

Anatomia e histoquímica do caule de espécies conhecidas como quebra-pedra das famílias Euphorbiaceae e Phyllanthaceae

Anatomy and histochemistry of the stem of species known as “quebra-pedra” of the Euphorbiaceae and Phyllanthaceae (families)

Luena de Oliveira da **CONCEIÇÃO**^{1, 4}; Elisa Mitsuko **AOYAMA**¹; Marcos Roberto **FURLAN**² & Cynthia **HERING-RINNERT**³

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo fornecer informações estruturais e histoquímicas sobre o caule de espécies conhecidas popularmente como “quebra-pedra”, encontradas no município de São Mateus (ES). As espécies analisadas foram *Euphorbia prostrata* Aiton., *Euphorbia hyssopifolia* L., *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn e *Phyllanthus tenellus* Roxb. Exemplares foram coletados no campus da Universidade Federal do Espírito Santo e no bairro Sernamby. Para as análises, realizaram-se seções transversais entre o 2.º e 5.º nós, para descrição do crescimento primário, e entre o 9.º e 10.º nós, para crescimento secundário. Efetuaram-se testes para detecção de amido, composição química de cristais, lipídios totais, látex, compostos fenólicos não estruturais e lignina. Quanto às análises anatômicas, apenas *E. prostrata* apresentou tricomas, os quais são do tipo tector. Somente nas espécies de *Phyllanthus* foram observados cristais. As espécies de *Euphorbia* diferenciam-se pela presença de canais laticíferos. Os testes histoquímicos revelaram acúmulo de grãos de amido, deixando evidentes a bainha amilífera de *P. amarus* e compostos fenólicos apenas na epiderme de *E. prostrata*. Os estudos anatômicos e histoquímicos são de grande relevância para o conhecimento e a diferenciação das espécies conhecidas por quebra-pedra, podendo auxiliar na identificação de outras espécies com o mesmo nome popular.

Palavras-chave: *Euphorbia*; identificação; nome popular; planta medicinal; *Phyllanthus*.

Recebido em: 18 jan. 2019

Aceito em: 22 out. 2020

ABSTRACT

This study aimed to provide structural and histochemical information about the stem of species popularly known as “stone breaker”, found in the municipality of São Mateus (ES). The species analyzed were *Euphorbia prostrata* Aiton., *Euphorbia hyssopifolia* L., *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn and *Phyllanthus tenellus* Roxb. Vouchers were collected on the Campus of the Federal University of Espírito Santo and in the Sernamby neighborhood. For the analysis, cross sections were performed between the 2nd and 5th nodes, to describe the primary growth, and between the 9th and 10th nodes, for secondary growth. Tests were carried out to detect starch, chemical composition of crystals, total lipids, latex, non-structural phenolic compounds and lignin. As for anatomical analyzes, only *E. prostrata* presented trichomes, which are of the tector type. Only in the species of *Phyllanthus* crystals were observed. *Euphorbia* species are differentiated by the presence of laticiferous channels. Histochemical tests revealed accumulation of starch grains, showing the amyloiferous sheath of *P. amarus* and phenolic compounds only in the epidermis of *E. prostrata*. Anatomical and histochemical studies are of great relevance for the knowledge and differentiation of the species known as stone breakers, and may assist in the identification of other species with the same popular name.

Keywords: *Euphorbia*; identification; popular name; medicinal plant; *Phyllanthus*.

¹ Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Campus de São Mateus, Rodovia BR-101, km 60, Bairro Litorâneo – CEP 29932-540, São Mateus, ES, Brasil.

² Universidade de Taubaté, Rua Quatro de Março, 432, Centro – CEP 12020-270, Taubaté, SP, Brasil.

³ Universidade da Região de Joinville, Joinville, SC, Brasil.

⁴ Autor para correspondência: luena09@gmail.com.

INTRODUÇÃO

Desde o estabelecimento da humanidade no planeta, os vegetais têm sido utilizados como recurso terapêutico (TOMAZI *et al.*, 2014). Os principais responsáveis pela preservação do conhecimento adquirido relacionado às plantas medicinais são as comunidades tradicionais, as quais o transmitem oralmente ao longo das gerações (SOUZA *et al.*, 2010; VÁSQUEZ *et al.*, 2014). Por outro lado, a utilização dessa categoria de plantas não está restrita às referidas comunidades, mas faz parte dos usos e costumes de boa parcela da população brasileira (ANTONIO *et al.*, 2013).

Souza *et al.* (2010) observam que, de acordo com o senso comum, as plantas medicinais de uso tradicional não oferecem riscos. Para boa parte dos consumidores, seriam remédios eficazes e seguros, naturalmente balanceados, sem os efeitos colaterais comuns aos fármacos sintéticos, e que não necessitam da avaliação exigida para este tipo de produto (LAPA *et al.*, 2004). Entretanto muitos são os casos de intoxicação quando se usam plantas medicinais. Além do emprego inadequado quanto à posologia e à forma de uso, por exemplo, as semelhanças morfológicas entre algumas espécies levam as pessoas ao consumo de uma planta, acreditando ser outra (VERDAM & SILVA, 2010).

Em meio às espécies com semelhanças morfológicas, destacam-se algumas utilizadas para tratar afecções urinárias e conhecidas popularmente como “quebra-pedra”. Entre elas, citam-se *Euphorbia prostrata* Aiton (Euphorbiaceae) (AITA *et al.*, 2009), *E. hyssopifolia* L. (Euphorbiaceae) (SILVA *et al.*, 2013), *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn e *P. tenellus* Roxb. (Phyllanthaceae) (SPRENGER, 2011). As partes aéreas e a raiz dessas espécies são as partes utilizadas e, como são comercializadas fragmentadas, há dificuldade na sua correta identificação (AITA *et al.*, 2009).

De acordo com Nascimento (2008), diferentes estudos *in vitro* e *in vivo* apontam as atividades anti-inflamatória, antimutagênica, anticarcinogênica, hepatoprotetora, antioxidante, diurética, hipotensora, hipoglicemiante, anti-HIV, antimalárica, antibiótica e contraceptiva de *P. amarus*. O mencionado autor afirma que estudos demonstram ações antibacteriana, anti-hepatite, anti-inflamatória e analgésica de *P. tenellus*. Apesar da carência de pesquisas para esta última, ela consta da 5.^a edição da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

Para a espécie *E. hyssopifolia*, foram referidos apenas atributos etnofarmacológicos, tais como as ações anti-inflamatória e analgésica (ALISI & ABANOBI, 2012), além do uso em afecções urinárias. *E. prostrata* igualmente é utilizada para problemas urinários (BARROS *et al.*, 2007; MESSIAS *et al.*, 2015). Para ambas as espécies, fazem-se necessários mais estudos farmacológicos, uma vez que plantas desse gênero produzem látex irritante para a pele e as mucosas, além de causar gastroenterite, diarreia e vômito, quando ingerido (AITA *et al.*, 2009).

Considerando a necessidade da correta identificação botânica para evitar intoxicações e da disponibilização de matéria-prima de qualidade aos usuários de plantas medicinais, o presente trabalho teve como objetivo fornecer informações estruturais e histoquímicas sobre o caule de quatro espécies denominadas quebra-pedra, encontradas no município de São Mateus (ES).

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL E LOCAIS DE COLETA

Exemplares de espécies conhecidas por quebra-pedra foram coletados no *campus* da Universidade Federal do Espírito Santo e no bairro Sernamby, em São Mateus (ES), no período de janeiro de 2014 a março de 2015.

As espécies analisadas foram *Euphorbia prostrata* Aiton., *Euphorbia hyssopifolia* L., *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn e *Phyllanthus tenellus* Roxb.

De cada espécie, coletaram-se de 20 a 30 indivíduos adultos para análises anatômicas e testes histoquímicos. Parte do material botânico coletado foi prensado, desidratado em estufa e depositado no Herbário São Mateus, Espírito Santo (Sames), da Universidade Federal do Espírito Santo (tabela 1). A identificação botânica foi realizada com base nas obras de Lorenzi (2000), Torres *et al.* (2003), Silva & Sales (2004) e Silva (2014).

Tabela 1 – Localidade e *voucher* das espécies denominadas quebra-pedra coletadas em São Mateus (ES).

Localidade	Coordenadas	Espécies	Voucher
Centro Universitário Norte do Espírito Santo	S 18°40.466' W 039°51.774'	<i>Euphorbia prostrata</i>	2072, 1870 SAMES
	S 18°40.506' W 039°51.676'	<i>E. hyssopifolia</i>	2071, 2070 SAMES
Bairro Sernamby	S 18°43.323' W 039°51.163'	<i>Phyllanthus amarus</i>	6645, 4622 SAMES
	S 18°43.245' W 039°51.216'	<i>P. tenellus</i>	6647, 6646 SAMES

ANÁLISE ESTRUTURAL

As amostras coletadas foram fixadas em FAA (formaldeído: ácido acético: álcool etílico 50%, 2:1: 18 v/v), de acordo com Johansen (1940), por 48 horas e conservadas em álcool 70%.

Para o estudo anatômico, efetuaram-se seções transversais entre o 2.º e 5.º nós para descrição do crescimento primário e entre o 9.º e 10.º nós para o crescimento secundário, realizadas à mão livre com auxílio de lâminas de barbear e isopor. O material seccionado foi clarificado em solução de hipoclorito de sódio a 5%, corado com azul de alcian 1% e safranina 1% (LUQUE *et al.*, 1996) e, posteriormente, montado em gelatina glicerizada entre lâmina e lamínula de vidro, tornando as lâminas semipermanentes.

As lâminas foram analisadas ao microscópio óptico Leica DM 750, acoplado à câmera fotográfica Leica ICC50, com projeção de escalas micrométricas, para captura de imagens.

TESTES HISTOQUÍMICOS

Para os testes histoquímicos, seções transversais do caule em desenvolvimento primário e secundário, não clarificadas, foram tratadas com solução de lugol para amido (JOHANSEN, 1940); ácido acético e ácido clorídrico para composição química de cristais (CHAMBERLAIN, 1932, modificado por KRAUS & ARDUIN, 1997); sudan IV em etanol para lipídios totais (PEARSE, 1972); sudan IV em acetona e etanol para látex (MILLER, 1968); solução aquosa de cloreto férrico para compostos fenólicos não estruturais (JOHANSEN, 1940) e solução de floroglucina ácida para compostos fenólicos estruturais (lignina) (JOHANSEN, 1940). Os modos de preparo e os procedimentos de utilização dos reagentes foram realizados com base nas obras de Kraus & Arduin (1997) e Ventrella *et al.* (2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em seção transversal, o caule em desenvolvimento primário apresenta formato circular em *Euphorbia prostrata*, *E. hyssopifolia* e *Phyllanthus amarus* e poligonal em *P. tenellus* (figuras 1A, D, G, J). *E. prostrata* apresentou tricomas tectores unisseriados, corroborando estudo de Devi *et al.* (2013), compostos por 2 a 6 células (figura 1B), que ocorrem na superfície voltada para cima, uma vez que seu caule é prostrado (figura 1A).

A epiderme uniestratificada é seguida por uma camada de colênquima lamelar em *P. amarus* e *P. tenellus*. Esse tecido é particularmente característico de órgãos maduros, podendo crescer em comprimento e, assim, compensar o crescimento em extensão (METCALFE & CHALK, 1979). Em *E. prostrata* e *E. hyssopifolia*, não há colênquima. A primeira camada de células, após a epiderme, em *E. prostrata* apresenta um espessamento da parede maior que as demais, principalmente onde

há tricomas. Mais internamente, ocorrem camadas de clorênquima e parênquima fundamental nas quatro espécies (figuras 1C, F, H, K).

A região cortical, composta por parênquima fotossintetizante (clorênquima), apresenta variação de camadas de células entre as espécies, sendo 4 a 5 camadas em *E. prostrata*, 3 a 4 em *E. hyssopifolia*, 6 a 7 em *P. amarum* e 3 a 4 em *P. tenellus*. Nas espécies de *Phyllanthus*, ocorrem cristais do tipo drusa nessa região do córtex, também descrito por Khatoon *et al.* (2006) para *P. amarum*.

Em *P. amarum* ocorrem cristais do tipo drusa, e *P. tenellus*, além de drusas, apresenta cristais romboédricos e prismáticos, ilustrados, respectivamente, nas figuras 1I e 4G. Segundo Cutler *et al.* (2011), muitas vezes há cristais em células do córtex e da medula, sendo drusas provavelmente o tipo mais comum, mas cristais solitários de vários tamanhos e formatos são de ocorrência difusa.

Os cristais encontrados nas espécies de *Phyllanthus* são de oxalato de cálcio, fato confirmado pela dissolução em ácido clorídrico e reação negativa em ácido acético. Tal dissolução foi observada no caule em desenvolvimento primário (figuras 3I, J) e secundário inicial (figuras 4G, H).

Inclusões de oxalato de cálcio são de grande importância na diagnose de drogas vegetais, pois a forma dos cristais, sua localização e a frequência com que aparecem em certos órgãos constituem elementos de primeira ordem no reconhecimento da identidade dessas drogas (OLIVEIRA & AKISUE, 2009).

Cristais de oxalato de cálcio decorrentes do metabolismo vegetal são armazenados no vacúolo das células, já que as plantas absorvem os nutrientes do solo e, no caso do cálcio, níveis de tolerância no tocante à concentração citoplasmática existem para a manutenção da integridade das organelas e proteínas (SCARDELATO *et al.*, 2013). As inclusões de oxalato de cálcio advêm da combinação do ácido oxálico, resultante do metabolismo, com os íons cálcio absorvidos pelos vegetais (OLIVEIRA & AKISUE, 2009).

Segundo Scardelato *et al.* (2013), espécies como *P. tenellus* e *P. niruri*, utilizadas popularmente no tratamento de cálculos renais e urolitíase e que apresentam grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio, podem acarretar problemas, sobretudo em indivíduos predispostos à formação de cálculos renais.

Entretanto Barros *et al.* (2006) analisaram o efeito do extrato aquoso de *P. niruri* em cálculos pré-formados induzidos pela introdução de oxalato de cálcio na bexiga de ratos. O tratamento iniciou-se em duas etapas: imediatamente e após 30 dias. Os animais foram sacrificados com cerca de 60 dias, e verificou-se que aqueles tratados precocemente tiveram redução significativa no número e na massa dos cálculos e, naqueles tratados tardiamente, os cálculos cresceram, mas com aparência mais suave e homogênea, quando comparados com os cálculos espinhosos dos animais não tratados. Assim, os resultados sugeriram um grande potencial terapêutico da espécie *P. niruri* no tratamento de urolitíase por deposição de oxalato de cálcio.

Em *E. prostrata* e *E. hyssopifolia*, ocorrem canais laticíferos no córtex e entre fibras floemáticas imaturas (figuras 1C, E, F), que se assemelham ao encontrado em *Euphorbia tirucalli*, a qual apresenta diversos laticíferos e idioblastos contendo amido no parênquima fundamental, bem como fibras esclerenquimáticas agrupadas e isoladas na região pericíclica, externamente ao floema, e que, apesar de ser uma planta lenhosa, pertence ao mesmo gênero das espécies pesquisadas.

No presente estudo, apenas as espécies de *Euphorbia* apresentaram canais laticíferos (figura 3E). Essas estruturas dispõem-se na região cortical entre os agrupamentos de fibras, ou dispersos, ocorrendo dessa forma no caule em crescimento primário (figura 3C) e em

secundário inicial (figura 4D), porém as espécies possuíam maior quantidade de látex no caule em desenvolvimento secundário inicial. Siqueira-Jaccoud (1956) também relatou laticíferos em *E. brasiliensis*. Já as espécies de *Phyllanthus* apresentaram reação negativa, uma vez que os representantes de Phyllanthaceae são não laticíferos, uma das características que os diferenciam de Euphorbiaceae.

Laticíferos ocorrem em diversos órgãos de espécies de Anacardiaceae, Apocynaceae, Araceae, Asclepiadaceae, Asteraceae, Butomaceae, Cactaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Liliaceae, Moraceae, Musaceae, Papaveraceae e Urticaceae.

A composição química do látex em Euphorbiaceae é variada: o látex extraído de *Hevea brasiliensis* é a principal fonte de borracha comercial, o de *Euphorbia* spp. tem um elevado teor de resina e o de *Excoecaria agallocha* L. é tóxico, provocando bolhas na pele e irritação para os olhos (METCALFE & CHALK, 1985).

De acordo com Oliveira *et al.* (2007), espécies de Euphorbiaceae relacionaram-se a 22% dos casos de intoxicações por plantas em crianças, registrados na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, e, dentre as espécies tóxicas, destacou-se *E. milii*, cujo látex, em contato com a pele e as mucosas das crianças durante brincadeiras, causa irritações.

Apesar de sua natureza incomum, o conteúdo dos laticíferos tem importância tradicional e contemporânea, como toxinas ou bioprodutos valiosos (HAGEL *et al.*, 2008).

O caule em desenvolvimento primário apresentou amido em células corticais nas quatro espécies e nos canais laticíferos nas espécies de *Euphorbia* (figura 3C), onde, segundo Oliveira (1978), espécies do referido gênero contêm, em seus laticíferos, plastídios que produzem amido, formando grãos de variadas formas (OLIVEIRA, 1978). Classicamente, há grãos de amido sob a forma de osso em *Euphorbia milii* (SOUZA, 2009).

Em *P. amarus*, observou-se o acúmulo de grãos de amido que delimitam a bainha amilífera (figura 3D), camada localizada entre córtex e cilindro vascular que representa a endoderme, a qual, apesar de estar presente durante o desenvolvimento primário, na maioria dos caules é de difícil visualização (SAJO & CASTRO, 2006; CUTLER *et al.*, 2011).

Nos caules em desenvolvimento primário, revelaram-se lipídios totais na cutícula em *E. prostrata* (figura 3A), *E. hyssopifolia* e *P. tenellus*, canais laticíferos nas espécies de *Euphorbia* (figura 3A) e na parede dos elementos de vaso do xilema em *P. tenellus* (figura 3H). Em *P. amarus*, a reação foi negativa.

Reservas lipídicas costumam encontrar-se sob a forma de gotículas dispersas no citoplasma, sendo ceras e cutículas igualmente ricas em compostos lipídicos e seus derivados e, dentre os grupos de compostos detectados histoquimicamente, os lipídios parecem ser os mais sujeitos à formação de artefatos de técnica; o processo de fixação pode ainda alterar a solubilidade dos lipídios, modificando sua reação aos reagentes (FIGUEIREDO *et al.*, 2007).

A diferenciação do câmbio é visível em *E. hyssopifolia*, *P. amarus* e *P. tenellus*, dando origem ao floema e ao xilema secundários, formando feixes colaterais nas quatro espécies (figuras 1F, H). As células do xilema apareceram intercaladas com parênquima interfascicular, exceto em *E. hyssopifolia*, que apresentou xilema contínuo, sem interrupção de células parenquimáticas. Em *P. amarus* e *P. tenellus*, essa região interfascicular é estreita (figuras 1H, K). De acordo com Cutler *et al.* (2011), as plantas podem ter níveis variados de crescimento secundário, apresentando um desenvolvimento inicial alguns centímetros abaixo do ápice das partes aéreas (CUTLER *et al.*, 2011).

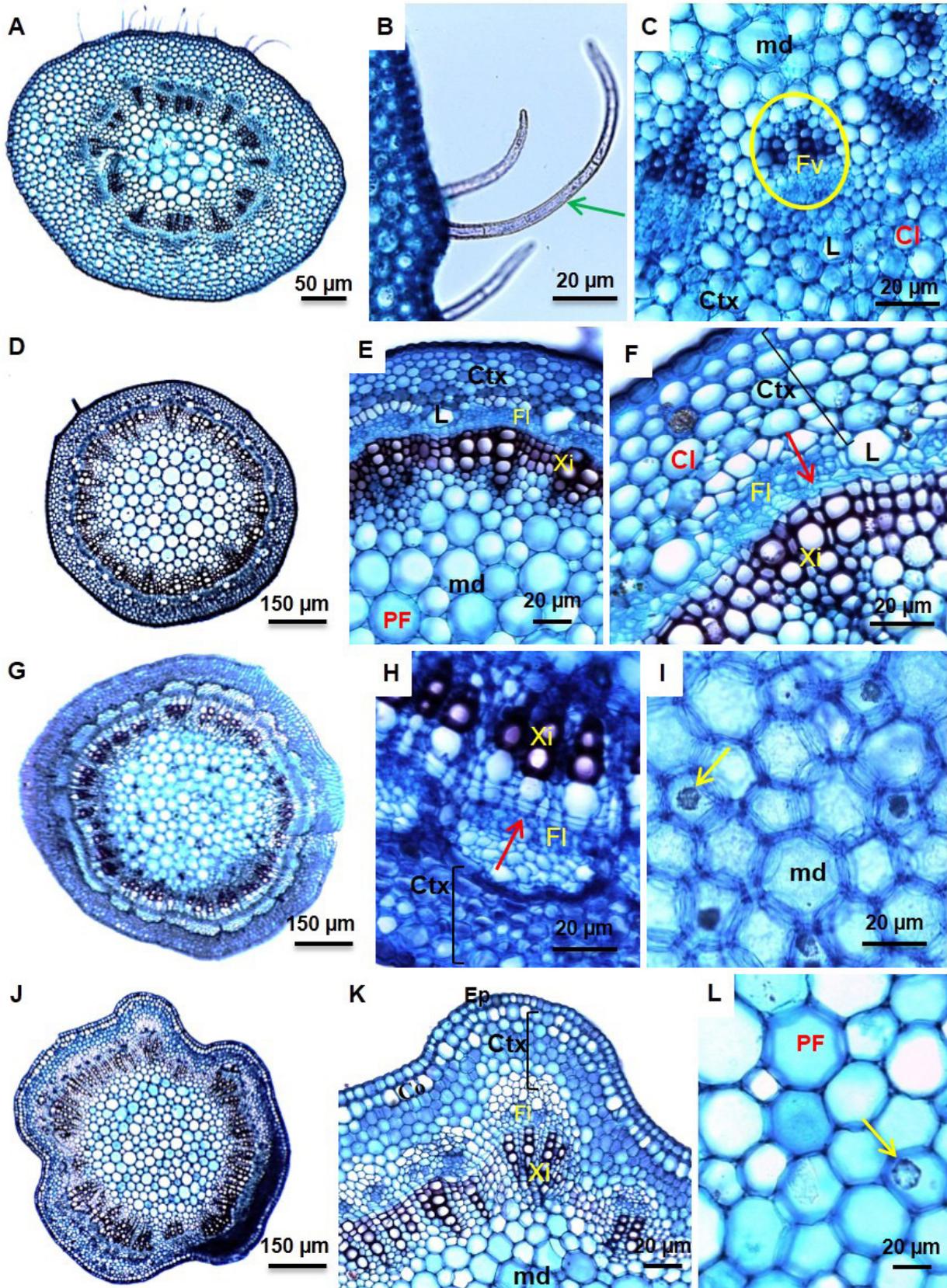


Figura 1 – Seções transversais do caule em desenvolvimento primário das espécies de quebra-pedra. A-C: *Euphorbia prostrata*; D-F: *Euphorbia hyssopifolia*; G-I: *Phyllanthus amarus*; J-L: *Phyllanthus tenellus*. Legenda – Ep: epiderme; Co: colênquima; Ctx: côrtex; Cl: clorênquima; PF: parênquima fundamental; FI: floema; Xi: xilema; L: laticífero; md: medula. Seta verde: tricoma tector; seta vermelha: câmbio; seta amarela: drusas; FV e círculo amarelo: feixe vascular. Fonte: primária.

Em desenvolvimento secundário inicial, os caules apresentaram o mesmo formato do desenvolvimento primário (figuras 2A, D, G, J). Os tricomas tectores presentes em *E. prostrata* são escassos nessa etapa do desenvolvimento, geralmente apresentando de duas a cinco células (figura 2B).

A epiderme permanece uniestratificada nas quatro espécies. Tal característica foi confirmada por Brasil (2010) para *P. tenellus*. Nessa espécie, em caules de maior diâmetro, pode ocorrer periderme, seguida de duas ou mais camadas clorenquimáticas, com grande quantidade de grãos de amido e cristais (BRASIL, 2010).

O caule, em desenvolvimento secundário inicial, apresentou grãos de amido nas células corticais das quatro espécies. No córtex, no parênquima xilemático e nos laticíferos de *E. prostrata*, a reação foi fortemente positiva (figura 4C). Siqueira-Jaccoud (1956) também relatou presença de amido em outra espécie do gênero, *Euphorbia brasiliensis*, sendo o amido detectado no córtex, laticífero e colênquima.

A quantidade de camadas de clorênquima varia (figuras 2C, E, H, I, K, L), principalmente em *P. tenellus*, que tem de duas a três camadas, corroborando a descrição de Brasil (2010), para a qual a espécie apresenta de duas a quatro camadas de clorênquima. Nas demais, a diferença é de uma a duas camadas a menos que no desenvolvimento primário. Segundo Souza (2009), com o avanço do crescimento secundário, as células corticais são comprimidas ou sofrem divisões anticliniais, compensando o aumento em diâmetro do caule.

E. prostrata e *E. hyssopifolia* apresentaram canais laticíferos intercalados com fibras gelatinosas de paredes espessas e lume reduzido, constituindo o floema. Em *P. amarus* e *P. tenellus*, os agrupamentos de fibras gelatinosas imaturas intercalam-se com células parenquimáticas. Tais fibras também foram observadas no lenho de outras espécies de Euphorbiaceae: *Croton pycnocephalus*, *C. dracunculoides*, *Euphorbia cotinifolia*, *E. pulcherrima*, *E. tirucalli* e em Phyllanthaceae, na espécie *Phyllanthus sellowianus* (SIEGLOCH *et al.*, 2013). A presença abundante de fibras gelatinosas no lenho de *Phyllanthus sellowianus* é responsável pela grande flexibilidade do caule (DENARDI, 2007). Segundo Esau (2000), essas fibras caracterizam-se por apresentar uma parede interna pouco lignificada com aparência gelatinosa. Além disso, têm grande capacidade de absorver água (METCALFE & CHALK, 1985; OLIVEIRA & AKISUE, 2009). Em *E. prostrata*, as fibras apresentaram contornos achatados e, em *E. hyssopifolia*, contornos arredondados.

O floema permanece em agrupamentos isolados, e o xilema é contínuo nas quatro espécies, o que indica um desenvolvimento secundário inicial (figuras 2C, F, I, L), levando em consideração que, de acordo com Souza (2009), nas plantas herbáceas, o crescimento secundário é pequeno ou se restringe aos feixes vasculares, enquanto, em outras regiões, os tecidos primários são conservados. Tal fenômeno também sugere uma explicação para a não formação da periderme.

Em *Phyllanthus*, ocorrem cristais dos mesmos tipos encontrados em desenvolvimento primário, porém em quantidade visivelmente menor.

Nos caules em início de desenvolvimento secundário, lipídios totais foram observados na cutícula. Diferentemente do verificado em desenvolvimento primário, a reação foi positiva também em *P. amarus* (figura 4B).

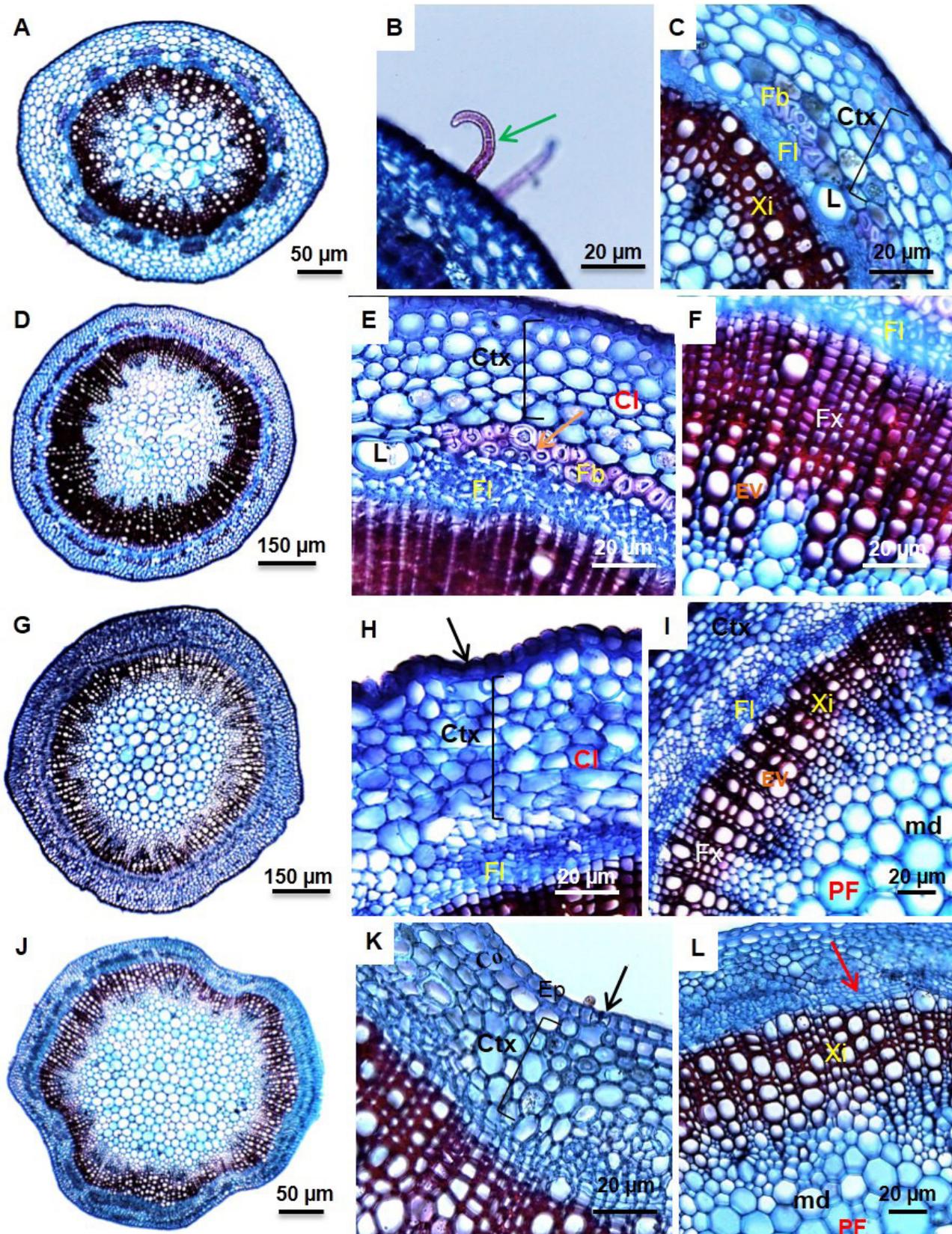


Figura 2 – Seções transversais de caule em desenvolvimento secundário inicial das espécies de quebra-pedra. A-C: *Euphorbia prostrata*; D-F: *E. hyssopifolia*; G-I: *Phyllanthus amarus*; J-L: *Phyllanthus tenellus*. Legenda – Ep: epiderme; Co: colênquima; Ctx: córtex; Cl: clorênquima; PF: parênquima fundamental; Fl: floema; Xi: xilema; Fx: fibra xilemática; EV: elemento de vaso; Fb: fibra; L: laticífero; md: medula. Seta preta: estômato; seta verde: tricoma tector; seta laranja: campos de pontoações; seta vermelha: câmbio. Fonte: primária.

Compostos fenólicos totais foram observados apenas na epiderme de *E. prostrata* (figura 3F), na qual a reação foi fortemente positiva no caule em desenvolvimento secundário (figura 4E). Nas demais espécies a reação foi negativa.

Os compostos fenólicos relacionam-se à síntese de ligninas, comuns a todas as plantas superiores, sendo também atrativos aos seres humanos, em virtude do odor, sabor e coloração, e aos outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Ademais, esse grupo de compostos é importante para proteger as plantas contra raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias (CROTEAU *et al.*, 2000).

O caule em desenvolvimento primário e secundário apresentou reação fortemente positiva para lignina nas células do xilema nas quatro espécies (figuras 3G, H; figura 4F). Observou-se a impregnação dessa substância na camada mais externa das fibras floemáticas imaturas, em *E. prostrata* (figura 4F) e *E. hyssopifolia*.

A lignina é uma substância amorfa, de natureza aromática e complexa, que compõe a parede celular e a lamela média dos vegetais, desempenhando importante papel no transporte de água, nutrientes e metabólitos; é responsável pela resistência mecânica de vegetais, além de proteger os tecidos contra ataques de microrganismos (SALIBA *et al.*, 2001).

Substâncias presentes nas células da epiderme de *E. prostrata* reagiram em floroglucina ácida, provavelmente pelo fato de a lignina ser um composto fenólico estrutural, confirmando a presença desses compostos na epiderme. Segundo Croteau *et al.* (2000), a lignificação em plantas herbáceas não lenhosas difere, em certa medida, da biossíntese de lignina durante a formação da madeira, e plantas não lenhosas contêm ligninas que parecem ser formadas de misturas de ácidos monolignóis e hidroxicinâmicos (fenilpropanoídes), porém há poucos estudos bioquímicos sobre como ocorre a montagem dessas macromoléculas em plantas não lenhosas.

Metabólitos secundários de plantas são compartimentados no tecido em nível subcelular, e essa distribuição e acumulação são reguladas por estímulos ambientais e de desenvolvimento (SANTIAGO *et al.*, 2000).

Produtos secundários aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas, tais como ações antibióticas, antifúngicas e antivirais para proteger as plantas contra patógenos, e também apresentam atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas e fitoalexinas (FUMAGALI *et al.*, 2008).

Os resultados dos testes histoquímicos estão sistematizados nas tabelas 2 e 3.

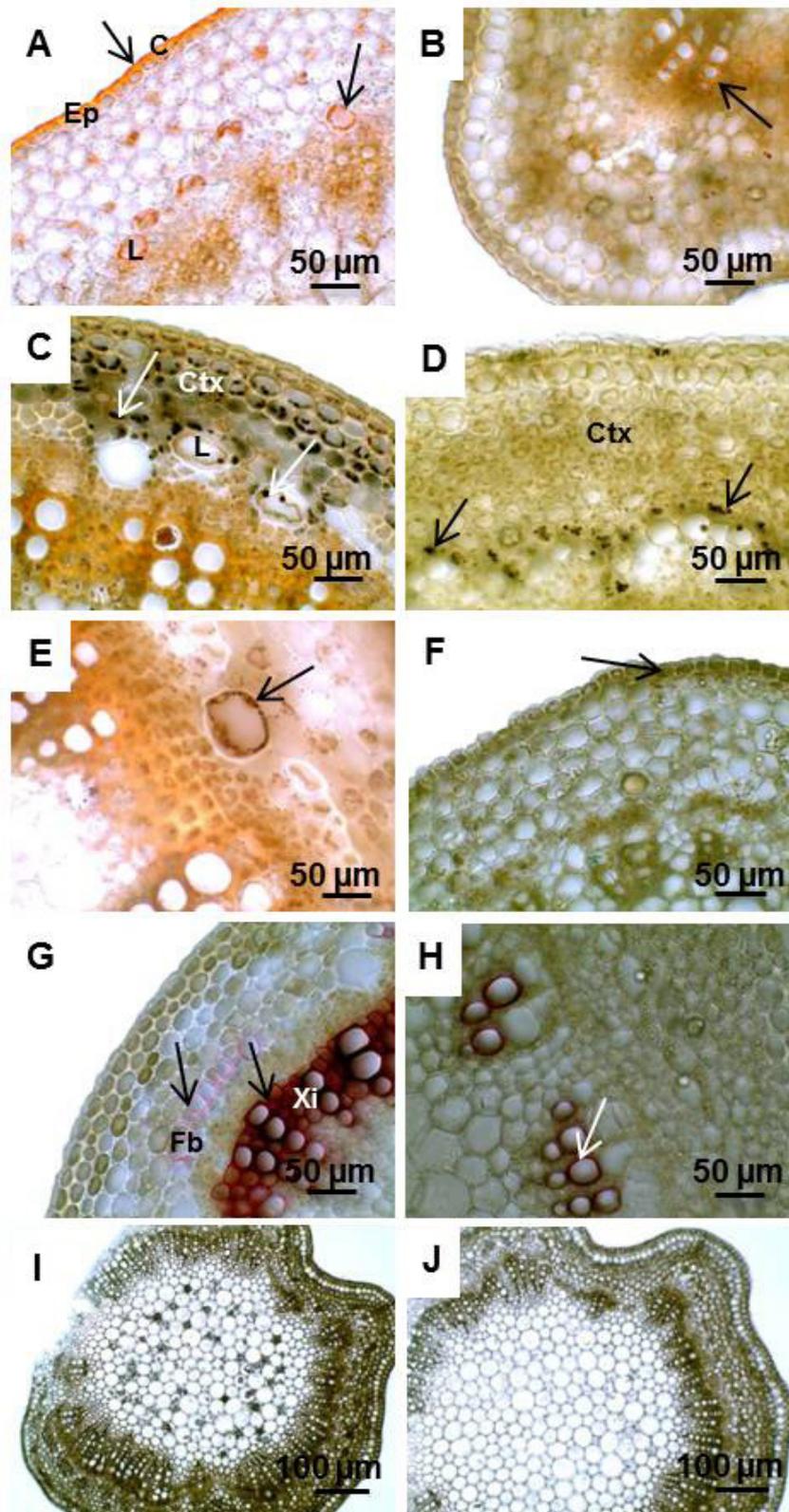


Figura 3 – Seções transversais do caule em desenvolvimento primário das quatro espécies de quebra-pedra submetidas a testes histoquímicos. A: *Euphorbia prostrata* (setas: lipídio na cutícula e no canal laticífero); B: *Phyllanthus amarus* (lignina nos elementos de vaso do xilema); C: *Euphorbia hyssopifolia* (setas: grãos de amido no córtex e canal laticífero); D: *Phyllanthus amarus* (setas: amido no córtex formando bainha amilífera); E: *E. hyssopifolia* (seta: látex no canal laticífero); F: *Euphorbia prostrata* (seta: compostos fenólicos na epiderme); G: *E. hyssopifolia* (setas: lignina nas fibras e nas células xilemáticas); H: *Phyllanthus tenellus* (seta: lignina nos elementos de vaso do xilema); I, J: *Phyllanthus tenellus*; I: controle (cristais na medula); J: cristais dissolvidos em ácido clorídrico. Legenda – C: cutícula; Ep: epiderme; L: laticífero; Ctx: córtex; Xi: xilema; Fb: fibras. Fonte: primária.

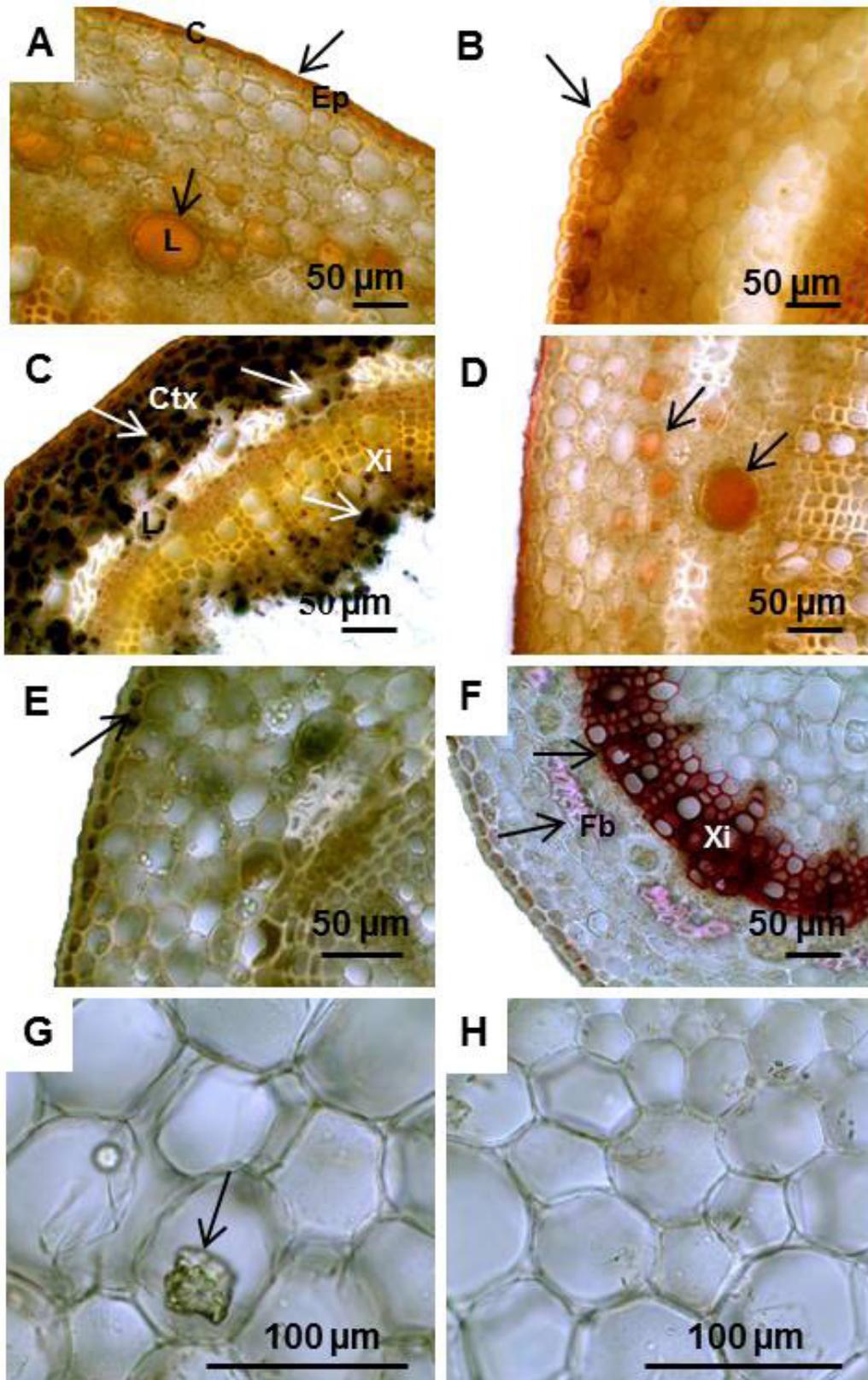


Figura 4 – Seções transversais do caule em desenvolvimento secundário das quatro espécies de quebra-pedra submetidas a testes histoquímicos. A: *Euphorbia prostrata* (setas: lipídio na cutícula e no canal laticífero); B: *Phyllanthus amarus* (seta: lipídio na cutícula); C: *Euphorbia prostrata* (setas: grãos de amido no córtex, canal laticífero e xilema); D: *Euphorbia hyssopifolia* (seta: látex no canal laticífero); E: *Euphorbia prostrata* (seta: compostos fenólicos na epiderme); F: *Euphorbia prostrata* (setas: lignina nas fibras e nas células xilemáticas); G, H: *Phyllanthus tenellus*; G: controle (seta: cristal prismático na medula); H: cristal dissolvido em ácido clorídrico. Legenda – C: cutícula; Ep: epiderme; L: laticífero; Ctx: córtex; Xi: xilema; Fb: fibras. Fonte: primária.

Tabela 2 – Testes histoquímicos do caule em desenvolvimento primário, das quatro espécies de quebra-pedra analisadas.

Parte do vegetal / espécie	Substâncias					Cristais	
	Lipídios totais	Amido	Látex	Compostos fenólicos	Lignina	Oxalato de cálcio	Carbonato de cálcio
Caule (primário)							
<i>Euphorbia prostrata</i>							
Cutícula	++	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	+	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	X	X
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Laticífero	++	++	++	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	-	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	X	X
<i>Euphorbia hyssopifolia</i>							
Cutícula	++	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	-	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	X	X
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Laticífero	++	++	++	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	-	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	X	X
<i>Phyllanthus amarus</i>							
Cutícula	-	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	-	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	++	-
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	-	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	++	-
<i>Phyllanthus tenellus</i>							
Cutícula	-	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	-	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	++	-
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	+	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	++	-

Reação negativa (-); moderadamente positiva (+); fortemente positiva (++); inexistente (x)

Tabela 3 – Testes histoquímicos do caule em crescimento secundário inicial, das quatro espécies de quebra-pedra analisadas.

Parte do vegetal / espécie	Substâncias					Cristais	
	Lipídios totais	Amido	Látex	Compostos fenólicos	Lignina	Oxalato de cálcio	Carbonato de cálcio
Caule (transição secundário)							
<i>E. prostrata</i>							
Cutícula	++	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	+	-	X	X
Córtex	-	++	-	-	-	X	X
Fibras	-	-	-	-	+	X	X
Laticífero	++	++	++	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	-	-	-	-	++	X	X
Medula	-	+	-	-	-	X	X
<i>E. hyssopifolia</i>							
Cutícula	+	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	-	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	X	X
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Laticífero	++	+	++	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	-	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	X	X
<i>P. amarus</i>							
Cutícula	++	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	-	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	++	-
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	+	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	++	-
<i>P. tenellus</i>							
Cutícula	+	-	-	-	-	X	X
Epiderme	-	-	-	-	-	X	X
Córtex	-	+	-	-	-	++	-
Fibras	-	-	-	-	-	X	X
Floema	-	-	-	-	-	X	X
Xilema	++	-	-	-	++	X	X
Medula	-	-	-	-	-	++	-

Reação negativa (-); moderadamente positiva (+); fortemente positiva (++); inexistente (X)

CONCLUSÃO

As análises anatômicas de caule indicaram que apenas *E. prostrata* apresentou tricomas, os quais são do tipo tector e aparecem na superfície voltada para cima. Cristais foram observados exclusivamente nas espécies de *Phyllanthus*, e os canais laticíferos, nas espécies de *Euphorbia*.

Os testes histoquímicos revelaram a bainha amilífera de *P. amarus* por conta do acúmulo de amido encontrado, no entanto nas demais espécies essa região não ficou evidente. Além disso, somente na epiderme de *E. prostrata* foram detectados compostos fenólicos.

Os estudos anatômicos e histoquímicos mostraram-se de grande relevância para o conhecimento e a diferenciação das espécies conhecidas por quebra-pedra, e tais parâmetros podem ser utilizados para contribuir com a identificação de outras espécies com o mesmo nome popular.

REFERÊNCIAS

- Aita, A. M., Matsuura, H. N., Machado, C. A. & Ritter, M. R. Espécies medicinais comercializadas como “quebra-pedras” em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009; 19(2): 471-477. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v19n2a/a22v192a.pdf>.
- Alisi, C. S. & Abanobi, S. E. Antimicrobial properties of *Euphorbia hyssopifolia* and *Euphorbia hirta* against pathogens complicit in wound, typhoid and urinary tract infections. *International Journal of Tropical Disease & Health*. 2012; 2(2): 72-86. Disponível em: http://www.journalrepository.org/media/journals/IJTDH_19/2012/Mar/1333212898-Alisi_Abanobi_2011IJTDH1050.pdf.
- Antonio, G. D., Tesser, C. D. & Moretti-Pires, R. O. Contributions of medicinal plants to care and health promotion in primary healthcare. *Interface*. 2013; 17(46): 615-633. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-32832013000300010.
- Barros, F. M. C., Pereira, K. N., Zanetti, G. D. & Heinzmann, B. M. Plantas de uso medicinal no município de São Luiz Gonzaga, RS, Brasil. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2007; 26(5): 652-662. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7529>.
- Barros, M. E., Lima, R., Mercuri, L. P., Matos, J. R., Schor, N. & Boim, M. A. Effect of extract of *Phyllanthus niruri* on crystal deposition in experimental urolithiasis. *Urologia Research*. 2006; 34(6): 351-357. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16896689>.
- Brasil. Farmacopeia Brasileira. v. 2. Brasília: Anvisa; 2010. 904 p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o++Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc>.
- Chamberlain, C. J. *Methods in plant histology*. 5. ed. Chicago: The University of Chicago Press; 1932. 416 p.
- Croteau, R., Kutchan, T. M. & Lewis, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B., Gruissem, W. & Jones, R. (Eds.). *Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologist; 2000. p. 1250-1318. Disponível em: [https://www.scrip.org/\(S\(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1770695](https://www.scrip.org/(S(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1770695).
- Cutler, D. F., Botha, T. & Stevenson, D. W. *Anatomia vegetal: uma abordagem aplicada*. Porto Alegre: Artmed; 2011. 158 p.
- Denardi, L. *Stem anatomy and flexibility of four wood species to water courses biotechnical management* [Tese de Doutorado em Recursos Florestais e Engenharia Florestal]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2007.
- Devi, N. S., Padma, Y., Narasimhudu, C. L. & Raju, R. R. V. Diversity of stomata and trichomes in *Euphorbia* L. – I. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*. 2013; 20(1): 27-38. Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/BJPT/article/view/15462>.
- Esau, K. *Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body – their structure, function*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2000. 601 p.

- Figueiredo, A. C. S., Barroso, J. M. G., Pedro, L. M. G. & Ascensão, L. Histoquímica e citoquímica em plantas: princípios e protocolos. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal; 2007. Disponível em: <http://cbv.fc.ul.pt/HistoquimicaPPpdf>.
- Fumagali, E., Gonçalves, R. A. C., Machado, M. F. P. S., Vidoti, G. J. & Oliveira, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2008; 18(4): 627-641. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000400022.
- Hagel, J. M., Yeung, E. C. & Facchini, P. J. Got milk? The secret life of laticifers. Trends in Plant Science. 2008; 13(12): 631-639. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18977166>.
- Johansen, D. A. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Company Inc.; 1940. Disponível em: <https://archive.org/details/in.ernet.dli.2015.271824/page/n13>.
- Khatoon, S., Rai, V., Rawat, K. S. A. & Mehrotra, S. Comparative pharmacognostic studies of three *Phyllanthus* species. Journal of Ethnopharmacology. 2006; 104: 79-86. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16236476>.
- Kraus, J. E. & Arduin, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: Edur; 1997. 198 p.
- Lapa, A. J., Soucar, C., Lima-Landman, M. T. R., Godinho, R. O. & Nogueira, T. C. M. L. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A. & Petrovick, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis: UFSC; 2004. p. 247-262.
- Lorenzi, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2000. 339 p.
- Luque, R., Sousa, H. C. & Kraus, J. E. Métodos de coloração de Roeser (1972) modificado e Kropp (1972) visando à substituição do azul de astra pelo azul de alcião 8GS ou 8GX. Acta Botânica Brasileira. 1996; 10(2): 199-212. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-33061996000200001&script=sci_abstract&tling=pt.
- Messias, M. C. T. B., Menegatto, M. F., Prado, A. C. C., Santos, B. R. & Guimarães, M. F. M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana de Ouro Preto, MG, Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicináveis. 2015; 17(1): 76-104. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722015000100076&script=sci_abstract&tling=pt.
- Metcalf, C. R. & Chalk, L. Anatomy of the Dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject. New York: Oxford University Press; 1979. 276 p.
- Metcalf, C. R. & Chalk, L. Anatomy of the Dicotyledons. 2. ed. Wood structure and conclusion of the general introduction. New York: Oxford University Press; 1985. 511 p.
- Miller, L. Microtécnica e fotomicrografia. São Paulo: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"; 1968.
- Nascimento, J. E. Estudo comparativo de três espécies de *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) conhecidas por quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn. e *Phyllanthus tenellus* Roxb.) [Tese de Doutorado]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2008. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/2986/1/arquivo2092_1.pdf.
- Oliveira, F. de & Akisue, G. Fundamentos de farmacobotânica e de morfologia vegetal. 3. ed. São Paulo: Atheneu; 2009. 178 p.
- Oliveira, O. F. Sobre os grãos de amido e outras inclusões do látex de espécies dos gêneros *Euphorbia* e *Pedilanthus*. Caatinga. 1978; 3(2): 18-27. Disponível em: <https://rbmv.org/index.php/caatinga/article/view/2431>.
- Oliveira, R. B. de, Gimenez, V. M. M. & Godoy, S. A. P. Intoxicações com espécies da família Euphorbiaceae. Revista Brasileira de Biociências. 2007; 5(1): 69-71. Disponível em: <http://www.gege.agrarias.ufpr.br/plantastoxicadas/arquivos/euphorbia%20sp.pdf>.
- Pearse, A.G. E. Histochemistry: Theoretical and applied. 3. ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1972. 998 p.
- Sajo, M. G. & Castro, N. M. Células e tecidos secretores. In: Apezatto-Da-Glória, P. & Carmello-Guerreiro, S. M. (Orgs.). Anatomia vegetal. Viçosa: UFV; 2006. p. 283-302.

- Saliba, E. O. S., Rodriguez, N. M., Morais, S. A. L. & Piló-Veloso, D. Ligninas – métodos de obtenção e caracterização química. *Ciência Rural*. 2001; 31(5): 917-928. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782001000500031&script=sci_abstract.
- Santiago, L. J., Louro, R. P. & Oliveira, D. E. de. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia-lyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their induction by copper sulfate. *Annals of Botany*. 2000; 86: 1023-1032. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030573640091271X>.
- Scardelato, J. A., Legramandi, V. H. P. & Sacramento, L. V. S. do. Ocorrência de cristais em plantas medicinais utilizadas no tratamento da nefrolitíase: paradoxo? *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2013; 34(2): 161-168. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/75727/2-s2.0-84879323807.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Siegloch, A. M., Marchiori, J. N. C. & dos Santos, S. R. Estudo comparativo do xilema secundário de três espécies ornamentais de *Euphorbia*. *Floresta*. 2013; 43(4): 643-652. DOI: 10.5380/rev.v43i4.32193
- Silva, A. C. C., Prata, A. P. N. & Mello, A. A. Flowering plants of the Grota do Angico Natural Monument, Caatinga of Sergipe, Brazil. *Check List*. 2013; 9(4): 733-739. Disponível em: <https://biotaxa.org/cl/article/view/9.4.733/11983>.
- Silva, M. J. & Sales, M. F. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae – Euphorbiaceae Juss.) no bioma caatinga do estado de Pernambuco – Brasil. *Rodriguésia*. 2004; 55(84): 101-126. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602004000100101.
- Silva, O. L. M. Estudo taxonômico de *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae) no estado de São Paulo, Brasil [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente; 2014. Disponível em: http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/pgibt/2014/10/Otavio_Luis_Marques_da_Silva_MS.pdf.
- Siqueira-Jaccoud, R. J. Contribuição para o estudo de *Euphorbia brasiliensis* Lam. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1956; 54(1): 103-113. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02761956000100005&script=sci_abstract.
- Souza, L. A. Morfologia e anatomia vegetal: células, tecidos, órgãos e plântula. Ponta Grossa: UEPG; 2009. 259 p.
- Souza, M. J. M., Moral, F. F., Nascimento, G. N. L., Soares, N. P. & Aversi-Ferreira, T. A. Medicinal plants used by Itamaraty community nearby Anápolis, Goiás State, Brazil. *Acta Scientiarum*. 2010; 32(2): 177-184. Disponível em: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciHealthSci/article/view/8155>.
- Sprenger, R. F. Caracterização de quatro espécies de quebra-pedra utilizando cromatografia líquida de alta eficiência hifenada a espectrometria de massa em múltiplos estágios [Dissertação de Mestrado]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/6496>.
- Tomazi, L. B., Aguiar, P. A., Citadini-Zanette, V. & Rossato, A. E. Estudo etnobotânico das árvores medicinais do Parque Ecológico Municipal José Milanese, Criciúma, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2014; 16(2) supl. I: 450-461. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722014000500018&script=sci_abstract&tlng=pt.
- Torres, D. S. C., Cordeiro, I. & Giulietti, A. M. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*. 2003; 17(2): 265-278. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-33062003000200009&script=sci_abstract&tlng=pt.
- Vásquez, S. P. F., Mendonça, M. S. & Noda, M. S. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*. 2014; 44(4): 457-472. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672014000400007.
- Ventrella, M. C., Almeida, A. L., Nery, L. A. & Coelho, V. P. M. Métodos histoquímicos aplicados às sementes. Viçosa: UFV; 2013. Disponível em: <https://www2.cead.ufv.br/serieconhecimento/?edicoes=metodos-histoquimicos-aplicados-as-sementes>.
- Verdam, M. C. S. & da Silva, C. B. O estudo de plantas medicinais e a correta identificação botânica. *Visão Acadêmica*. 2010; 11(1): 7-13. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/21347>.