

2º ARTIGO

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DAS ESTRUTURAS SECRETORAS DA FOLHA DE
***Casearia decandra* JACQ. (FLACOURTIACEAE)**

Marcela Thadeo^{1,2,*}; Renata M.S.A. Meira²; Aristéa A. Azevedo²; João M. Araújo³

¹Parte da Tese de Doutorado da Primeira Autora. ²Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Av. P. H. Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP 36570-000, fone: +55 31 3899-2520, fax: +55 31 3899-2580, Viçosa, MG, Brasil.

³Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa (UFV), CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. * Autor para correspondência: tmarcela@gmail.com

Thadeo *et al.* – Anatomia e histoquímica de *Casearia decandra*.

RESUMO – Extensivas investigações têm enfatizado as propriedades terapêuticas das espécies de *Casearia*, propriedades estas relacionadas com compostos secretados por estruturas especializadas presentes nas folhas. Portanto, objetivou-se caracterizar anatômica e histoquimicamente as estruturas secretoras presentes nas folhas de *C. decandra*. O material foi coletado em populações naturais da Mata da Biologia (Zona da Mata de MG - Viçosa). As folhas foram fixadas em FAA₅₀ e processadas conforme metodologia usual para obtenção de laminário permanente, sendo os cortes corados com Azul de Toluidina pH 4,0 para caracterização estrutural, com Xilidine Ponceau para proteínas totais e Reativo de Schiff para polissacarídeos neutros. Os demais testes histoquímicos foram aplicados à amostras frescas seccionadas transversal e longitudinalmente. O sistema secretor de *C. decandra* é composto por ductos e cavidades dispersos pela lâmina foliar e pecíolo, e por idioblastos presentes nos tecidos vasculares, parênquima cortical da nervura mediana e no parênquima paliçádico. Os ductos encontram-se distribuídos no parênquima cortical da nervura e possuem continuidade nesta mesma região do pecíolo. No mesofilo existem numerosas cavidades com localização subepidérmica ou distribuídas na interface do parênquima paliçádico com o lacunoso. Detectaram-se substâncias lipofílicas e hidrofílicas, evidenciando lipídios do tipo óleo-resina nos ductos e cavidades, e compostos fenólicos do tipo tanino nos idioblastos e no parênquima. Não foram detectados alcalóides, polissacarídeos e proteínas como produtos de secreção. Este trabalho relatou a presença de ductos e cavidades para o gênero *Casearia*. Os testes histoquímicos confirmam a complexidade do secretado, além de indicar tecidos fundamentais como sítios de síntese e/ou acúmulo de compostos fenólicos.

Palavras-chave: cavidades, ductos, idioblastos e estruturas secretoras.

ABSTRACT – Anatomy and histochemistry of secretory structures from the leaf of *Casearia decandra* Jacq. (Flacourtiaceae). Extensive investigations have emphasized the therapeutic properties of *Casearia* species related with compounds secreted by specialized structures in the leaves. Therefore, the objective of this study was to characterize anatomical and histochemically the secretory structures present in leaves of *C. decandra*. Material was collected from natural populations of Mata da Biologia (Zona da Mata de MG - Viçosa). Leaves were fixed in FAA₅₀ and subjected to usual methodology to obtain permanent slides. The sections were stained with Toluidine Blue pH 4 for structural characterization, with Xylidine Ponceau for total protein and Schiff's reagent for neutral polysaccharides. The other histochemical tests were applied to transversally and longitudinally sectioned fresh samples. The secretory system of *C. decandra* consists of ducts and cavities dispersed on the leaf lamina and petiole and idioblasts present in the vascular tissues, cortical parenchyma of the midrib and in the palisade parenchyma. The ducts are distributed in the cortical parenchyma of the rib and continue in this same region of the petiole. In the mesophyll there are numerous cavities in the subepidermic layer or distributed in the interface between the palisade and spongy parenchyma. Lipophilic and hydrophilic substances were detected, confirming oil-resin lipids within ducts and cavities, and phenolic compounds, of the tannin type, within idioblasts and parenchyma. Alkaloids, polysaccharides and proteins were not detected as secretory products. This work reported the presence of ducts and cavities for the genus *Casearia*. Histochemical tests confirm the secretory product complexity, besides indicating fundamental tissues such as sites of synthesis and/or accumulation of phenolic compounds.

Keywords: cavity, ducts, idioblasts and secretory structures.

INTRODUÇÃO

Numerosas são as famílias de plantas com representantes medicinais, destacando-se, entre elas, a Flacourtiaceae (Absy & Scavone 1973). *Casearia* Jacq. é um dos maiores gêneros da família, com cerca de 180 espécies arbóreas distribuídas pela região neotropical, África, Malásia, Austrália e ilhas do Pacífico (Torres & Yamamoto 1986). Nas regiões tropical e subtropical das Américas encontra-se a maior diversidade do gênero, com aproximadamente 75 espécies. As espécies de *Casearia* têm sido encontradas com frequência em levantamentos florísticos nos biomas brasileiros, podendo ocupar diversos ambientes e apresentando grande variação morfológica dentro de uma mesma espécie (Torres & Yamamoto 1986). Vale ressaltar, ainda, que algumas espécies (por exemplo, *Casearia sylvestris*, *C. obliqua* e *C. decandra*) são muito semelhantes vegetativamente (Torres & Yamamoto 1986). Por terem ampla distribuição, recebem diferentes nomes populares, e no Brasil, diversas espécies são denominadas “guaçatonga” (Pio Corrêa 1984), sendo que a mesma denominação popular somada a semelhança vegetativa entre as espécies ocasiona, muitas vezes, dificuldades na sua identificação. Portanto, estudos anatômicos desse táxon poderiam constituir uma importante ferramenta taxonômica, especialmente em amostras estéreis.

Extensivas investigações têm enfatizado as propriedades terapêuticas das espécies de *Casearia*, especialmente *C. sylvestris* e *C. decandra*, amplamente utilizadas na medicina popular como antisséptico e cicatrizante de doenças da pele (Hoehne 1939); como anestésico (Hoehne *et al.* 1941); agente antitumorígeno (Itokawa *et al.* 1988, Bolzani *et al.* 1999); antiofídico (Borges *et al.* 2001) e contra úlcera (Coimbra 1958, Basile *et al.* 1990). Investigações dos extratos das folhas de *C. arborea* (Beutler *et al.* 2000), *C. lucida* (Prakash *et al.* 2002), *C. sylvestris* (Oberlies *et al.* 2002) e *C. tremula* (Gibbons *et al.* 1996) indicaram que os compostos ativos presentes nos extratos alcoólicos são diterpenos,

chamados de casearinas; entretanto não se conhece o sítio de secreção e/ou armazenamento destes compostos lipídicos.

Nas descrições taxonômicas para o gênero é comum a utilização de termos como pontos translúcidos, pontuações transparentes, traços transparentes ou glândulas nas folhas (Sleumer 1980, Klein & Sleumer 1984, Torres & Yamamoto 1986, Chase *et al.* 2002). A caracterização de tais estruturas é de fundamental importância, pois nem sempre existe uma correspondência da observação morfológica com a estrutural (Lersten & Curtis 1996, Lersten & Beaman 1998).

São citadas propriedades medicinais apenas para duas espécies do gênero, *Casearia decandra* e *C. sylvestris* (Löfgren 1894, Correa & Pena 1931, Siqueira 1981), sendo *C. sylvestris* a única espécie incluída na Farmacopéia Brasileira (Silva 1926) e que apresenta estudos amplos relacionados à folha (Absy & Scavone 1973), a grande maioria deles direcionados para sua natureza fitoquímica (Silva & Bauer 1970, Silva *et al.* 1988). Considerando que tais propriedades fitoquímicas estão relacionadas com as estruturas secretoras presentes nas folhas, uma investigação mais completa e minuciosa faz-se necessária, principalmente para a espécie *C. decandra* que não apresenta relato de estudos na literatura. O estudo da natureza química do material secretado, juntamente com a anatomia dessas estruturas, pode contribuir para a compreensão do exato papel dessas estruturas, bem como a função do produto secretado para a planta. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar anatômica e histoquimicamente as estruturas secretoras presentes nas folhas de *C. decandra*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Folhas de *C. decandra* Jacq. foram coletadas em quatro plantas nativas em um contínuo florestal de 75ha presente no município de Viçosa-MG e de propriedade da

Universidade Federal de Viçosa (UFV), denominada Mata da Biologia. As plantas encontravam-se na localidade conhecida como “trilha do Sauá”. Material testemunha foi herborizado e incorporado ao acervo do Herbário VIC da UFV sob os números 18.684, 18.685, 18.686 e 18.687.

Para análise anatômica em microscopia de luz, amostras da lâmina (nervura mediana, margem, região entre a margem e a nervura mediana) e do pecíolo (região apical, mediana e basal) de folhas totalmente expandidas foram fixadas em FAA₅₀, por 24 horas, sob vácuo e após esse período estocadas em etanol 70% (Johansen 1940). Posteriormente, foram desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha), sendo os cortes paradérmicos, transversais e longitudinais feitos com um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA) utilizando-se navalhas de aço descartáveis. Os cortes foram corados com Azul de Toluidina pH 4,0 por 8 minutos para caracterização estrutural (O’Brien & McCully 1981), com Xilidine Ponceau (XP) para proteínas totais (O’Brien & McCully 1981) e PAS para polissacarídeos neutros (Maia 1979).

Os demais testes histoquímicos foram aplicados em cortes de amostras frescas seccionadas transversal e longitudinalmente utilizando-se um micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil). As principais classes de metabólitos presentes no material foram investigadas usando os testes histoquímicos conforme a Tabela 1, sendo as secções controle realizadas simultaneamente aos testes histoquímicos, utilizando-se procedimento padrão.

Fragmentos de folhas adultas foram submetidos à diafanização, utilizando-se solução de hidróxido de sódio 10% e hipoclorito 20% (Johansen 1940, modificado), e corados com safranina (1% solução alcoólica).

As lâminas foram montadas com resina sintética (Permout) ou gelatina

glicerinada. As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em um microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) equipado com sistema U-Photo.

Tabela 1. Metodologias utilizadas para a detecção das principais classes de metabólitos nos cortes das folhas de *Casearia decandra*.

	Grupo de metabólito	Teste aplicado	Referências
Lipídios	Lipídios Totais	Sudan Vermelho Escarlate	(Pearse 1980)
	Lipídios Ácidos e Neutros	Sulfato Azul do Nilo	(Cain 1947)
	Ácidos Graxos	Acetato de Cobre e Ácido Rubiânico	(Ganter & Jollés 1969)
Terpenóides	Óleos essenciais e Óleo-resinas	Reagente de Nadi	(David & Carde 1964)
	Lactonas Sesquiterpénicas	Ácido Sulfúrico	(Geissmen & Griffin 1971)
Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos Gerais	Dicromato de Potássio	(Gabe 1968)
	Taninos	Vanilina Clorídrica	(Mace & Howell 1974)
	Lignina	Floroglucinol	(Johansen 1940)
Alcalóides		Reagente de Wagner	(Furr & Mahlberg 1981)
Proteínas		Xilidine Ponceau	(O'Brien & McCully 1981)
Polissacarídeos	Polissacarídeos Neutros	PAS	(Maia 1979)
	Amido	Lugol	(Jensen 1962)
	Pectinas	Vermelho de Rutênio	(Johansen 1940)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema secretor de *C. decandra* é composto por ductos e cavidades que estão dispersos pela lâmina foliar e pecíolo (Figs. 1, 5 e 12), bem como por idioblastos presentes nos tecidos vasculares e no parênquima cortical da nervura mediana (Fig. 1). Por vezes os ductos e cavidades não são visíveis à vista desarmada, mas sua presença constante pode ser confirmada através das secções anatômicas.

No presente trabalho verificou-se que em secção transversal da nervura mediana os ductos encontram-se distribuídos irregularmente no parênquima fundamental, localizados tanto voltados para a superfície abaxial quanto adaxial (Fig. 1). O lúmen alongado observado nos cortes longitudinais (Figs. 2 e 3) justifica a caracterização da estrutura secretora como um ducto. De acordo com Fahn (1979), ductos são estruturas constituídas por um epitélio secretor que delimita um espaço intercelular alongado. Esses ductos possuem continuidade na região do pecíolo, com ampla distribuição no parênquima cortical, e algumas vezes ocupando posição subepidérmica (Fig. 12).

No mesofilo e na região próxima à margem existem numerosas cavidades com localização subepidérmica (Fig. 7) ou distribuídas na interface do parênquima paliçádico com o lacunoso (Figs. 4-6). Essas estruturas tiveram o formato do lúmen variando de isodiamétrico (Figs. 5 e 6) à levemente alongado (Figs. 9 e 10) e, portanto, serão aqui denominadas de cavidades propriamente ditas para aquelas de lúmen isodiamétrico e cavidades tubulares para as de lúmen alongado no eixo paralelo à superfície. Essa terminologia está de acordo com o proposto por Lersten & Curtis (1986) quando descreveram os espaços secretores internos de *Eupatorium rugosum* (Asteraceae). Tais autores descreveram para o gênero, além das cavidades secretoras bicelulares, um segundo tipo de cavidade que sempre estava associada aos tecidos vasculares. Pelo fato de tais cavidades permanecerem discretamente alongadas na maturidade, os autores resolveram denominá-las de cavidades tubulares a fim de distingui-las dos ductos, uma vez que são consideravelmente menores que os ductos e obviamente maiores que cavidades propriamente ditas.

Cavidades já foram relatadas, por Metcalfe & Chalk (1950), para a família Flacourtiaceae e para *C. sylvestris* existe relato da ocorrência de ductos nos órgãos reprodutivos e vegetativos (Absy & Scavone 1973). Os resultados aqui encontrados

diferem, pelo menos em parte, daqueles encontrados em *C. sylvestris*, na qual há relato da presença de ductos no floema (Absy & Scavone 1973) e em *C. decandra* os mesmos não foram observados. Cabe ressaltar que ambas são utilizadas na medicina popular e apresentam-se muito semelhantes vegetativamente, portanto a presença desses ductos no floema pode ser utilizada como um marcador taxonômico para a diferenciação das espécies. É importante lembrar também que no estudo de Absy & Scavone (1973) não foram feitos cortes longitudinais nem diafanização da folha, fato que, em parte, explica o fato dos autores denominarem as estruturas secretoras presentes apenas de ductos.

Todos os ductos e cavidades existentes na folha de *C. decandra* possuem, em secção transversal, lúmen isodiamétrico circundado por epitélio unisseriado, não sendo observadas células no interior do lúmen (Figs. 1, 6, 8 e 13). As células epiteliais possuem formato tabular com vacúolo proeminente (Fig. 13), e, por vezes, é possível a visualização do núcleo, que é esférico (Figs. 2, 3 e 8). Essas características citológicas das células epiteliais são comuns para ductos e cavidades presentes em outras famílias, como Asteraceae (Monteiro *et al.* 1995) e Anacardiaceae (Machado & Carmello-Guerreiro 2001).

Os ductos e cavidades são distribuídos irregularmente dentre as aréolas, alguns solitários (Fig. 5), outros lado a lado (Fig. 4), e sua ocorrência é comum próxima à bainha do feixe (Figs. 4, 5, 10 e 11). Alguns autores relataram ocorrência semelhante, ressaltando que os mesmos parecem se originar a partir das células da bainha do feixe (Curtis & Lersten 1986, Lersten & Curtis 1986). A parede interna das células epiteliais tem uma aparência mais delgada quando comparada com as demais (Figs. 6, 8 e 13) e tornam-se invisíveis quando as folhas são submetidas à diafanização (não documentado), como também verificado por Curtis & Lersten (1986), em *Eupatorium rugosum*. Tais autores concluíram que o procedimento dissolve as paredes internas do epitélio dos ductos e

cavidades, e através de microscopia de fluorescência constataram que essas paredes são compostas de calose.

A lâmina foliar, nas amostras frescas, apresenta coloração esverdeada na região do mesofilo (Fig. 14), pela presença de parênquima clorofiliano, e podem-se observar gotas translúcidas de material secretado no lúmen dos reservatórios (Figs. 15 e 16), que são removidas durante o processamento das amostras.

A reação com Sudan Escarlata evidenciou substâncias lipofílicas no lúmen dos ductos e cavidades (Figs. 17 e 18), bem como algumas gotículas no epitélio dos mesmos (Fig. 18). Testes complementares, com Azul do Nilo (Fig. 19), detectaram que tais lipídios são de natureza neutra (típico para óleo e resina). Como apresentaram coloração azul, azul-arroxeadado e roxo quando submetidos ao Reagente de Nadi, conclui-se que o secretado é óleo-resina (Figs. 20, 22 e 23). Em alguns cortes a reação demonstrou presença apenas de óleo (Fig. 21), o que pode ser devido a variações no estágio funcional das células epiteliais das cavidades. Os controles não reagiram com nenhum dos reagentes para compostos lipofílicos.

Embora os testes histoquímicos não possam identificar inequivocamente as principais classes de metabólitos secundários, eles podem ser úteis para um estudo preliminar da localização da secreção nas estruturas secretoras (Ascensão & Pais 1988). Tomando-se todas as precauções necessárias para a interpretação histoquímica dos resultados, podemos assumir que os ductos e cavidades de *C. decandra* contêm óleo-resina cujos componentes principais são terpenóides (óleos essenciais e ácidos resiníferos). Esses resultados são consistentes com o que já foi relatado para outra espécie do gênero, *C. sylvestris*, onde as estruturas secretoras são caracterizadas como glândulas esquizógenas de óleo essencial (Absy & Scavone 1973). No entanto, o único teste histoquímico efetuado pelos autores foi Sudan IV, mas foram realizadas análises químicas de extratos foliares,

que identificaram a presença de óleos. Os óleos essenciais são amplamente citados para *C. sylvestris* como fonte de diterpenóides denominados casearinas, supostamente as responsáveis pelas suas propriedades medicinais (Oberlies *et al.* 2002).

A detecção de secretados exclusivamente no epitélio ou no lúmen, bem como a sua ocorrência em menor proporção nestes sítios, pode ser indicativo de eventos cíclicos de secreção (Sant'Anna-Santos *et al.* 2006). O reaparecimento de compostos lipofílicos após a sua eliminação tem sido relatado (Schwab *et al.* 1969), sugerindo que a liberação de exsudados segue uma seqüência cíclica e complexa. Nair *et al.* (1983) observaram, na ultra-estrutura caulinar de *Anacardium occidentale*, que a ocorrência de um grande número de vesículas no citoplasma das células do epitélio secretor, em alguns ductos, e sua menor ocorrência em outros, seria um indício da existência de fases distintas de secreção.

Testes realizados para detectar compostos fenólicos evidenciaram a presença destas substâncias no mesofilo, especialmente na região do parênquima paliçádico, e em idioblastos presentes na nervura mediana, tanto no floema, xilema, quanto no parênquima cortical, sendo confirmada a natureza tanífera pelo teste com vanilina clorídrica (Fig. 24). Os compostos fenólicos são considerados substâncias de efeito adstringente, sendo que o tanino é conhecido pela sua ação contra herbívoros e patógenos (Koptur 1992). Os fenóis atuam também na proteção das estruturas celulares contra o excesso de radiação ultravioleta e na manutenção da integridade do protoplasto em situações de estresse hídrico (Taiz e Zeiger 2004).

Detectaram-se substâncias lipofílicas e hidrofílicas na folha, evidenciando lipídios e compostos fenólicos, respectivamente. Não foram detectados alcalóides, polissacarídeos e proteínas como constituintes de secretados.

As plantas são fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, podendo inclusive servir como modelos para a síntese de fármacos. Apesar dos avanços

nas pesquisas que indicam novas fontes naturais de produtos biologicamente ativos, apenas 15 a 17% das plantas foram investigadas quanto ao seu potencial farmacológico (Simões *et al.* 2001). Dentre as Flacourtiaceae que apresentam propriedades farmacológicas conhecidas e utilizadas são citadas espécies dos gêneros *Casearia* (Löfgren 1894, Correa & Pena 1931, Siqueira 1981) e *Carpotroche* (Kuhlmann 1928, Spencer *et al.* 1982). São muitas as espécies de *Casearia*, algumas delas vegetativamente muito semelhantes, portanto, a certificação da identidade taxonômica é indispensável para a certificação do produto fitoterápico. Uma ferramenta que vem se mostrando útil no controle de qualidade de fitoterápicos é a avaliação anatômica de fragmentos vegetais. Assim, o estabelecimento de parâmetros anatômicos para distinção de espécies é de suma importância. O potencial farmacológico da família deve ser avaliado, pois são muitas as espécies ainda desconhecidas quanto a essa perspectiva, sendo a caracterização anatômica e histoquímica passos importantes para a identificação destas espécies potencialmente interessantes, além de indicar os sítios de secreção e/ou acúmulo dos produtos biologicamente ativos.

Este trabalho relata a presença concomitante de ductos e cavidades para o gênero *Casearia*. Os resultados confirmam a complexidade do secretado dos ductos e cavidades, além de indicar tecidos fundamentais como sítios de síntese e/ou acúmulo de compostos fenólicos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à técnica Vânia M. M. Valente pelo preparo de parte dos reagentes e secções histológicas, à Walnir G. Ferreira pelo auxílio na coleta dos espécimes, à Roseli B. Torres pela identificação da espécie e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Absy, M.L. & Scavone, O. 1973. Sobre a morfologia e anatomia de *Casearia sylvestris* Swartz. Boletim de Zoologia e Biologia Marinha 30: 641-676.
- Ascensão, L. & Pais, M.S. 1988. Ultrstructure and histochemistry of secretory ducts in *Artemisia campestris* ssp. *maritima* (Compositae). Nordic Journal of Botany 8:283-292.
- Basile, A.C., Sertié, J.A.A., Panizza, S., Oshiro, T.T. & Azzolini, C.A. 1990. Pharmaceutical assay of *Casearia sylvestris* – I: preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. Journal of Ethnopharmacology 30: 185-197.
- Beutler, J.A., McCall, K.L., Herbert, K., Herald, D.L., Pettit, G.R., Johnson, T., Shoemaker, R.H. & Boyd, M.R. 2000. Novel cytotoxic diterpenes from *Casearia arborea*. Journal of Natural Products 63: 657-661.
- Bolzani, V.S., Young, M.C.M., Furlan, M., Cavalheiro, A.J., Araújo, A.R., Silva, D.H. & Lopes, M.N. 1999. Search for antifungal and anticancer compounds from native plant species of Cerrado and Atlantic Forest. Anais da Academia Brasileira de Ciências 71: 181-187.
- Borges, M.H., Soares, A.M., Rodrigues, V.M., Oliveira, F., Fransheschi, A.M., Rucavado, A., Giglio, J.R. & Homsí-Brandeburgo, M.I. 2001. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). Toxicon 39: 1863-1869.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. Quarterly Journal of Microscopical Science 88: 383-392.
- Chase, M.W., Zmarzty, S., Lledó, M.D., Wurdack, K., Swensen, S.M. & Fay, M.F. 2002. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid *rbcL* DNA sequences. Kew Bulletin 57: 141-181.
- Coimbra, R. 1958. Notas de fitoterapia. Laboratório Clínico Silva Araújo, Rio de Janeiro.
- Correa, M.P. & Pena, L.A. 1931. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas 3. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.
- Curtis, J.D. & Lersten, N.L. 1986. Development of bicellular foliar secretory cavities in white snakerrot, *Eupatorium rugosum* (Asteraceae). American Journal of Botany 73: 79-86.
- David, R. & Carde, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Academie des Sciences Paris, Série D 258: 1338-1340.
- Fahn, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.

- Furr, M. & Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* 44: 153–159.
- Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Masson & Cie, Paris.
- Ganter, P. & Jollés, G. 1969. *Histochimie normale et pathologique*. Gauthier – Villars, Paris.
- Geissman, T.A. & Griffin, T.S. 1971. Sesquiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid in structure determination. *Phytochemistry* 10: 2475 –2485.
- Gibbons, S., Gray, A.I. & Waterman, P.G. 1996. Clerodane diterpenes from the bark of *Casearia tremula*. *Phytochemistry* 41: 565-570.
- Hoehne, F.C. 1939. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. Graphicars, São Paulo.
- Hoehne, F.C., Kuhlmann, M. & Handro, O. 1941. *O Jardim Botânico de São Paulo*. Secretaria da Agricultura, São Paulo.
- Itokawa, H., Totsuka, N., Takeya, K., Watanabe, K. & Obata, E. 1988. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* SW. (Flacourtiaceae), structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. *Chemical Pharmacological Bulletin* 36: 1585-1588.
- Jensen, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W. H. Freeman & Co., San Francisco.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Klein, R.M. & Sleumer, H.O. 1984. Flacourtiáceas. *In Flora Ilustrada Catarinense* (R. Reitz, ed.). Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí - Santa Catarina, p.1-96.
- Koptur, S. 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. *In Insect-plant interactions* (E. Bernays, ed.). CRC Press, Boca Raton, p. 82-129.
- Kuhlmann, J.G. 1928. Monographia das espécies brasileiras dos gêneros da tribo Oncobeeae: *Carpotroche*, *Mayna* e *Lindackeria*, (Flacourtiaceae) cujas sementes contêm um óleo análogo ao obtido das sementes da Chaulmoogra. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 21: 389-402.
- Lersten, N.R. & Beaman, J.M. 1998. First report of oil cavities in Scrophulariaceae and reinvestigation of air spaces in leaves of *Leucophyllum frutescens*. *American Journal of Botany* 85: 1646-1649.
- Lersten, N.R. & Curtis, J.D. 1986. Tubular cavities in white snakeroot, *Eupatorium rugosum* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 73: 1016-1021.
- Lersten, N.R. & Curtis, J.D. 1996. Survey of leaf anatomy, especially secretory structures, of tribe Caesalpinieae (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Plant Systematics and Evolution* 200: 21-39.
- Löfgren, A. 1894. *Boletim da comissão geográfica e geológica do estado de São Paulo* 10. São Paulo.

- Mace, M.E. & Howell, C.R. 1974. Histological and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany* 52: 2423-2426.
- Machado, S.R. & Carmello-Guerreiro, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Acta Botânica Brasileira* 15: 189-195.
- Maia, V. 1979. Técnica histológica. Atheneu, São Paulo.
- Metcalf, C.F. & Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Clarendon Press, Oxford.
- Monteiro, W.R., Castro, M.M., Fahn, A. & Caldeira, W. 1995. Observations on the development of the foliar secretory cavities of *Porophyllum lanceolatum* (Asteraceae). *Nordic Journal of Botany* 15: 69-76.
- Nair, G.M., Venkaiah, K. & Shah, J.J. 1983. Ultrastructure of gum-resin ducts in Cashew (*Anacardium occidentale*). *Annals of Botany* 51: 297-305.
- O'Brien, T.P. & McCully, M.E. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. Termarcaphi Pty. Ltda, Melbourne – Austrália.
- Oberlies, N.H., Burgess, J.P., Navarro, H.A., Pinos, R.E., Fairchild, C.R., Peterson, R.W., Soejarto, D.D., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A.D., Wani, M.C. & Wall, M.E. 2002. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. *Journal of Natural Products* 65: 95-99.
- Pearse, A.G.E. 1980. Histochemistry theoretical and applied. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Pio Corrêa, M. 1984. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Instituto de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro.
- Prakash, C.V.S., Hoch, J.M. & Kingston, G.I. 2002. Structure and stereochemistry of new cytotoxic clerodane diterpenoids from the bark of *Casearia lucida* from the Madagascar rainforest. *Journal of Natural Products* 65: 100-107.
- Sant'Anna-Santos, B.F., Thadeo, M., Meira, R.M.S.A., Ascensão, L. 2006. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Revista Árvore* 30: 481-489.
- Schwab, D.W., Simmons, E. & Scala, J. 1969. Fine structure changes during function of the digestive gland of Venus's-flytrap. *American Journal of Botany* 56: 88-100.
- Silva, F.A., Baisch, A.L.M., Oliveira, B., Battastini, A.M., Torres, F., Racoski, G., Silva, E.S., Alam, M.F., Apolinário, J.C.G. & Lapa, A.J. 1988. Estudos farmacológicos preliminares dos extratos da *Casearia sylvestris* Swartz. *Acta Amazônica* 18: 219-229.

- Silva, G.A.A.B. & Bauer, L. 1970. Análise do óleo essencial de *Casearia sylvestris* Sw. Revista Brasileira de Farmácia 6: 327-331.
- Silva, R.A.D. 1926. Farmacopéia dos estados unidos do Brasil. Ed. Nacional, São Paulo.
- Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P. de, Mentz, L.A. & Petrovick, P.R. (org.) 2001. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis.
- Siqueira, J.C. 1981. Utilização popular das plantas do cerrado. Loyola, São Paulo.
- Sleumer, H. 1980. Flacourtiaceae. Monograph number 22. In Flora Neotropica 22. The New York Botanical Garden, Nova York, p.1-499.
- Spencer K.C., Seigler D.S., Fikenscher L.H. & Hegnauer R. 1982. Gynocardin and tetraphyllin-b from *Carpotroche brasiliensis*. Planta Medica 44: 28-29.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In Fisiologia vegetal (L. Taiz, E. Zeiger, eds.). Trad. Santarém, E.R. et al. Artmed, Porto Alegre, p. 309-334.
- Torres, R.B. & Yamamoto, K. 1986. Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacq. (Flacourtiaceae) do estado de São Paulo. Revista Brasileira de Botânica 9: 239-258.





