. Pyrrolizidine Alkaloids: Their occurrence in honey from tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L.) **Sci.**, v. 195, p. 497-499. 1977.
- ESAU, K. **Anatomy of the seed plants**. 2ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1977. 550p.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press Inc. 1979. 302p.
- FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytol.**, v. 108, p. 229-257. 1988.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. 4 ed. Oxford: Pergamon Press. 1990. 588p..
- FREIRE, U.S., **Origem da própolis verde e preta produzida em Minas Gerais**. Viçosa: UFV, 2000. 50p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal.
- HARTMANN, T. Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. **Planta**, v. 207, p. 488-495. 1999.
- HARTMANN, T.; WITTE, L. Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In: Pelletier S. W. (Ed.), **Alkaloids – Chemical and Biological Perspectives**. Oxford: Pergamon Press. 1995. p. 155-233.
- HIND, D.J.N. A checklist of the Brazilian Senecioneae (Compositae). **Kew bull.** v. 48, p. 279-296. 1993.
- JEFFREY, C. The tribe Senecioneae (Compositae) in the Mascarene Island with an annotated world checklist of the genera of the tribe. **Kew bull.** v. 39, p. 205-209. 1992.
- JUDD, W.S; CAMPBELL, C.S; KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sinauer Associates. 1999. 464p.
- MARGARIS, N.; KOEDAM, A.; VOKOU, D. **Aromatic plants: basic and applied aspects. World crops: production, utilization and description**. Martinus: Nijhoff Publishers. 1982. 446p.
- MATZEMBACHER, N.I. **O complexo Senecionoide (Asteraceae-Senecioneae) no Rio Grande do Sul – Brasil**. Porto Alegre: UFRGS. 1998. 274p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências.

- MEIRA, R.M.S.A. **Levantamento dos tipos de estruturas secretoras em folhas de espécies de Asteraceae em uma vegetação de floresta (Atibaia, SP).** Campinas: Unicamp. 1991. 99p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia
- MENDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F. Intoxication by *Senecio tweediei* in cattle in Southern Brazil. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 36, p. 55. 1993
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses.** Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1950. 724p.
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject.** 2ed. Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1979. 294p.
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons. Wood structure and conclusion of the general introduction.** 2 ed. Vol. II. Oxford: Clarendon Press. 1983. 308p.
- METCALFE, C.F. **Anatomy of the dicotyledons.** 1 ed. Vol. III. Oxford: Clarendon Press. 1987. 223p.
- OLIVEIRA, V. C.; BASTOS, E. M. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis. **Acta bot. bras.**, v. 12, n. 3, p. 431-439. 1988.
- PYYKKÖ, M.. The leaf anatomy of east Patagonian xeromorphic plants. **Ann. bot. fenn.** v. 3, p. 453-622. 1966.
- ROBINS, D. J. Senecioneae - Chemical review. In: **The biology and chemistry of the Compositae.** (V. H. Heywood, J. B. Harborne & B. L. Turner, eds.), Vol. I, London: Academic Press Inc., p. 21-39. 1977.
- RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P.L.; MEHTA, I. **Biology and chemistry of plant trichomes.** New York: Plenum Press. 1984. 225p.
- ROSHCHINA, V.V.; ROSHCHINA, V.D. **The excretory function of higher plants.** Berlin: Springer-Verlag. 1993. 314p.
- SCHNEPF, E. **Gland cells. In: Dynamic aspects of plant ultrastructure** (A. W. Robards, ed.), Maidenhead: MacGraw-Hill Book Co. 1974. p.331-357.

- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany.** Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1908. 1182p.
- SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 28, p. 479-501. 1977.
- TRIGO, J. R., The chemistry of antipredator defense by secondary compounds in Neotropical Lepidoptera: facts, perspectives and caveats. **J. bra. chem. soc.**, v. 11, p. 551-561. 2000.
- UPHOF, J. C. Th. **Plant hair.** Berlin: Gebrüder Borntraeger. 1962. 293p.
- URZÚA, A.; ANDRADE, L.; MENDOZA, L.; BUSTOS, F. Comparative leaf surface chemistry from *Senecio cerebroanus* and *Senecio viscosissimus*. **Biol. syst. ecol.** v. 28, p. 399-401. 2000.
- WAGNER, H. Pharmaceutical and economic uses of the Compositae. In: **The biology and chemistry of the Compositae.** (V. H. Heywood, J. B. Harbner & B. L. Turner, eds.). Vol. I. London: Academic Press Inc. 1977. p.411-435.

CAPITULO I

Estruturas secretoras da lâmina foliar em espécies de *Senecio* Tourn. ex L.
(Asteraceae)

RESUMO

O gênero *Senecio* é o maior dentre as fanerógamas e, apesar do elevado número de espécies, são poucos os trabalhos sobre a anatomia deste gênero. Este trabalho teve como objetivo caracterizar as estruturas secretoras foliares em 30 espécies de *Senecio*, incluídas em 8 seções, ocorrentes na Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil. Foram analisados exemplares herborizados das seguintes espécies: *S. adamantinus* Bang., *S. argyrotichus* Dusen, *S. aureus* Linn, *S. brasiliensis* Less., *S. confusus* Britten., *S. desiderabilis* Vell, *S. ellipticus* DC, *S. emilioides* Baker, *S. erisithalifolius* Sch. Bip. Ex Baker, *S. heterotrichus* DC, *S. icoglossus* DC, *S. imbricatus* Garden, *S. jacobaca* D. Don, *S. linguei* Malme, *S. leptoschizus* Bong., *S. leptlobus* DC, *S. mikanoides* Otto ex. Baker, *S. nemoralis* Dusen, *S. oleosus* Vell., *S. oxiphyllus* DC, *S. pellucidinervis* Sch. Bip. Ex Baker, *S. pluricephalus* Cabr., *S. pinnatus* Poir., *S. pulcher* Hook, *S. pohlii* Sch. Bip. ex Baker, *S. pseudopohlii* Cabr., *S. selloi* Spreng., *S. stigophlebius* Baker, *S. tweediei* Hook. et Arn. e *S. vernomioides* Baker. Foram observados quatro tipos de estruturas secretoras: tricomas, hidatódios, ductos e cavidades. Os tricomas secretores são de três tipos e ocorrem em 14 espécies distribuídas em 5 seções. Hidatódios formados por poro aquífero, epitema, terminações vasculares exclusivamente xilemáticas e por uma bainha incompleta são estruturas comuns, ausentes apenas nas seções *Dichoria*, *Delaria* e *Streptamnus*. Os ductos estão ausentes apenas em *S. icoglossus* e na maioria das espécies, encontram-se associados exclusivamente ao xilema; apenas em *S. pohlii* e *S. aureus* estão associados ao xilema e floema,

simultaneamente. Em *S. pinnatus* e *S. leptolobus* ocorrem ductos dispersos no mesofilo. Cavidades foram observadas apenas em *S. icoglossus* próximas aos feixes vasculares e dispersas no mesofilo, e em *S. oxyphyllus*, onde ocorrem dispersas no mesofilo. As estruturas secretoras ocorrentes no gênero *Senecio* estão de acordo com o relatado na literatura para família Asteraceae, entretanto, a presença de tricomas secretores e de cavidades é um registro inédito para o gênero. A ocorrência de ductos na maioria das espécies estudadas e a presença de cavidades em apenas uma das espécies demonstram que os ductos são um caráter unificador para o gênero.

INTRODUÇÃO

O processo de secreção é desempenhado por células individualizadas ou por um conjunto de células que formam uma estrutura característica. As estruturas secretoras podem secretar substâncias diversas e quimicamente complexas, ocupar as mais variadas posições no corpo da planta e desempenhar funções distintas (Fahn, 1979). A caracterização anatômica de tais estruturas, juntamente com a análise da composição química do material exsudado, tem sido relevante na elucidação do papel desempenhado por estas estruturas (Luttge, 1971; Schnepf, 1974; Esau, 1977; Fahn, 1977; Cutter, 1978;).

Apesar do elevado número de trabalhos, muitas estruturas secretoras têm função ainda desconhecida. Entretanto, sua presença pode estar relacionada com a capacidade da planta em sobreviver no seu habitat superando limitações de ordem climática, edáfica ou atuar na defesa contra herbivoria ou ataque de patógenos, bem como nas estratégias reprodutivas da espécie (Uphof, 1962; Fahn, 1979; Bentley & Elias, 1983; Rodrigues *et al.* 1984; Roshchina & Roshchina, 1993).

A grande variedade de estruturas secretoras, que podem estar presentes em todos os órgãos da planta ou restritas a apenas um, constitui-se em importante caráter taxonômico, seja pelo valor diagnóstico ou unificador (Solereider, 1908; Metcalfe & Chalk 1950, 1979, 1983; Fahn, 1979, 1988; Castro, 1997).

A família Asteraceae destaca-se por apresentar vários tipos de estruturas secretoras, já tendo sido relatados hidatódios, nectários, ductos, cavidades, idioblastos, laticíferos, coléteres e diversos tipos de tricomas (Solereder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950; Pyykkö, 1966; Castro 1987; Meira, 1991; Claro, 1994; Castro, *et al.* 1997).

O gênero *Senecio* é considerado o maior dentre as fanerógamas, com cerca de 3000 espécies distribuídas por todo o mundo (Bremer, 1994; Judd *et al.* 1999). Este elevado número de espécies e o reduzido número de trabalhos não possibilitam uma visão ampla sobre a anatomia deste gênero. Anatomicamente, poucas espécies foram estudadas (Metcalf & Chalk, 1950; Pyykkö, 1966) e dentre elas apenas *S. brasiliensis* Less. pertence à flora brasileira (Meira, 1991).

Este trabalho teve como objetivos caracterizar anatomicamente estruturas secretoras foliares das espécies de *Senecio* ocorrentes na Zona da Mata de Minas Gerais e avaliar a importância dessas estruturas como subsídio para a taxonomia do grupo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 30 espécies do gênero *Senecio*, incluídas em 8 seções, ocorrentes na Zona da Mata Mineira.

As plantas herborizadas utilizadas nesse estudo encontram-se depositadas nos herbários OUPR (UFOP), CESJ (UFJF) e VIC (UFV) sob os registros: **1. Sect. Dichroa**, OUPR 1522 - *Senecio argyrotichus* Dusen; **2. Sect. Hualtata**, CESJ 11508, 1231 - *S. erisithalifolius* Sch. Bip. Ex Baker, CESJ 9266 - *S. pulcher* Hook.; CESJ 21789 - *S. icoglossus* DC.; **3. Sect. Myriocephalus**, OUPR 3117, 3634, 1844 - *S. pellucidinervis* Sch. Bip. Ex Baker, CESJ 21168 - *S. pluricephalus* Cabr.; **4. Sect. Adamantina**, OUPR 3478, 21153; CESJ 1801, 33348 - *S. adamantinus* Bang., OUPR 25860, 3119, 3448 - *S. stigophlebius* Baker; **5. Sect. Delairia**, VIC 8911 - *S. mikanoides* Otto Ex. Walp.; **6. Sect. Corymbocephalus**, a. Subsect. Brasiliensis, OUPR, 26915, 1846; CESJ 20356, 22549; VIC 9747, 18408 - *S. brasiliensis* Less., CESJ 1629 - *S. leptoschizus* Bong., OUPR, 24605 - *S. pinnatus* Poir., VIC - *S. leptoplobus* DC., b. Subsect. Simplicis, OUPR 22311, 3639; CESJ, 14058 - *S. pohlii* Sch. Bip. Ex Baker, OUPR 21397, 25860, 3694 - *S. pseudopohlii* Cabrera, OUPR, 23939; CESJ 12163 - *S. emilioides* Baker, OUPR 4449 - *S. nemoralis* Dusen, VIC 4929, 26121 - *S. linguei* Malme, *S. tweediei* Hook. et Arn. (CESJ 14174), c. Subsect Viscosi, CESJ 4521 - *S. vernomioides* Baker, OUPR 4456, 9956 - *S. oleosus* Vell., CESJ 1223 - *S. heterotrichus* DC., CESJ 8667; VIC 11824 - *S. oxiphyllus* Dc.; VIC 12132 - *S. confusius* Britten, OUPR 3118, 20138 - *S. ellipticus* DC., OUPR 5439 - *S. imbricatus*

Garden, CESJ 21108 - *S. selloi* Spreng.; 7. **Sect Jacobaea**, OUPR 12889 - *S. aureus* Linn.CESJ 6559, *S. jacobaea* D. Don; 8. **Sect. Streptothamnus**, OUPR 12568 - *S. desiderabilis* Vell.

Folhas totalmente expandidas foram retiradas das exsicatas, selecionadas conforme o seu comprimento característico citado na descrição taxonômica das espécies (Cabrera, 1957), fervidas em água destilada e tratadas com hidróxido de potássio 2%, à temperatura ambiente (Smith & Smith, 1942) por duas horas. Em seguida foram lavadas em água destilada e desidratadas em série etílica crescente até o etanol 70%, onde permaneceram estocadas.

Para visualização de tricomas e hidatódios amostras da região mediana e do ápice das folhas reidratadas foram diafanizadas pelo tratamento com solução de hidróxido de sódio 5% por tempos diferenciados conforme a espécie, lavadas em água destilada e submetidas a hipoclorito de sódio 20% até ficarem transparentes, sendo posteriormente desidratadas até etanol 70% e coradas com safranina 1% solução álcool-xilólica na proporção de 1:1 (Berlyn & Miskis, 1976).

A região mediana, as margens ornamentadas e os ápices das folhas reidratadas foram isoladas, desidratadas com etanol até 95% em intervalos de 4 horas, submetidas à mistura de etanol 95% e resina pura (Historesin Leica) na proporção de 1:1 (v:v) por 8 horas. A infiltração foi feita com resina pura, em um dessecador submetido a vácuo, e em intervalos de 24 horas procedeu-se a três trocas de resina pura. As amostras foram desidratadas em série etílica até etanol 95% e incluídas em metacrilato (Meira & Martins, 2003). Os blocos foram cortados transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2155 - Leica), utilizando-se de navalhas de aço descartáveis. Os cortes, com 10µm de espessura, foram corados com azul de toluidina pH 4.0 (O' Brien 1981) e as lâminas montadas com resina sintética (Permount).

Cortes à mão livre, realizados com lâmina de barbear foram clarificados em hipoclorito de sódio 20% e corados em safrablau (Gerlach, 1969), sendo posteriormente as lâminas montadas em glicerina.

A análise do laminário e a documentação fotográfica foram efetuadas em um microscópio Olympus AX 70, equipado com sistema fotográfico U-PHOTO.

A classificação dos tricomas foi realizada de acordo com o proposto por Theobald (1979).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 30 espécies de *Senecio* analisadas foram evidenciados quatro tipos distintos de estruturas secretoras: tricomas, hidatódios, ductos e cavidades.

Foram identificados 3 tipos de tricomas secretores. Eles ocorrem em cinco seções e estão distribuídos em 14 espécies.

O tipo I é multicelular, unisseriado, com 1 ou 2 células na base, com até 12 células achatadas no pedúnculo e 1 célula na cabeça semiglobóide (Figs. 01 e 02). Ele ocorre nas seções *Dichoria*, *Hualtata*, *Adamantina* e *Corymbocephalus* totalizando 5 espécies (Tab. 01). Esse tricoma já foi observado em *Trixis glutinosa* (Castro et al., 1997) e *Gochnatia polymorpha* (Meira, 1991), espécies da tribo Mutisieae (Asteraceae).

O tipo II é multicelular, unisseriado, com 1 célula na base, com até 5 células no pedúnculo e com de 2 a 3 células apicais (Figs. 03, 04 e 05). Ocorre nas seções *Myriocephalus* e *Corymbocephalus*, no total de 7 espécies (Tab. 01). Tricomas do tipo II, foram relatados dentre as Asteraceae apenas em *Eupatorium glaziovii* da tribo Eupatorieae (Meira, 1991).

O tipo III é multicelular, unisseriado, com 1 célula na base, com até 7 células no pedúnculo e 1 célula apical globóide. Este tipo ocorre de forma esparsa nas espécies estudadas, localizando-se em uma depressão sobre a nervura central. Ele ocorre apenas em *S. leptolobus* e *S. leptoschizus* na seção *Corymbocephalus*, estando restrito a subseção

Brasiliensis. Tricomas deste tipo foram observados por Claro (1994) em *Mikania biformis* da tribo Eupatorieae (Asteraceae).

Trabalhos anteriores relatam a presença apenas de tricomas tectores para *Senecio*. A ausência de tricomas secretores em *Senecio* foi sugerido como exceção (Meira, 1991), pois a presença de variados tipos de tricomas secretores é considerada comum para Asteraceae (Solereder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950; Castro, 1997). O registro de 3 tipos de tricomas secretores em 15 espécies de *Senecio* pertencentes a 5 seções é inédito e deve ser avaliado com parcimônia principalmente pelo número relativamente reduzido de espécies estudadas quando considerado o gênero como um todo. É importante ressaltar, que os tipos de tricomas observados no presente trabalho já foram registrados em gêneros incluídos em diferentes tribos da família Asteraceae (Castro, 1987; Meira, 1991; Claro, 1994).

Hidatódios foram observados em 14 espécies pertencentes a 5 seções (Tab. 01). Eles estão ausentes apenas nas espécies analisadas das Seções Dichoria, Delaria e Streptamnus. Lersten & Curtis (1985) indicaram que a presença de hidatódios na família Asteraceae é uma característica comum, o que diverge dos registros de Metcalfe & Chalk (1979), que consideravam rara a presença dessa estrutura para a família. Muitos trabalhos têm confirmado que a ocorrência de hidatódios é uma característica constante em Asteraceae (Meira, 1991; Claro, 1994; Castro et al., 1997) e comum para *Senecio* (Hare, 1941; Frey-Wyssling, 1941; Pyykkö, 1966; Meira, 1991). Entretanto, parece não ser uma característica (Figs. 06 a 11) universal, uma vez que não foi observada em 16 das 30 espécies estudadas (Tab. 01).

Os hidatódios estão constituídos por poro aquífero, epitema, terminações vasculares exclusivamente xilemáticas, e bainha vascular parenquimática que se interrompe nas proximidades do epitema (Fahn, 1979). Os poros aquíferos se assemelham a estômatos, e estão localizados abaixo do nível das células epidérmicas. O epitema é formado por células parenquimáticas aclorofiladas e o tamanho das células e os espaços intercelulares variam entre as espécies. Em *S. stigoplhebius* (Fig. 06) as células do epitema são volumosas e com núcleo evidente, entretanto os espaços intercelulares são reduzidos. Em outras espécies, tais como *S. oxyphyllus* (Fig. 07) e *S. polhii* (Fig. 08), são observados espaços intercelulares proeminentes e células do epitema com tamanho reduzido e formato lobado, semelhante ao descrito por Lersten & Curtis (1985). O epitema varia em diferentes taxa, por exemplo, ele é pequeno e estreito em *Fuchsia* e *Primula*, largo em *Papaver* e *Brassica* e alongado em

Crassula (Metcalf & Chalk, 1979). O grau de expressão dos tecidos que constituem hidatódios pode variar entre espécies (Lersten & Curtis, 1985) e até mesmo numa mesma espécie (Castro, 1987).

A função dos hidatódios é secretar água e sais minerais, sendo esse fenômeno denominado gutação. Alguns hidatódios são considerados glândulas, pois apresentam um tecido que secreta água ativamente; já outros são simplesmente aberturas por onde a água flui, sendo liberada por uma terminação vascular, atravessando os espaços intercelulares e eliminada através de um poro aquífero (Esau, 1977; Fahn, 1979). Baris *apud* Metcalf & Chalk (1979), propôs a classificação dos hidatódios em ativos e passivos, com base na sua capacidade de secretar. Os hidatódios ativos foram divididos em hidatódios unicelulares (*Gonocaryum*, *Anamirta* e *Arcangelisia*) e hidatódios tricomatosos multicelulares (*Plumbago*, *Lathraea* e *Phaseolus*). Os hidatódios passivos foram divididos em hidatódios com epitema (*Primula*, *Papaver* e *Geranium*) e sem epitema (*Vicia* e *Spathodea*). Os hidatódios das espécies de *Senecio* estudadas são epitemáceos, entretanto para caracterizá-los como ativos ou passivos é necessária a aplicação de estudos ultra-estruturais.

Segundo Fahn (1979), os hidatódios de Asteraceae são pouco especializados, sendo muito simples quando comparados com hidatódios presentes em outras famílias. Entretanto, apesar da pouca especialização, Lersten & Curtis (1985) afirmaram que tais estruturas são funcionais; característica que os mesmos autores não conseguiram evidenciar em hidatódios morfológicamente mais especializados como os de *Ficus* (Moraceae) (Lersten & Curtis, 1974) e *Physocarpus* (Rosaceae) (Lersten & Curtis, 1982). Os hidatódios de *Senecio* são semelhantes aos demais hidatódios encontrados nos outros gêneros da família Asteraceae, podendo dessa forma ser considerados simples.

Muitos anatomistas questionam o emprego dos hidatódios como caráter taxonômico, pois uma estrutura que secreta água pode representar variações preferencialmente relacionadas ao tipo de ambiente do que com afinidades taxonômicas (Metcalf & Chalk, 1979). Entretanto, muitos trabalhos têm mostrado que a presença de hidatódios tem valor taxonômico. Stern (1974) demonstrou que hidatódios são constantes em espécies de *Escallonia* (Escalloniaceae), Villiers (1973) usou a presença ou ausência para distinguir espécies de *Chlamydocarya* e Lucas (1968) utilizou características morfológicas dessas estruturas para diferenciar espécies de *Pyrenacantha* (Icaciaceae). Considerando que hidatódios ocorrem em 16 das 30 espécies de *Senecio* estudadas, esta estrutura pode ser útil com um parâmetro adicional na distinção de espécies.

Os ductos estão ausentes apenas em *S. icolgossus* e presentes nas outras 29 espécies; podendo ser considerados uma estrutura comum para este gênero. Pyykkö (1966) relatou a ocorrência de ductos em 10 espécies de *Senecio* num total de 13 espécies estudadas. Essas estruturas também foram observadas em *S. rowleyanus* (Hillson, 1979), *S. mandraliscae* (Earnshaw et al., 1987) e *S. brasiliensis* (Meira, 1991), sendo um caráter comum não só para o gênero mas também para família Asteraceae (Solereider, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950; Castro, 1987; Meira, 1991; Claro, 1994).

Dentre as 30 espécies estudadas, em 25 os ductos estão associados exclusivamente ao floema (Tab. 01; Figs. 16 a 25) como relatado para outras espécies de *Senecio* (Pyykkö, 1966; Meira, 1991). Foram observados ductos associados ao floema e ao xilema em *S. polhii* da Seção Corymbocephalus (Fig. 12) e em *S. aureus* da Seção Jacobaea (Fig. 13), uma característica até então não evidenciada para esse gênero, mas comum para família Asteraceae (Castro, 1987; Meira, 1991; Claro, 1994). Foram também observados ductos dispersos no parênquima em *S. leptplobus* (Fig. 14) e *S. pinnatus* (Fig. 15), ambos pertencentes à seção Corymbocephalus e subseção Brasiliensis. Esta característica, apesar de ocorrer em menor frequência, também foi observada em outros membros do gênero, tais como *S. rowleyanus* (Hillson, 1979) e *S. mandraliscae* (Earnshaw et al., 1987) bem como para outros gêneros da família, tais como *Solidago* (Lersten & Curtis, 1986)

Em todas as espécies onde os ductos estão associados aos feixes vasculares, eles estão presentes nas nervuras medianas e laterais. Quanto ao epitélio dos ductos, apenas em *S. pinnatus* (Fig. 15) apresenta-se multisseriado, sendo nas demais espécies unisseriado. O ducto de *S. pinnatus* localiza-se sempre próximo à epiderme abaxial, além de ocorrer apenas um ducto por folha, o que pode estar relacionado com a secreção de compostos voláteis. Outra característica interessante é que neste ducto várias paredes celulares encontram-se destruídas na luz do ducto, indicando que a estrutura deva ser de origem lisígena, morfológicamente semelhantes às cavidades descritas para *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) por Metcalfe & Chalk, 1950. O padrão unisseriado do epitélio dos ductos parece ser o mais comum para o gênero, bem como para a família, conforme pode ser verificado nos trabalhos descritos por Lersten & Curtis, 1986, 1987, 1988; Castro, 1987; Meira, 1991; Claro, 1994. As dimensões e número de ductos associados aos feixes apresentaram uma ampla variação entre indivíduos de uma mesma espécie, demonstrando não ter valor diagnóstico para o gênero.

As cavidades foram observadas apenas em *S. oxyphyllus* e *S. icoglossus* em posição subepidérmica, estando em *S. oxyphyllus* (Figs. 26 e 27) restritas a face abaxial. Quanto ao número de camadas do epitélio, as duas espécies apresentaram mais de um estrato de células e um lume bem definido. Este registro é inédito para esse gênero, entretanto já descrito para família Asteraceae (Solleder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950, 1983). Em *S. icoglossus* (Figs. 28 e 29) também foram observadas cavidades junto aos feixes vasculares, tanto na nervura mediana quanto nas laterais. A posição subepidérmica das cavidades de *Senecio* é semelhante ao observado em espécies de Rutaceae, Lauraceae e Myrtaceae (Fahn, 1979), o que sugere que o produto de secreção seja volátil.

A terminologia utilizada neste trabalho para a definição de cavidades e ductos está de acordo com a proposta de Esau (1965), Cutter (1978), Fahn (1979, 1982) e Metcalfe (1983), que consideram a relação comprimento/largura e definem as estruturas secretoras cujo lume seja alongado como ducto e isodiamétrico como cavidade. Vários trabalhos têm tentado sem sucesso propor uma nova terminologia, dentre as quais podemos citar: cavidades tubulares em *Eupatorium rugosum* (Lersten & Curtis, 1986), cavidades alongadas em *Porophyllum lanceolatum* (Monteiro, 1986), espaço secretor interno em *Conyza canadensis* (Lersten & Curtis, 1997), reservatórios secretores em *Ambrosia trifida* (Lersten & Curtis, 1988) e reservatórios oleíferos em *Solidago canadensis* (Lersten & Curtis, 1988).

As estruturas secretoras têm se mostrado de grande valor taxonômico pela sua variedade morfológica e anatômica, e pela constância na posição que ocupam no corpo vegetal (Solleder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950; Pyykkö, 1966). Pyykkö (1966), após estudar 284 espécies xeromórficas ocorrentes na Patagônia, concluiu que as estruturas secretoras têm grande valor taxonômico, sendo características geralmente constantes em determinadas famílias e gêneros pertencentes a grupos ecológicos distintos.

Apesar dos poucos trabalhos referentes à anatomia de *Senecio*, podemos afirmar que as estruturas secretoras são um caráter unificador para esse grupo. A constante presença de ductos associados aos feixes vasculares, principalmente próximos ao floema, observados nesse trabalho, confirmou os resultados obtidos por Pyykkö (1966) para espécies de *Senecio* da Patagônia. Características divergentes foram à ocorrência de ductos voltados tanto para xilema quanto para o floema nos feixes vasculares e a presença de cavidades, entretanto, tal fato não tem relevância para a unidade taxonômica desse grupo, pois ocorreram em apenas quatro espécies e de forma isolada, mas podem ter valor diagnóstico.

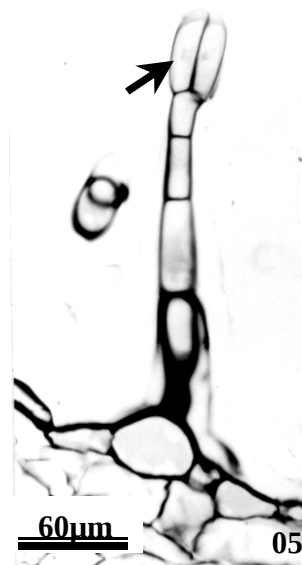
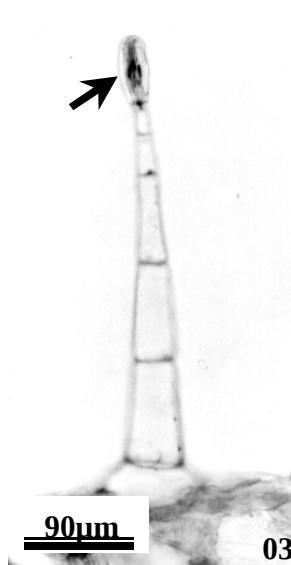
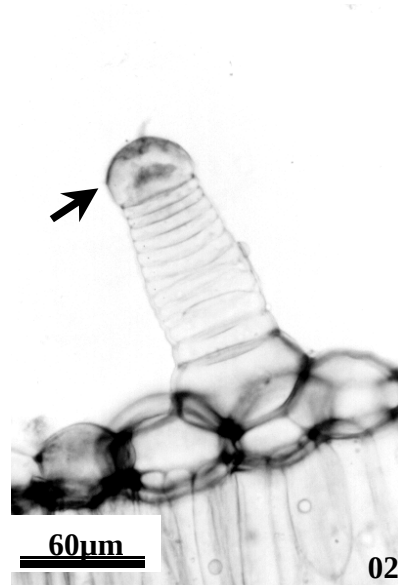
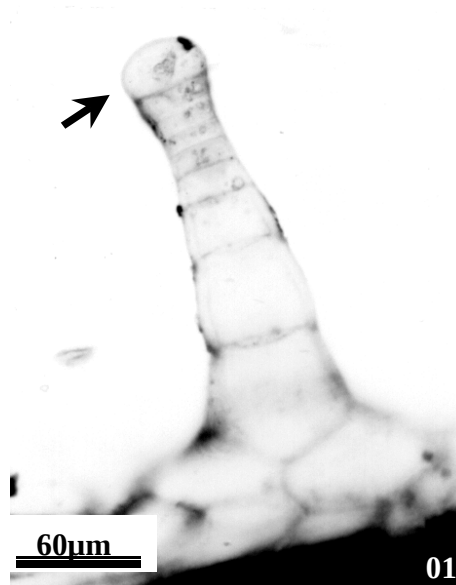
A presença de tricomas secretores foi observada pela primeira vez para esse gênero; entretanto, deve-se considerar o reduzido número de trabalhos existentes e o elevado número de espécies. Apesar disto, os tipos de tricomas secretores observados em *Senecio* já foram documentados em vários membros da família Asteraceae.

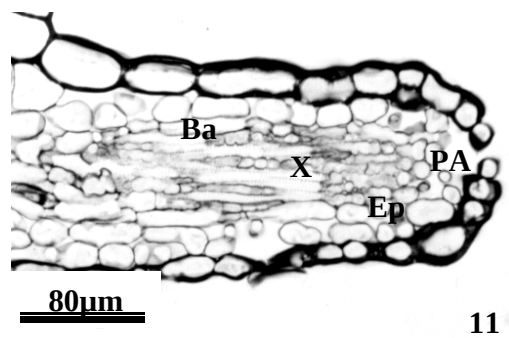
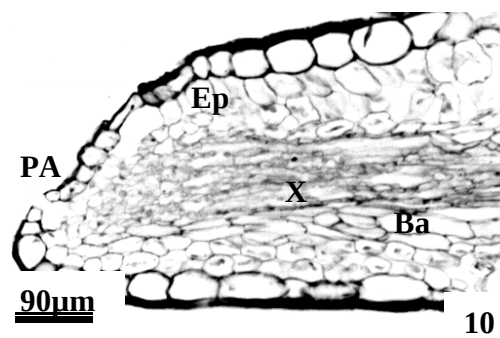
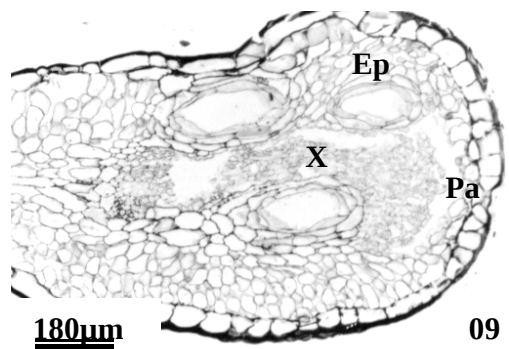
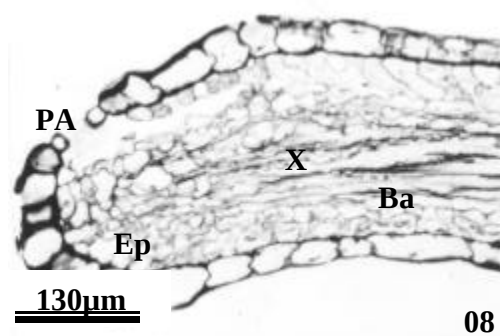
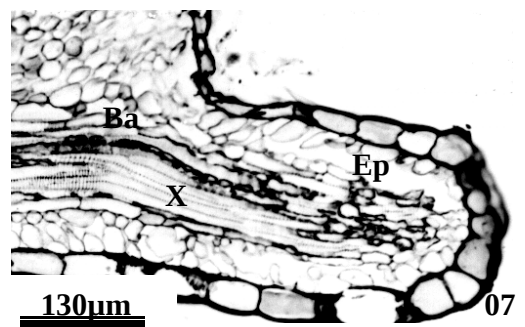
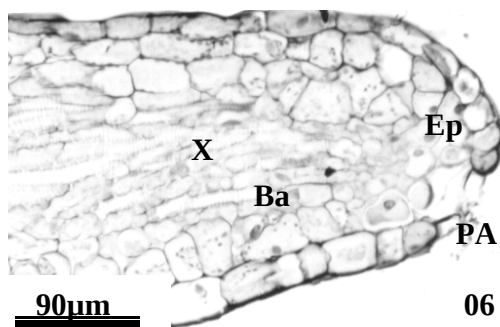
Neste trabalho foram estudadas 30 espécies de *Senecio*, do total de 92 espécies registradas para o Brasil. Para Minas Gerais foram citados 26 espécies, entretanto nesse estudo apenas para Zona da Mata de Minas Gerais foram registradas 30 espécies. Considerando a flora brasileira, este número é significativo, entretanto os resultados devem ser avaliados com parcimônia, pois este número está muito aquém do total de espécies do gênero. Apesar de ocorrerem estruturas que se repetem em várias espécies evidenciando um certo grau de uniformidade, em algumas espécies, tipos peculiares de estruturas podem servir com caráter distintivo da espécie. Estes parâmetros são úteis para taxonomia, uma vez que possibilitam a identificação de espécies a partir de amostras estéreis ou mesmo fragmentos. A diversidade de estruturas internas pode estar relacionada a produtos de secreção quimicamente diversos, o que sugere como campo promissor para futuras investigações, os estudos histoquímicos.

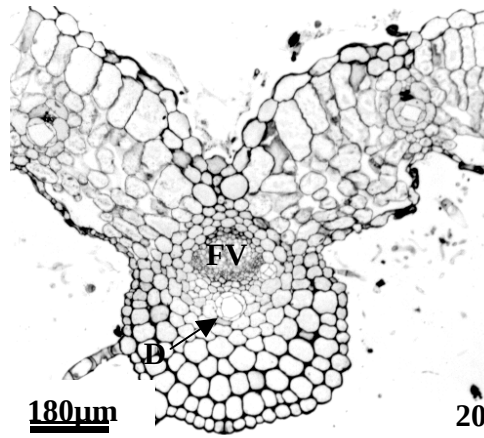
Tabela 1. Estruturas secretoras em espécies de *Senecio* (Asteraceae) da Zona da Mata de Minas Gerais.

Seção	Espécies	Tricoma Tipo	Hidatódio	Ducto Localização	Cavidade Localização
Dichoria	<i>S. argyrotrichus</i>	+ I(01)	-	+ F	-
Hualtata	<i>S. erisitalifolius</i>	+ I	+	+ F	-
	<i>S. icoglossus</i>	-	+ (09)	-	+ X/F; P (28;29)
	<i>S. pulcher</i>	-	+ (10)	+ F	-
Myriocephalus	<i>S. pellucidinervis</i>	-	-	+ F	-
	<i>S. pluricephalus</i>	+ II	+	+ F (24)	-
Adamantina	<i>S. adamantinus</i>	-	-	+ F	-
	<i>S. stigophlebius</i>	+ I	+ (06)	+ F (20)	-
Delaria	<i>S. mikanoides</i>	-	-	+ F	-
Corymbocephalus	<i>S. leptolobus</i>	+ III	-	P (14)	-
	<i>S. leptoschizus</i>	+ III	-	+ F (21)	-
	<i>S. pinnatus</i>	-	-	P (15)	-
	<i>S. nemoralis</i>	-	-	+ F	-
	<i>S. brasiliensis</i>	-	+	+ F	-
	<i>S. emilioides</i>	+ I (02)	-	+ F (16)	-
	<i>S. linguei</i>	+ II	+	+ F	-
	<i>S. confusus</i>	+ I	-	+ F (23)	-
	<i>S. polhii</i>	+ II	+ (08)	+ F/X (12)	-
	<i>S. pseudopolhii</i>	+ II	+	+ F	-
	<i>S. twediei</i>	-	-	+ F	-
	<i>S. vernenioides</i>	-	-	+ F (19)	-
	<i>S. oleosus</i>	+ II (05)	+ (11)	+ F (22)	-
	<i>S. oxyphyllus</i>	+ II	+ (07)	+ F (18)	+ P (26; 27)
	<i>S. heterotrichus</i>	+ II (04)	+	+ F	-
	<i>S. ellipticus</i>	-	-	+ F	-
	<i>S. imbricatus</i>	-	-	+ F	-
	<i>S. selloi</i>	+ II (03)	+	+ F	-
Jacobaea	<i>S. jacobaca</i>	-	-	+ F (25)	-
	<i>S. aureus</i>	-	+	+ F/X (13)	-
Streptamnus	<i>S. desiderabilis</i>	-	-	+ F (17)	-

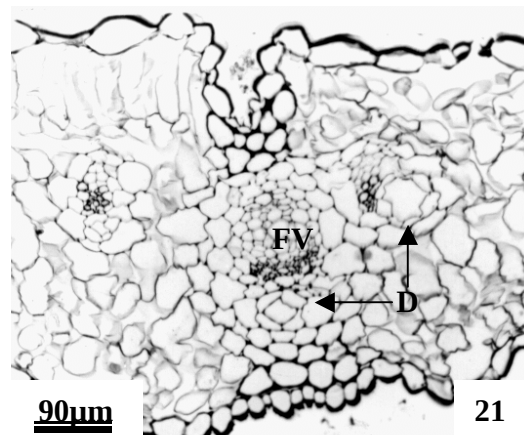
Abreviações: +: estrutura presente, -: estrutura ausente, F: floema, X: xilema, P: parênquima e I, II e III: tricomas secretores do tipo I, II e III respectivamente, números entre parênteses: indicam as ilustrações correspondentes às espécies estudadas.



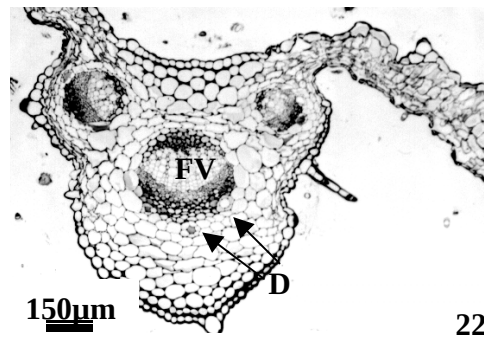




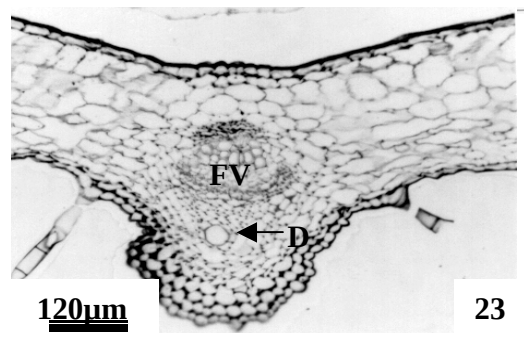
20



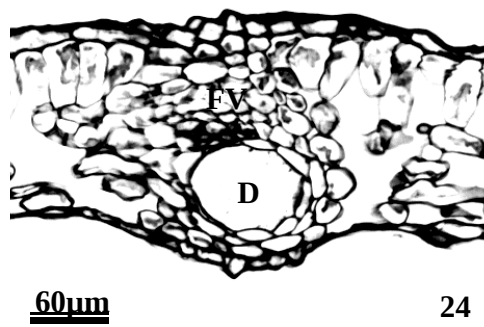
21



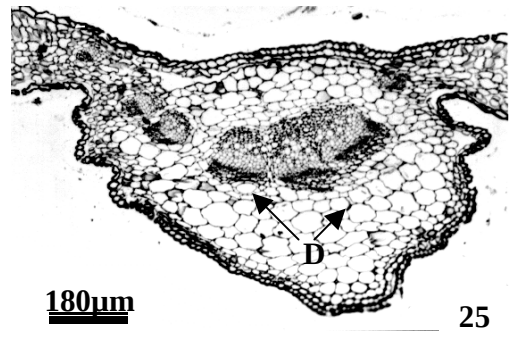
22



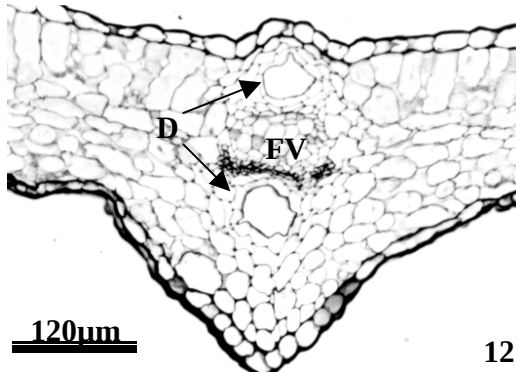
23



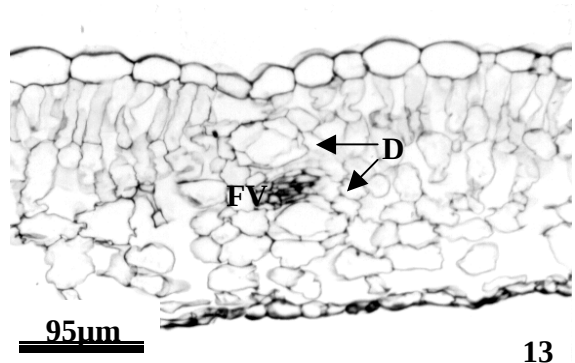
24



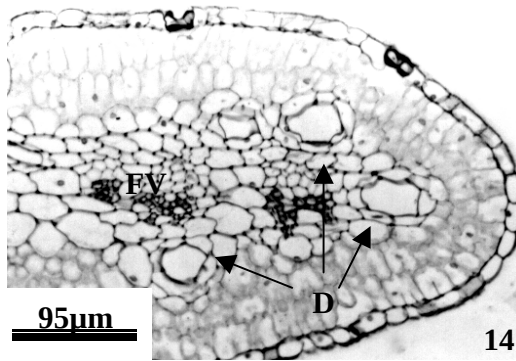
25



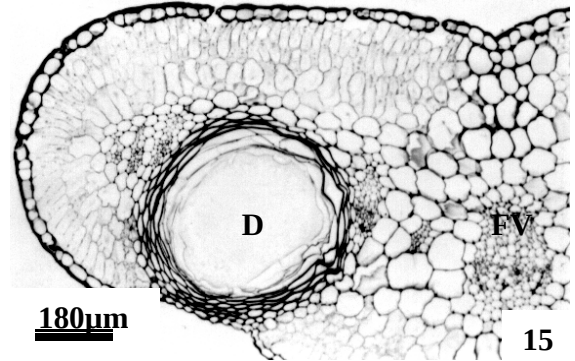
12



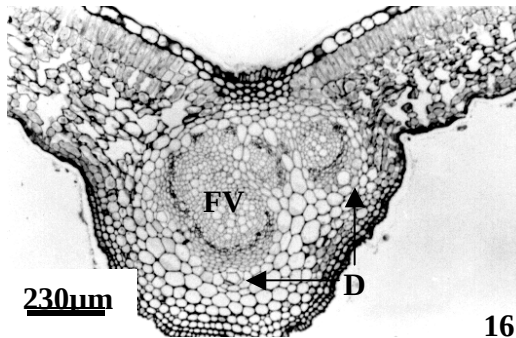
13



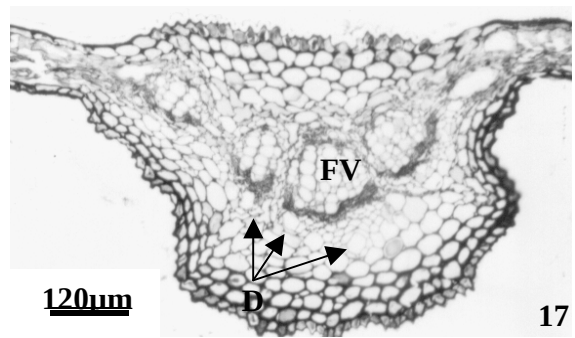
14



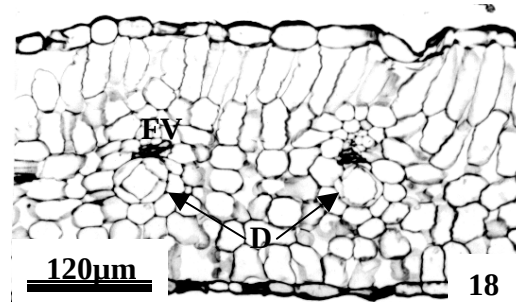
15



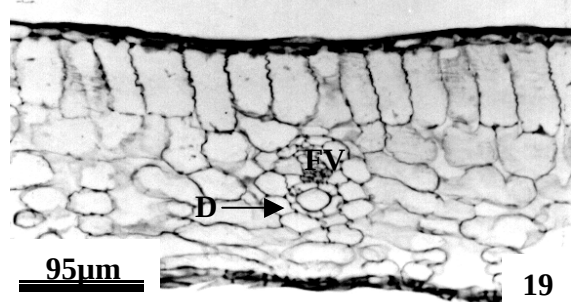
16



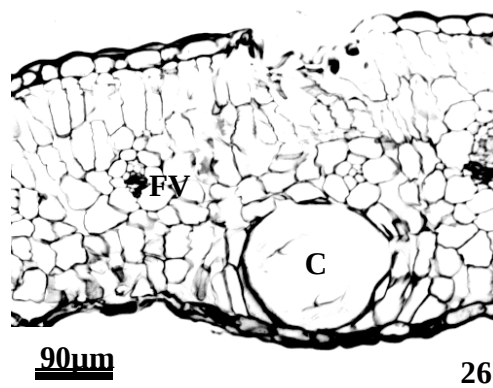
17



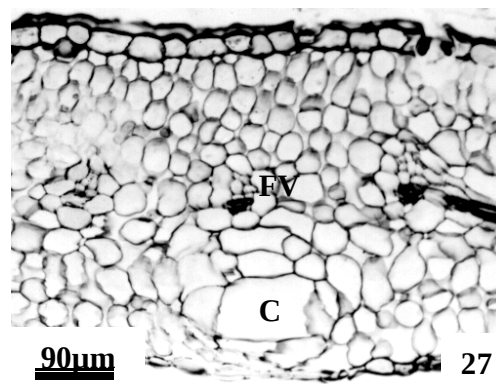
18



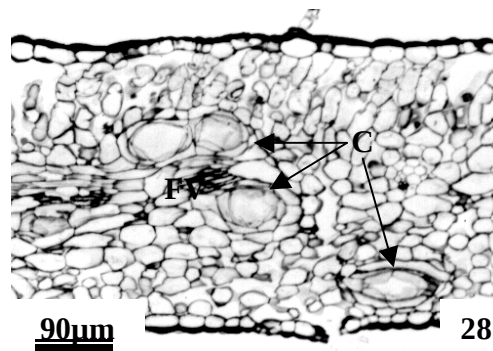
19



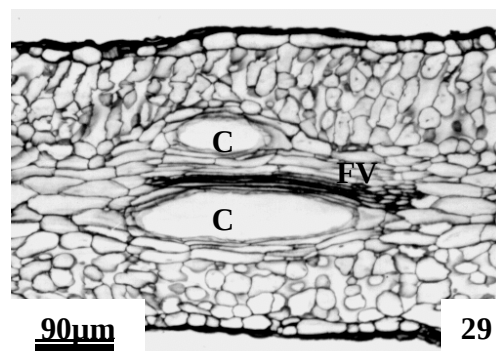
26



27



28



29

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENTLEY, B.; ELIAS, T.S. **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press. 1983. 259p.
- BERLYM, P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: The Iowa State University Press. 1976. 365p.
- BREMER, K. **Asteraceae. Cladistic and Cassification**. Portland: Timber Press. 1994. 1100p.
- CABRERA, A.L. El gênero *Senecio* (Compositae) em Brasil, Paraguay y Uruguay. **Arq. Jar. Bot. RJ**, v. 15, p. 161-325. 1957.
- CASTRO, M.M. **Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos**. São Paulo: USP. 1987. 118p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Estadual de São Paulo, Instituto de Biologia.
- CASTRO, M.M.; LEITÃO-FILHO, H.F.; MONTEIRO, W.R. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação do cerrado. **Rev. bras. bot.**, v. 20, p. 163-174. 1997.

- CLARO, S.M.C.A. **Levantamento dos tipos de estruturas secretoras em folhas de Asteraceae da restinga de Setiba, Guarapari (ES)**. Campinas: Unicamp. 1994. 100p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.
- CUTTER, E.G. **Plant anatomy**. Part I. Cells and tissues. London: Edward Arnold. 1978. 315p.
- EARNSHAW, M. J.; CARVER, K. A.; CHARTON, W. A. Leaf anatomy, water relations and crassulacean acid metabolism in the chlorenchyma and colourless internal water-storage tissue of *Carpobrotus edulis* and *Senecio mandralise*. **Planta**, v. 170, p.421-432. 1987.
- ESAU, K. **Anatomy of the seed plants**. 2ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1977. 550p.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press Inc. 1979. 302p.
- FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytol.**, v. 108, p. 229-257. 1988.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. 4 ed. Oxford: Pergamon Press. 1990. 588p..
- FREY-WYSSLING, A. Die guttation als allgemeine Erscheinung. **Ber. Schweiz. Bot. Ges.**, v. 51, p. 321-325. 1941.
- GERLACH, D. **Botanische Microtechnik**. Stuttgart: Gerog-Thieme Verlag. 1969. 324p.
- HARE, C. L. The arborescent *Senecios* of Kilimanjaro: a study in ecological anatomy. **Trans. Roy. Soc. Edinb.**, v. 60, p. 355-373. 1941.
- HILLSON, C. J. Leaf development in *Senecio rowleyanus* (Compositae). **Am. J. Bot.** v. 66, p. 59-63. 1979.
- JUDD, W.S; CAMPBELL, C.S; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sinauer Associates. 1999. 795p.
- LERSTEN, N. R. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psichotria* (Rubiaceae). **Am. J. Bot.**, v. 61, p. 973-981. 1974.
- LERSTEN, N.; CURTIS, J. D. Hydathodes in *Physocarpus* (Rosaceae: Spiraeoideae). **Can. J. Bot.**, v. 60, p. 850-855. 1982.
- LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D. Distribution and anatomy of hydathodes in Asteraceae. **Bot. Gaz.**, v. 146, p. 106-114. 1985.

- LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D. Tubular cavities in white snakeroot, *Eupatorium rugosum* (Asteraceae). **Am. J. Bot.** v. 73, p. 1016-1021. 1986.
- LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D. Internal secretory spaces in Asteraceae. A review and original observation on *Conyza Canadensis* (tribe Astereae). **La Cellule**, v. 74, p. 179-196. 1986.
- LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D. Secretory reservoirs (ducts) of two kinds in giant ragweed (*Ambrosia trifida*, Asteraceae). **Am. J. Bot.** v. 75, p. 1313-1323. 1988.
- LUTTEGE, U. Structure and function of plants glands. *Annu. Rev. Pl. Physiol.* v. 22, p.23-44. 1971.
- MEIRA, R.M.S.A. **Levantamento dos tipos de estruturas secretoras em folhas de espécies de Asteraceae em uma vegetação de floresta (Atibaia, SP).** Campinas: Unicamp. 1991. 99p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.
- MEIRA, R.M.S.A.; MARTINS, F.M.. Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de anatomia vegetal. *Rev. Árvore.* v. 27, p. 109-112 2003.
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses.** Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1950. 724p.
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject.** 2ed. Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1979. 294p.
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons. Wood structure and conclusion of the general introduction.** 2 ed. Vol. II. Oxford: Clarendon Press. 1983. 308p.
- MONTEIRO, W. R. **Estruturas secretoras da folha de *Porophyllum lanceolatus* DC (Asteraceae): estudo morfológico, histoquímico e ultra-estrutural.** Universidade de São Paulo: USP. 1986 62p. Tese (Livre Docência em Botânica) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biologia.
- O'BRIEN, T.P.; McCULLY, M.E. **The study of plant structure principles and selected methods.** Melbourne: Termarcaphy.1981.

- PYYKKÖ, M. The leaf anatomy of east Patagonian xeromorphic plants. **Ann. bot. fenn.**, v. 3, p. 453-622. 1966.
- RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P.L.; MEHTA, I. **Biology and chemistry of plant trichomes**. New York: Plenum Press. 1984. 225p.
- ROSHCHINA, V.V.; ROSHCHINA, V.D. **The excretory function of higher plants**. Berlin: Springer-Verlag. 1993. 314p.
- SCHNEPF, E. **Gland cells. In: Dynamic aspects of plant ultrastructure** (A. W. Robards, ed.), Maidenhead: MacGraw-Hill Book Co. 1974. p.331-357.
- SMITH, F.H.; SMITH, E.C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **Am. J. Bot.**, v. 29, p. 464-471. 1942.
- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany**. Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1908. 1182p.
- STERN, W. L. Comparative anatomy and systematics of woody Saxifragaceae, *Escallonia*. **Bot. J. Linn. Soc.**, v. 68, p. 1-20. 1974.
- THEOBALD, W. L.; KRAHULIK, J. L.; COLLINS, R. C.. Trichome description and classification. In: C. R. Metcalfe; L. Chalk. **Anatomy of the dicotyledons; Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject**, 2ed. v.1, Oxford: Clarendon Press. 1979. 276p. p. 40-53.
- UPHOF, J. C. Th. **Plant hair**. Berlin: Gebrüder Borntraeger. 1962. 341p.
- VILLIERS, J. F. Icacinaceae. **Flore du Gabon.**, v. 20, p. 3-100. 1974.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE *Senecio leptolobus* BONG. (ASTERACEAE)

RESUMO

O gênero *Senecio* é considerado o maior dentre as fanerógamas, podendo ser caracterizado pela produção de alcalóides pirrolidizínicos. Esses alcalóides garantem defesa contra predadores, conferindo vantagem seletiva, bem como uma grande atividade tóxica causando a morte quando ingerido por bovinos. Este trabalho teve como objetivo caracterizar histoquimicamente as folhas de *Senecio leptolobus* DC. Os indivíduos foram coletados em um campo rupestre na região de Ouro Preto – MG e mantidos em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Folhas foram fixadas em FAA₅₀, desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historesin, Leica). Os blocos foram cortados, transversal e longitudinalmente, em micrótomo rotativo utilizando navalhas de aço descartáveis. Foram também utilizados cortes a fresco obtidos com lâmina de barbear em micrótomo de mesa e montados em gelatina glicerizada. Os testes histoquímicos utilizados foram: sudan III, IV e sudan black B para lipídios; xylidine ponceau para proteínas; PAS para polissacarídeos neutros; Vermelho de rutênio para substâncias pécnicas; floroglucina em meio ácido para lignina; lugol para amido; Sulfato ferroso em formalina para compostos fenólicos (como fixador e reagente) e reagente de Dragendorff para alcalóides. Para caracterização dos tecidos foliares foi utilizado azul de toluidina. Os testes com PAS, xylidine ponceau e lugol foram negativos. Alcalóides foram

identificados nos plastídeos do parênquima clorofiliano. Uma forte reação foi observada no teste com sulfato ferroso, evidenciando um acúmulo de compostos fenólicos principalmente nas células epidérmicas. A presença de lipídeos foi evidenciada e confirmada em todos os testes aplicados, demonstrando a presença de gotas de óleo no parênquima aclorofilado. Ductos secretores foram observados no parênquima aclorofilado, entretanto, os testes histoquímicos realizados não evidenciaram reação neles.

INTRODUÇÃO

A família Asteraceae é a maior família de Angiospermas, com aproximadamente 1535 gêneros e 23000 espécies (Bremer, 1994). São muitas as espécies que apresentam propriedades terapêuticas, tais como antiflogísticas, espasmódica, virostática, colérica, hepatoprotetora, antibiótica e anticarcinogênica, ocorrendo também espécies de grande capacidade tóxica (Wagner, 1977). Algumas das espécies destacam-se pela produção de óleos essenciais, tendo importância para a indústria, sendo utilizados em perfumaria, cosméticos e em produtos alimentícios e farmacêuticos (Margaris *et al.*, 1982).

O gênero *Senecio* é considerado o maior dentre as fanerógamas, com cerca de 3000 espécies distribuídas por todo o mundo (Bremer, 1994; Judd *et al.*, 1999). *Senecio leptolobus* é um subarbusto com até 80cm altura, ramificado na base, caules cilíndricos, estriados, glabros, densamente folhosos até as inflorescências. Suas folhas são alternas, sésseis, glabras, profundamente pinatissectas, com ráquis estreita e canaliculada na face ventral. Possui habitat campestre, sendo encontrado principalmente em solos graníticos (Matzembacher, 1998).

Quanto ao padrão químico, o gênero é caracterizado pela produção de alcalóides pirrolidizínicos (APs) venenosos, que segundo Matzembacher (1988) garante defesa contra

predadores conferindo vantagem seletiva, a qual é refletida na ampla distribuição, ocorrência e abundância de espécies. Os alcalóides pirrolizidínicos (APs) apresentam uma vasta atividade biológica e interações ecológicas (Hartmam & Witte, 1995; Brown & Trigo, 1995; Hartmam, 1999; Trigo, 2000). Segundo Swain (1977), esses alcalóides são de grande funcionalidade para defesa da planta contra predadores e patógenos, como agentes alelopáticos e envolvidos na polinização ou dispersão de sementes. Borboletas aposemáticas adquirem APs durante a sua fase larval quando ainda estão alimentando-se de plantas de *Senecio* (Trigo, 1996). Urzúa (2000) afirma que o exsudato, o qual apresenta APs, produzido em tricomas secretores de *S. cerebeus* e *S. viscosissimus*, é a primeira linha de defesa e resistência (física e química) da planta contra insetos e microorganismos.

Robins (1977) afirma que a ingestão de plantas do gênero *Senecio* é responsável pela morte de bovinos, maior do que todas as outras plantas tóxicas reunidas, sendo que a doença fatal é devida a lesões hepáticas produzidas pelos APs. Esses alcalóides são metabolizados por hepatócitos em grupos pirróis responsáveis pelo dano hepatocelular (McLean, 1970), e a toxicidade pode variar em função dos metabólitos formados e da capacidade da espécie animal de detoxicar-se ou não (Jubb *et al.*, 1992). Os APs podem estar presentes no mel de abelhas que utilizam o néctar de *Senecio* ssp; sendo também excretados pelo leite de animais que tenham consumido plantas com esse conteúdo (Deinzer *et al.*, 1977). Devido à sua ação cancerígena e mutagênica (Bruneton, 1999), deve-se considerar os riscos à saúde pública (Mendez, 1997). Segundo Riet-Correa (1993), *S. leptolobus* é altamente tóxico aos bovinos por apresentar os alcalóides neosenkirkina e florosenina, sendo uma ameaça constante aos rebanhos em todas as regiões do Brasil.

Este trabalho teve como objetivo fazer a caracterização anatômica e histoquímica da lâmina foliar de *Senecio leptolobus* DC, com ênfase na localização do sítio armazenador de alcalóides.

MATERIAIS E MÉTODOS

Exemplares de *Senecio leptolobus* foram coletados na localidade de Chapadão, no distrito de Lavras Novas, pertencente ao município de Ouro Preto – MG. Os mesmos foram transferidos para vasos com solo e cultivados a pleno sol na casa de vegetação da Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa – MG. O material testemunha foi depositado no Herbário do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (VIC).

Folhas totalmente expandidas a partir do 4º nó foram fixadas em FAA₅₀ (Johansen, 1940). Amostras foram isoladas, desidratadas em série etílica até 95% e incluídas em metacrilato. Os blocos foram cortados transversal e longitudinalmente com espessura de 10 µm, em micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2155 - Leica), com a utilização de navalhas de aço descartáveis. Foram também realizados cortes de material fresco com lâmina de barbear em micrótomo de mesa. As lâminas foram montadas em gelatina glicerinada (Johansen, 1940).

Os testes histoquímicos aplicados foram: Sudan III, IV e Sudan Black para lipídios (Jensen, 1962); xylidine ponceau para proteínas totais (O' Brien 1981); PAS para polissacarídeos neutros (Maia, 1979); vermelho de rutênio para substâncias pécnicas (Johansen, 1940); floroglucina para lignina (Jensen, 1969); lugol para amido (Johansen, 1940); Sulfato ferroso em formalina neutra tamponada para compostos fenólicos como

fixador e reagente (Johansen, 1940) e reagente de Dragendorff para alcalóides (Yoder, 1976). Para caracterização geral dos tecidos foliares foi utilizado azul de toluidina (O' Brien 1981).

A análise do laminário e a documentação fotográfica foram realizadas em um microscópio Olympus AX 70, equipado com sistema fotográfico U-PHOTO.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Senecio leptolobus é uma planta arbustiva, com aproximadamente 2 metros de altura que ocorrem entre as fendas das rochas em uma vegetação natural de campo rupestre. Suas folhas são pequenas, medindo cerca de 30 mm de comprimento por 10 mm de largura, que exalavam um aroma forte quando trituradas.

A lâmina foliar é isobilateral e anfiestomática. A cutícula é espessa e os estômatos estão no mesmo nível das demais células epidérmicas. O mesofilo é caracterizado por apresentar parênquima paliçádico com 2 a 4 camadas de células voltado para a face adaxial para a abaxial uma camada, que está em contato com o parênquima lacunoso constituído por 2 ou 3 camadas de células. Entre o parênquima paliçádico da face adaxial e o parênquima lacunoso encontra-se o parênquima aclorofilado constituído por células volumosas e pouco coradas, indicando tratar-se de um parênquima aquífero. Ductos secretores encontram-se dispersos nesse parênquima (Fig. 01). Na porção central da folha observam-se duas calotas de colênquima subepidérmico voltadas para a face adaxial e para a abaxial (Fig. 03), sendo os feixes vasculares colaterais.

Vários caracteres xeromórficos podem ser observados na espécie, como: folhas pequenas, mesofilo isobilateral, com mais de duas camadas de parênquima paliçádico, cutícula espessa, parênquima aquífero. Tais características podem ocorrer como estratégia

de plantas xerófitas (Fahn, 1992), como deve ser o caso da espécie, uma vez que está adaptada ao campo rupestre, ambiente tipicamente xérico (Rizzini, 1979).

A reação positiva ao teste com vermelho de rutênio, possibilitou a visualização do colênquima, em que há deposição de substâncias pécticas nas paredes das células localizadas próximas a nervura central e voltadas para ambas as faces (Fig. 03). Observou-se lignificação exclusivamente nas paredes celulares dos elementos de xilema.

Não foram evidenciadas substâncias de reserva, entretanto, nota-se reação positiva no parênquima paliçádico aos testes com lugol, PAS e xylidine ponceau (Figs. 04, 08 e 09). Isto se deve, no caso do lugol, pela existência de amido temporário presente nos cloroplastos. Este resultado pode ser confirmado com a utilização de luz polarizada, mostrando refringência apenas nos cristais e algumas paredes celulares (Fig. 04). As regiões que reagiram positivamente ao PAS e ao Xylidine Ponceu, foram as paredes celulares, visto que, esses testes evidenciam a presença de proteínas e polissacarídeos neutros.

A reação ao teste com sulfato ferroso foi muito evidente no parênquima paliçádico e nas células epidérmicas indicando que estes são sítios de síntese e/ou acúmulo de compostos fenólicos. Os fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, dentre as quais podemos destacar os flavonóides, taninos, os ácidos benzóicos e cinâmicos (Simões, 2001). Esses compostos apresentam uma ampla distribuição no Reino Vegetal, onde podem ser encontrados complexados com proteínas, alcalóides e terpenos (Salatino, 1983). Muitos trabalhos têm evidenciado a presença de compostos fenólicos na família Asteraceae (Monteiro, 1986; Castro, 1987; Fahn, 1979), entretanto, a sua secreção foi sempre relacionada à estruturas especializadas como ductos e tricomas secretores, o que não foi observado neste trabalho. A presença de compostos fenólicos em grande quantidade nas células epidérmicas pode estar relacionada com a capacidade da planta em sobreviver no ambiente. Segundo Salatino (1980), a defesa química pode estar baseada na presença de taninos e cristais. Alguns fenilpropanóides têm sido relatados como supressores do apetite de insetos (Leitão *et al.* 1997). A presença desses compostos fenólicos pode estar envolvida em processos de secreção de néctar ou na defesa do tricoma contra herbívoros (Leitão, 2002).

A presença de alcalóides foi evidenciada pela reação positiva ao reagente de Dragendorff (Figs. 10 e 11). Alcalóides são compostos nitrogenados e farmacologicamente

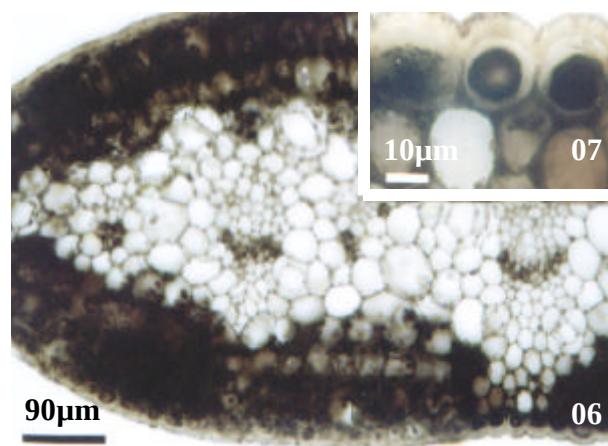
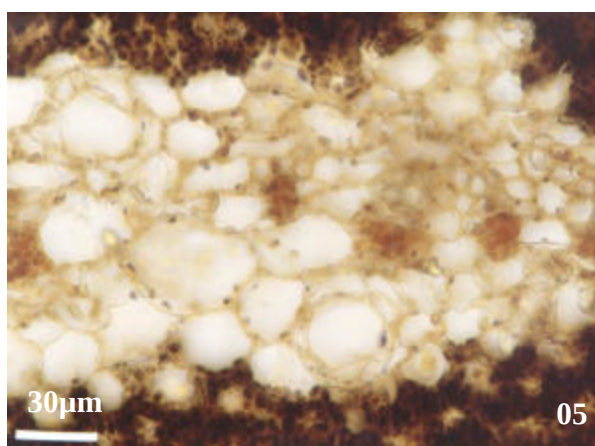
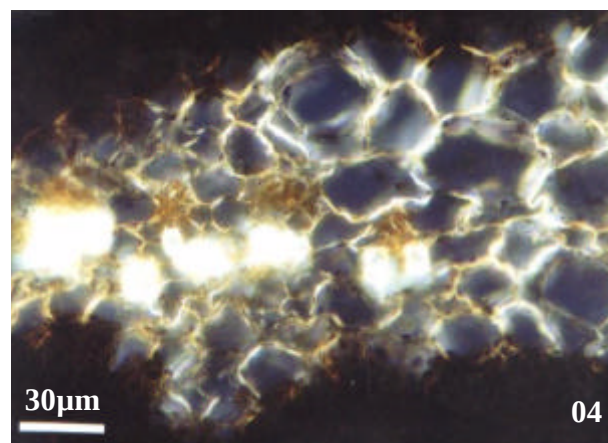
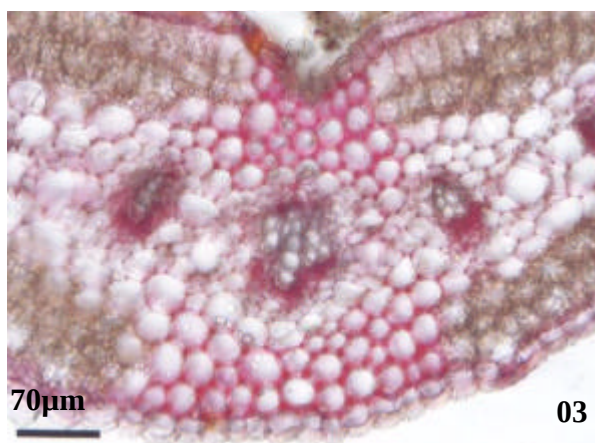
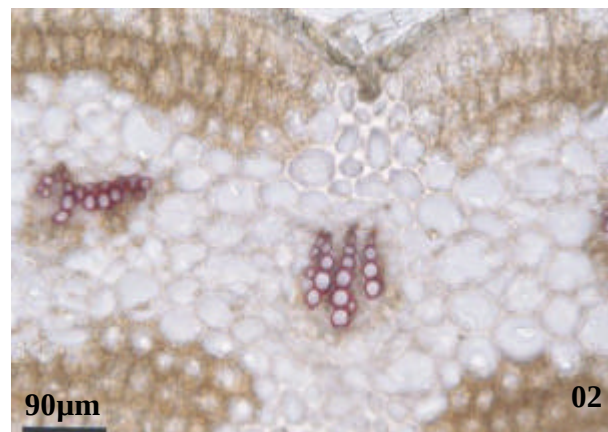
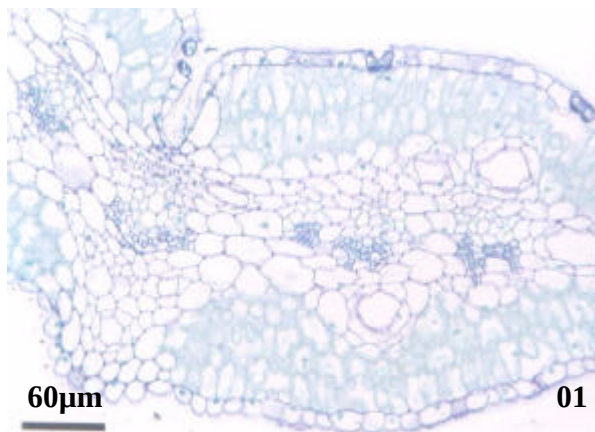
ativos encontrados predominantemente nas angiospermas. Eles podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal, exceto em tecidos mortos (Simões, 2001). A síntese pode ocorrer nos cloroplastos e no citoplasma (Wink, 1985), podendo ser também encontrados nos vacúolos (Bruneton, 1999). Em *Senecio* os alcalóides são observados nos plastídeos do parênquima aclorofilado (Fig. 11). Alcalóides também são encontrados em tricomas glandulares de muitas plantas, estando misturados a óleos essenciais (Fahn, 1979). A distribuição dos alcalóides é muito diversificada, e nem sempre está de acordo com padrões quimiotaxonômicos, podendo, inclusive caracterizar um único gênero. Em alguns casos, como os alcalóides indolmonoterpênicos encontrados em Apocynaceae, Rubiaceae e Loganiaceae, cuja ocorrência pode ser utilizada como critério para enfatizar a proximidade entre essas famílias e as Asteridae (Asteraceae) (Simões, 2001).

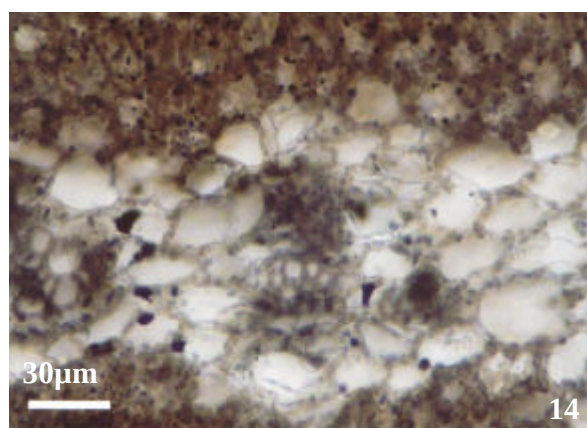
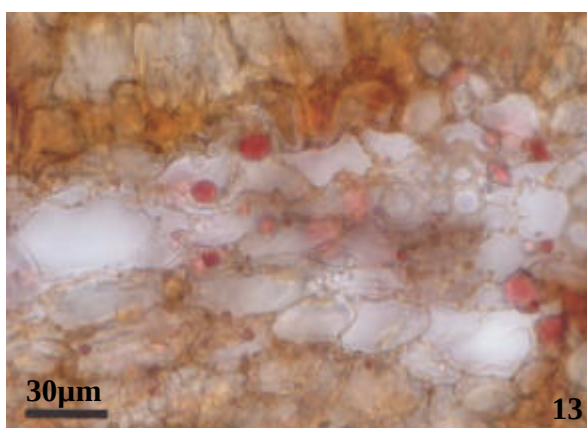
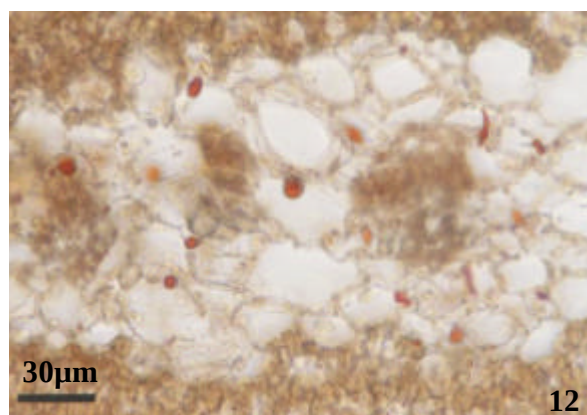
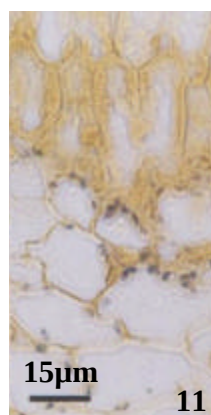
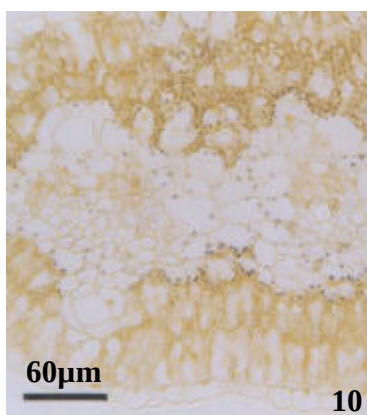
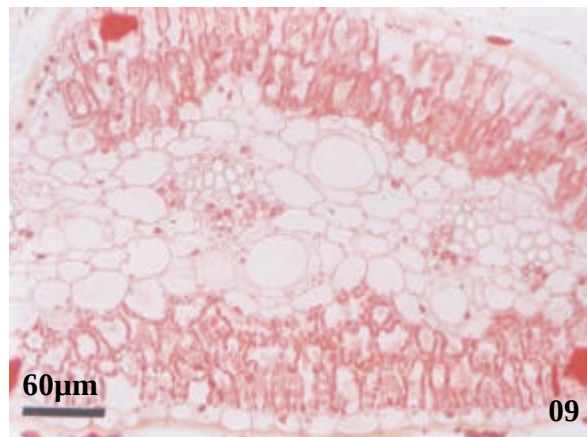
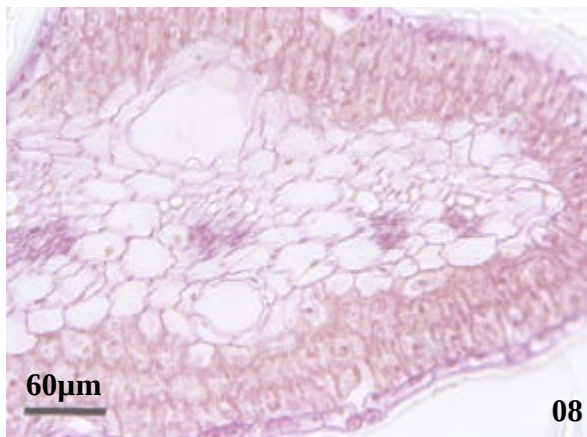
A ocorrência de lipídios foi evidenciada com a reação positiva a sudan III (Fig. 12) e confirmada com a reação positiva a sudan IV (Fig. 13) e sudan black B (Fig. 14). Foram observadas gotas de óleo no parênquima aclorofilado. A ocorrência de óleos essenciais nas angiospermas é uma característica comum, sendo encontrados amplamente na família Asteraceae. Eles podem ocorrer em estruturas especializadas, tais como tricomas secretores, ductos, cavidades, e em células secretoras especializadas no parênquima (Metcalf & Chalk, 1950). É possível que a fragrância características das folhas de *S. leptolobus* se deva à presença destes compostos lipídicos, que possivelmente sejam óleos essenciais, uma vez que o aroma é exalado quando as folhas são trituradas.

Existe uma grande diversidade de compostos que fazem parte da constituição dos óleos essenciais; foram relatados aproximadamente 1000 compostos orgânicos (Bruneton, 1999; Simões, 2001). Os óleos essenciais apresentam atividade biológica, estando relacionados com processos de defesa e polinização. Inicialmente, acreditava-se que se tratavam de substâncias sem função para planta, sendo consideradas um desperdício fisiológico (Knobloch et al., 1986) ou considerados produtos da desintoxicação da planta (Mothes, 1980). Muitas plantas que apresentam óleos essenciais compostos por terpenos possuem uma grande atividade alelopática, dentre as quais podemos salientar *Artemisia absinthum*, também da família Asteraceae (Simões, 2001), além de poder atuar como repelente de larvas de insetos (Kerley et al., 1984). Alguns insetos utilizam esses óleos para se defenderem de predadores; suas larvas ao se alimentarem de determinadas plantas

adquirem tais componentes, que não sofrem alterações químicas e conferem defesa ao ataque de predadores à forma adulta dessas larvas (Harbone, 1993).

Não foram observadas reações positivas aos testes nos ductos, entretanto em *S. mandraliscae* (Earnshaw et al., 1987), foi relatada a presença de óleo nos ductos. Esse fato pode estar relacionado com fatores ambientais, pois em condições de estresse a planta diminui consideravelmente a produção de óleo (Simões, 2001). Entretanto, foram observadas gotas de óleo no parênquima aclorofilado, o que se contrapõe a essa idéia de estresse ambiental como o responsável pela diminuição na produção de óleo. Assim estudos complementares deverão ser conduzidos para se esclarecer quanto a esse questionamento.





REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BREMER, K. **Asteraceae. Cladistic and Classification**. Portland: Timber Press. 1994. 753p.
- BROWN Jr.; K.S., TRIGO, J.R. Ecological activities of the alkaloids. In: Cordell, G. (Ed.), **The Alkaloids**. New York: Academic Press. 1995. 462p. p. 227-356.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy**. Paris: Intercept. 1999. 1119p.
- CASTRO, M.M. **Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos**. São Paulo: USP. 1987. 118p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biologia.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press. 1981. 1263p..
- DEINZER, M.L.; THOMPSON, P.A.; BURGETT, D.M.; ISAACSON D.L. Pirrolizidine Alkaloids: Their occurrence in honey from tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L.) **Sci.**,195: 497-499. 1977.
- EARNSHAW, M. J.; CARVER, K. A.; CHARTON, W. A. Leaf anatomy, water relations and crassulacean acid metabolism in the chlorenchyma and colourless internal water-storage tissue of *Carpobrotus edulis* and *Senecio mandralise*. **Plant**, v. 170, p. 421-432. 1987.

- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press Inc. 1979. 302p.
- FAHN, A.; CUTLER, D. **Xerophytes**. Berlin: Bruder Borntraeger. 1992. 176p.
- HARBONE, J.B. **Ecological biochemycal**. London: Academic Press Inc. 1993. 657p.
- HARTMANN, T. Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. **Planta**, v. 207, p. 488-495. 1999.
- HARTMANN, T.; WITTE, L. Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In: Pelletier S. W. **Alkaloids – Chemical and Biological Perspectives**, Vol. 9. Oxford: Pergamon Press. 1995. 652p. p. 155-233.
- JENSEN, W. A. **Botamical histochemistry: principles and practice**. San Francisco: W.H. Freeman and Company. 1962. 408p.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc. 1940. 523p.
- JUDD, W.S; CAMPBELL, C.S; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Sinauer Associates, Massachusetts. 1999. 464p.
- KNOBLOCH, K.; WEIGAND, H.; WEIS, N.; SCHWRN, M.; VIGENSCHOW, H. Action of terpenoids on energy metabolism. In: Brunke, E. J. **Progress in essencial oil research**. Berlin: Gruyter 1986. 870p. p.633-698.
- KESLEY, R.G.; REYNOLDS, G.W.; RODRÍGUEZ, E. The chemistry of biologically active constituents secreted and stored in plants glandular trichomes. In: Rodrigues, E. Healey, P.L. **Biology and chemistry of plants trichomes**. New York: Plenum. 1984. 462p. p. 226-247.
- LEITÃO, S.G.; KAPLAN, M.A.C.; MONACHE, F.D.; NYANDAT, E.; RWEKIKI, E.F. Antifeedant activity of two phenylpropanoid glucosides from *Aegiphila obducta* againts *Chilo partellus* larvae. **Insect Sci. Applic.**, v. 16, p. 375-378. 1997.
- LEITÃO, C.A.E. **Caracterização estrutural dos nectários de Triunfetta semitriloba Jacq. (Tiliaceae)**. Viçosa: UFV. 2001. 81p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Biologia Vegetal.
- MAIA, V. **Técnica histológica**. São Paulo: Atheneu. 1979. 298p.
- MARGARIS, N.; KOEDAM, A.; VOKOU, D. **Aromatic plants: basic and applied aspects. World crops: production, utilization and description**. Martinus: Nijhoff Publishers. 1982. 446p.

- MATZEMBACHER, N.I. **O complexo Senecionioide (Asteraceae-Senecioneae) no Rio Grande do Sul – Brasil**. Porto Alegre: UFRGS. 1998. 274p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências.
- MENDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F. Intoxication by *Senecio tweediei* in cattle in Southern Brazil. **Vet. Hum. Toxicol.**, v. 36, p. 55. 1993.
- METCALFE, C.F.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Vol. I. Oxford: Clarendon Press. 1950. 724p.
- McLEAN, E.K. The toxic actions of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids: **Phar. Rev.**, v. 22, p. 429-483. 1970.
- MONTEIRO, W. R. **Estruturas secretoras da folha de *Porophyllum lanceolatus* DC (Asteraceae): estudo morfológico, histoquímico e ultra-estrutural**. Universidade de São Paulo: USP. 1986 62p. Tese (Livre Docência em Botânica) – Universidade de São Paulo, Instituto de Biologia.
- MOTHES, K. Historical introduction. In: Bell, E. A.; Chahalwood, B.V. **Secondary plants products**. Berlin: Springer. 1980. 740p. p. 1-10.
- O'BRIEN, T.P.; McCULLY, M.E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Melbourne: Termarcaphy. 1981.
- RIET-CORREA, F. **Intoxicação por plantas e micotoxícoses em animais domésticos**. Pelotas: Ed Hemisfério Sul do Brasil. 1993. 341p.
- RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**. São Paulo: Ed. Hucitec e Ed. Univ. de São Paulo, v. 2, 1979. 374p.
- ROBINS, D. J. Senecioneae - Chemical review. In: **The biology and chemistry of the Compositae**. V. H. Heywood; J. B. Harborne; B. L. Turner. Vol. I, London: Academic Press Inc. 1977. 652p. p. 21-39.
- SALATINO, A. & GOTTLIEB, O.R. Quinolizidine alkaloids as systematics markers of the Papilionoideae. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.8, p. 133-147. 1981.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina. 2001. 833p.

SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. **Ann. Rev. Plant Physiol.**, v. 28, p. 479-501. 1977.

TRIGO, J. R., The chemistry of antipredator defense by secondary compounds in Neotropical Lepidóptera: facts, perspectives and caveats. **J. bra. chem. soc.**, v. 11, p. 551-561. 2000.

URZÚA, A.; ANDRADE, L.; MENDOZA, L.; BUSTOS, F. Comparative leaf surface chemistry from *Senecio ceberoanus* and *Senecio viscosissimus*. **Biol. syst. ecol.** v. 28, p. 399-401. 2000.

WAGNER, H. Pharmaceutical and economic uses of the Compositae. In: **The biology and chemistry of the Compositae**. (V. H. Heywood, J. B. Harborne & B. L. Turner, eds.). Vol. I. London: Academic Press Inc. 1977. p.411-435.

WINK, M. Allelochemical properties of the raison d'être of alkaloids. In: Brossi, A. **The Alkaloids**. San Diego: Academic Press Inc. 1993. 621p. p. 123-146.

YODER, L.R. & MAHLBERG, P. G. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticíferos and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). **Am. j. bot.**, v. 63, n. 9, p. 1167-1173. 1976.

CONCLUSÕES FINAIS

As estruturas secretoras são um caráter unificador para esse grupo. A constante presença de ductos associados aos feixes vasculares juntamente com a ocorrência de hidatódios confirma os registros bibliográficos. Características divergentes foram a ocorrência de ductos voltados tanto para xilema quanto para o floema nos feixes vasculares e a presença de cavidades, entretanto, tal fato não tem relevância para unidade taxonômica deste grupo, pois ocorreram em apenas quatro espécies incluídas em tribos não relacionadas. A presença de tricomas secretores foi observada pela primeira vez em *Senecio*; entretanto, deve-se considerar o reduzido número de trabalhos existentes e o elevado número de espécies. Apesar disto, os tipos de tricomas secretores em *Senecio* já foram observados em outros membros da família Asteraceae.

Os testes histoquímicos confirmam a presença de vários compostos já descritos para família Asteraceae. A presença de compostos fenólicos e óleo essencial já foi relatada inúmeras vezes para Asteraceae, entretanto é surpreendente que estas reações tenham sido positivas em tecidos não especializados. A reação positiva para alcalóides no parênquima clorofiliano, indica que estes compostos não estão sendo secretados por estruturas especializadas, como os ductos, cavidades, e tricomas. Este resultado é conflitante com a literatura, que relata a síntese de alcalóides nos tricomas secretores. Como a síntese de alcalóides pirrolizidínicos é uma característica química distintiva do gênero *Senecio* dentre

as Asteraceae, sugere-se a investigação de um maior número de espécies para se confirmar o não envolvimento de estruturas especializadas nesta secreção. Além disso, permanece a dúvida quanto ao produto de secreção das estruturas secretoras relatadas.