



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BOTÂNICA
TROPICAL**



MARLEIDE DE SOUSA CHAVES RÊGO

**ANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE *CLUSIA* L. (CLUSIACEAE)
LINDLEY: ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS PARA A RESTINGA DO CRISPIM,
MARAPANIM, PA**

**BELÉM
2012**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BOTÂNICA
TROPICAL**



MARLEIDE DE SOUSA CHAVES RÊGO

**ANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE *CLUSIA* L. (CLUSIACEAE
LINDLEY): ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS PARA A RESTINGA DO CRISPIM,
MARAPANIM, PA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para a obtenção do título de **Mestre**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Andrade de Aguiar-Dias

**BELÉM
2012**

Rêgo, Marleide de Sousa Chaves

Anatomia foliar de duas espécies de *Clusia* L. (Clusiaceae Lindley): estratégias adaptativas para a restinga do Crispim, Marapanim, PA/Rêgo, Marleide de Sousa Chaves. - Belém, 2012.
83f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Área de concentração Botânica Tropical) – Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi. 2012.

1. Anatomia ecológica. 2. Restinga. 3. Compostos fenóticos. 4. Herbivoria. 5. Galhas. I. Título.

CDD – 583.624



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BOTÂNICA
TROPICAL**



MARLEIDE DE SOUSA CHAVES RÉGO

**ANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE *CLUSIA* L. (CLUSIACEAE
LINDLEY): ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS PARA A RESTINGA DO CRISPIM,
MARAPANIM, PA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 27 de abril de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Andrade de Aguiar-Dias - Orientadora
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - UFPA

Dr^a. Fernanda Ilkiu-Borges de Souza - 1º examinadora
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL
EMBRAPA - AMAZÔNIA ORIENTAL

Prof. Dr. Marco Antônio Menezes Neto - 2º examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - UFPA

Dr^a. Alba Lucia F. de Almeida Lins - 3^a examinadora
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI - MPEG

Dr^a. Ely Simone Cajueiro Gurgel - suplente
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI - MPEG

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Nilton e Maria Amélia (in memoriam) por serem responsáveis por mais uma conquista em minha vida. Sem a base que me deram não conseguiria chegar onde estou. Amo vocês!

Muitíssimo obrigada!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e fortalecer nos momentos em que mais precisei;

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) e Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), pela oportunidade, infraestrutura e seu corpo de professores e pesquisadores.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado durante o curso.

Aos coordenadores do curso e da Coordenação de Botânica do MPEG, Dr. João Ubiratan dos Santos e Dra. Anna Luiza Ilkiu-Borges, respectivamente, pela dedicação, carinho e apoio aos estudantes.

Ao corpo docente, pelo incentivo, ensinamentos e lições de vida a mim prestadas;

À saudosa Drª. Raimunda Conceição de Vilhena Potiguara, pela receptividade, princípios, amizade, paciência, confiança, dedicação, contribuições, lições de vida e momentos de descontrações.

À Drª. Ana Cristina de Andrade Aguiar Dias, por ter me aceitado como orientanda, pelo apoio no momento em que mais precisei, incentivo, convívio, amizade, compreensão, paciência e disponibilidade . Muito obrigada por tudo!

À Drª. Cristine Amarante pela contribuição na parte química relacionada à presença de flavonoides, pela disponibilidade, gentileza e por ser bastante acessível sempre que precisei.

À Me. Tatiani Kikuchi pela revisão deste trabalho, por ser uma das principais responsáveis por ter ingressado no "mundo da Anatomia Vegetal", pelos ensinamentos, apoio sempre que precisei, pela confiança, amizade, incentivo, disponibilidade, conselhos e muitas outras contribuições. Muito obrigada!

À Me. Isabel Nery pelas dicas em algumas técnicas usuais em anatomia vegetal, pela concessão de alguns artigos, dicas para a confecção das pranchas, amizade, apoio, cumplicidade, companheirismo e por está sempre disposta a ajudar.

À Me. Carla Feio, pelo auxílio na coloração da primeira lâmina e na captura de algumas fotomicrografias inseridas neste trabalho.

À Tarcymara Garcia pelo auxílio na varredura de amostras ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), pelos cortes à mão livre, por ensinar algumas técnicas usuais em anatomia, pela amizade, apoio, companheirismo, disponibilidade, momentos de descontração,

pelos conselhos e muitas outras contribuições, enfim por tudo que fez por mim. Nunca esquecerei!

Ao Paulo Marcos pela troca de experiência, amizade, companheirismo, pelos cortes à mão livre e por me instruir esta técnica.

À Dra. Alba Lins pelas instruções em alguns equipamentos do laboratório de anatomia vegetal, pelo carinho, confiança, ensinamentos, compreensão, por está sempre disponível a nos ajudarmos, por ser uma pessoa justa e humanitária, e por nos deixar permanecer no laboratório além do horário permitido aos usuários.

Ao Dr. André Mantovani, pesquisador do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e ao Dr. Pablo Cuevas-Reyes, pesquisador da Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México, pelo envio de artigos.

Ao Dr. Volker Bittrich, pesquisador da Universidade Estadual de Campinas, pela confirmação das espécies estudadas como tais, pelas sugestões e envio de referências bibliográficas.

Aos técnicos do MPEG Luís Carlos e Mário Rosa por sempre se mostrarem disponíveis quando por mim solicitados;

Ao ex-técnico do LAVEG (Laboratório de Anatomia Vegetal do Emílio Goeldi), Mário Neto, pelo ótimo convívio, troca de experiências, pelas dicas e acompanhamento de algumas técnicas usais em anatomia vegetal.

À técnica do LAVEG, Roseléa Almeida (Rose) por sua amizade, disponibilidade e sempre atender aos meus pedidos.

Aos funcionários Joe e D. Raimunda, responsáveis pela limpeza do CBO, sempre disponíveis quando por mim solicitados.

As secretárias Lilian Santos e Rosângela Rodrigues, por atenderem aos meus pedidos, por terem sempre uma solução para os problemas, pela amizade e por serem sempre prestativas.

Às amigas da anatomia: Cyntia Dias, Haíury Farias, Jenilce Souza, Joana Filgueira, Sueyla Malcher, Suellen Mata, Thália Gama, pelo o convívio em harmonia, momentos de descontrações e ajuda mútua.

Aos amigos de Mestrado: Ana Maria Fernandes, Carolina Silva, Crhistiane Costa, Eduardo Oliveira, Eline Garcia, Fabiane Silva, Fernando Lacerda, Luana Luz, Luciana Macêdo, Marcelo Serejo, Paulo Marcos Ferreira, Paulo José Sousa, Priscila Prestes, Rosiane Santana, Ronan Furtado, Tarcymara Garcia, Valdenice Moscoso e Wanderson Silva, pela harmoniosa convivência, união, amizade, momentos de descontrações e pelos os abraços que

me confortaram nos momentos em que mais precisei. Sempre serão lembrados com muito carinho!

Aos meus pais, Nilton Mendes Chaves e Maria Amélia de Sousa Chaves (*in memoriam*), por me conduzirem aos caminhos certos, pelo amor, carinho, amizade, educação, companheirismo, paciência, compreensão, incentivo e incontáveis momentos felizes vividos, principalmente quando juntos a minha mãe. Mas, ficam as lições de vida, as boas lembranças e saudades eternas do seu maravilhoso convívio.

Ao meu esposo, Marcelo Machado, pelo inestimável companheirismo, amor, carinho, incentivo, dedicação, disponibilidade, paciência, apoio, pelos conselhos, por ouvir meus lamentos, compreender minhas ausências, aliviar minhas angústias, pelas coletas de fim de semana, enfim por tudo que fez por mim. Certamente, sem você ao meu lado tudo teria sido bem mais difícil!

Aos meus irmãos e agregados: Paulo Chaves Nelsa Alves, Nilton Chaves, Waglene Medeiros, Nildo Chaves, Tânia Oliveira, Marcos Roberto Chaves, Sílvia Ferreira, Marilene Chaves e Hidelmar Araújo pelo companheirismo, amor, amizade, maravilhosa convivência e união, sempre compartilhando os momentos bons e os ruins. Amo vocês!

Aos meus sobrinhos: Victória Kéillyn Rodrigues, Nilton Neto Chaves, Nathan Medeiros, Larisse Chaves, Laíslla Sherydan Oliveira, Ráica Oliveira pelos momentos de alegria e descontração. E aos mais novos integrantes da família: David Vinícius Araújo e Ninna Cibelle Medeiros, que chegaram em um dos momentos mais tristes de nossas vidas, mas trazendo muita alegria, preenchendo um pouco do enorme vazio que está em nossos corações pela ausência da minha mãe.

Ao Prof. Dr. Marco Antônio Menezes Neto (UFPA) pelas contribuições significativas na pré-banca.

Aos membros da banca, Dr^a. Fernanda Ilkiu-Borges de Souza (EMBRAPA) e Dr^a. Alba Lucia F. de Almeida Lins (MPEG) pelas contribuições e disponibilidade.

E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a finalização desta pesquisa.

**ANATOMIA FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE *CLUSIA* L. (CLUSIACEAE
LINDLEY): ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS PARA A RESTINGA DO CRISPIM,
MARAPANIM, PA**

RESUMO

Com frequência é possível encontrar nas plantas características estruturais que enfatizem a estreita relação com o tipo de hábitat em que elas ocorrem. A anatomia ecológica visa compreender a relação dos caracteres morfoanatómicos com os fatores ambientais. Dentre as famílias de Angiospermas presentes nas restingas, destaca-se Clusiaceae, com ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais. O presente trabalho objetivou estudar a anatomia foliar de *Clusia fockeana* Miq. e *C. hoffmannseggiana* Schltdl., relacionando-a com as estratégias adaptativas ao ecossistema da restinga. As amostras do material botânico foram coletadas na restinga do Crispim, município de Marapanim, PA e submetidas às técnicas usuais em Anatomia Vegetal. Foram realizados testes microquímicos para detectar compostos fenólicos totais e taninos de acordo com os protocolos específicos, e quantificação espectrofotométrica dos flavonoides. As espécies apresentaram características comuns às espécies de ambientes xéricos, tais como: folhas coriáceas, hipoestomáticas e com numerosos estômatos, cutícula espessa, células epidérmicas com paredes anticlinais retas, hipoderme, parênquima paliçádico e sistema vascular desenvolvidos. Ambas as espécies possuem ductos e drusas de oxalato de cálcio, com diferenças em distribuição, quantidade e diâmetro dos ductos. As estratégias adaptativas observadas em *C. fockeana* foram: presença de ráfides em grande proporção e produção de taninos, provavelmente repelindo galhadores e herbívoros específicos. Acredita-se que a grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio observados em *C. hoffmannseggiana*, seria para defesa, tentando mitigar a herbivoria. Apartir das observações de campo notou-se que apenas *C. hoffmannseggiana* apresentou galhas. Essas eram globosas e concentravam-se nos ápices das folhas maduras. A presença de taninos em uma espécie e a ausência na outra, evidencia a diferença de estratégias adaptativas contra a herbivoria entre elas. Infere-se que a ausência de taninos em *C. hoffmannseggiana* a deixou mais suscetível a herbivoria e presença de galhas. E que os flavonoides nessa espécie parecem ter atuado como marcadores químicos. Vale ressaltar, que estudos de *Clusia* são importantes para o conhecimento das variações estruturais considerando o papel ecológico destas espécies na colonização e associações com outras espécies.

Palavras-chave: anatomia ecológica, restinga, compostos fenólicos, herbivoria, galhas.

LEAF ANATOMY OF TWO SPECIES OF *CLUSIA* L. (CLUSIACEAE LINDLEY): ADAPTIVE STRATEGIES FOR THE RESTINGA CRISPIM, MARAPANIM, PA

ABSTRACT

Often you can find plants that emphasize structural features closely related to the type of habitat in which they usually occur. The ecological anatomy aims to understand the relationship of morphological and anatomical features with environmental factors. Among the families of Angiosperms present in the salt marshes, stands out Clusiaceae widely distributed in tropical and subtropical regions. This study investigated the leaf anatomy of *Clusia fockeana* Miq. and *C. hoffmannseggiana* Schltdl., relating them to the adaptive strategies to the ecosystem of the sandbanks. The samples of plant material were collected in the restinga Crispim, city of Marapanim, PA and subjected to the usual techniques in Plant Anatomy. Microchemical tests were performed to detect total phenolics and tannins according to specific protocols, and spectrophotometric quantification of flavonoids. The species analyzed showed features common to the species of xeric environments, such as leathery leaves and hypostomatic with numerous stomata, thick cuticle, and epidermal cells with straight anticinal walls, hypodermis, palisade parenchyma and vascular system development. Both species have ducts and druses of calcium oxalate, with differences in distribution, number and diameter of the ducts. The adaptive strategies observed in *C. fockeana* were: presence of raphides in large proportion and production of tannins, probably repelling galling herbivores and specific. It is believed that the large amount of calcium oxalate crystals observed in *C. hoffmannseggiana*, would be for defense, trying to mitigate the herbivore. From field observations it was noted that only *C. hoffmannseggiana* had galls. These were globular and have focused on leaf tips mature. The presence of tannin in an absence in other species and, shows the difference adaptative mechanisms against herbivores between them. It is inferred that tannins in the absence of *C. hoffmannseggiana* made her more susceptible to herbivory and the presence of galls. And that flavonoids in that species seem to have acted as chemical markers. It is noteworthy that studies of *Clusia* are important to the understanding of the structural variations considering the ecological role of these species in the colonization and associations with other species.

Keywords: ecological anatomy, restinga, phenol compounds, herbivore, gall.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1. CONTEXTUALIZAÇÃO	15
1.1 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
1.1.1 Restinga.....	17
1.1.2 A família Clusiaceae	18
1.1.3 O Gênero <i>Clusia</i>	18
1.1.4 Estudos anatômicos em <i>Clusia</i>	20
1.1.5 Propriedades biológicas.....	21
1.1.6 Compostos fenólicos: taninos e flavonoides	21
1. 2 REFERÊNCIAS.....	23
2. Anatomia foliar de duas espécies de <i>Clusia</i> L. (Clusiaceae Lindley): estratégias adaptativas para a restinga do Crispim, Marapanim, PA	33
ABSTRACT.....	34
RESUMO.....	35
2.1 Introdução	36
2.2 Materiais e Métodos.....	38
2.2.1 Área de coleta.....	38
2.2.2 Observações de campo	38
2.2.3 Material botânico.....	38
2.2.4 Métodos	39
2.3 Resultados e Discussão	41
Observações de campo	41
Caracterização anatômica.....	42
Quantificação espectrofotométrica dos flavonoides	54
2.4 Conclusão.....	57

2.5 Perspectivas futuras	58
2.6. Referências.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características estruturais foliares das espécies investigadas.....	75
Tabela 2: Teor de flavonoides totais expressos em rutina, obtido por espectrometria no UV-Visível.....	75

LISTA DE FIGURAS

Figuras 1-4: Vista parcial da restinga do Crispim, Marapanim, PA	76
Figuras 5-12: Superfície da lâmina foliar de <i>Clusia fockeana</i> e <i>C. hoffmannseggiana</i>	77
Figuras 13-20: Mesofilo e margem da lâmina foliar de <i>Clusia fockeana</i> e <i>C. hoffmannseggiana</i> , em secção transversal	78
Figuras 21-24: Nervura central de <i>Clusia fockeana</i> e <i>C. hoffmannseggiana</i> , em secção transversal	79
Figuras 25-31: Pecíolo de <i>Clusia fockeana</i> e <i>C. hoffmannseggiana</i> , em secção transversal	80
Figuras 32-38: Estruturas secretoras de <i>Clusia fockeana</i> e <i>C. hoffmannseggiana</i>	81
Figuras 39-43: Fenóis totais e taninos em <i>Clusia fockeana</i> e fenóis totais em <i>C. hoffmannseggiana</i>	82
Figura 44: Curva analítica construída com padrão Rutina (2,0 a 20,0 µg/mL) a 420 nm.....	83

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Quase toda a extensão da costa brasileira é formada por vegetação de restinga, cerca de 79% (Mantuano, 2005). O termo “restinga” é comumente utilizado para descrever a paisagem costeira formada sobre solos arenosos, assim como a vegetação associada (Silva *et al.*, 2010). A diversidade de habitats faz das restingas um dos mais complexos ecossistemas existentes (Araújo & Lacerda, 1987), devido à grande variação nas condições abióticas, tais como intensidade de radiação luminosa, disponibilidade hídrica, temperatura, tipos de solo (Mantovani & Martins, 1993; Assis, 1999), alta salinidade e deficiência nutricional (Hesp, 1991).

A plasticidade fenotípica em plantas que ocupam diferentes formações vegetacionais é frequentemente acompanhada por variações anatômicas, sendo a folha o órgão vegetativo que apresenta maior variação estrutural em resposta às alterações ambientais (Dickison, 2000). O estudo da anatomia foliar pode fornecer importantes evidências para o conhecimento dos padrões estruturais em diferentes tipos de habitats (Gibson, 1996). Apesar do elevado número de espécies que ocorrem nas restingas, a anatomia foliar de seus representantes é pouco estudada (Morretes & Ferri, 1959; Handro, 1966/1967; Morretes, 1966; Andrade, 1967; Paviani & Ferreira, 1974), dificultando o conhecimento dos padrões estruturais apresentados pelas plantas ao ocupar estes tipos de formação vegetal.

Dentre as famílias de Angiospermas presentes neste bioma destaca-se Clusiaceae Lindley (Bastos *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2010), que está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo (Joly, 1998). No Brasil este táxon possui cerca de 18 gêneros, 201 espécies e 13 subespécies, com domínios fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Bittrich, 2012).

A família apresenta espécies com hábitos bastante variados, podendo ser arbóreas, arbustivas, epífitas, hemiepífitas (algumas *Clusia*), ou ocasionalmente lianas (Gustafsson, 2000; Stevens, 2007) e suas folhas são alternas ou opostas, sem estípulas (Santos-Mendonça *et al.*, 2007). Todas as espécies dessa família são lactescentes e várias cores de látex têm sido relatados por seus coletores (Nogueira *et al.*, 1999).

Em meio as espécies encontradas nas restingas, Clusiaceae possui representantes, que se adaptam muito bem a este ambiente. Principalmente as que constituem o gênero *Clusia* L., pois apresentam uma grande plasticidade de formas de vida e flexibilidade metabólica; esta característica permite uma resposta rápida a mudanças ambientais, que possivelmente contribuiu para que as espécies deste gênero invadissem uma ampla gama de ambientes tropicais (Franco, 1998).

Oliveira *et al.* (2011), em um recente levantamento na restinga do Crispim, relataram *Clusia fockeana* Miq., *C. hoffmannseggiana* Schltdl. e *C. panapanari* (Aubl.) A primeira é conhecida pelo nome popular “cebolinha brava e as outras duas por cebola brava/cebolão” (Fonseca *et al.*, 2005; Carneiro *et al.*, 2010).

Algumas plantas de *Clusia* têm sido usadas na medicina popular como ungüentos e tônicos no combate à hipertensão, dores no corpo, úlceras e feridas (Fernandes, 2007). As flores e frutos de *C. hoffmannseggiana* são usados para combater tosse, também se extrai das flores uma resina aromática, que é usada com banha de cacau para curar rachaduras do bico do peito (Ferreira 2004). Corrêa (1984) citou que o exsudato da casca desta espécie é utilizado na cura das chagas do gado. Já *C. fockeana* é utilizada no tratamento de úlceras e picadas de cobra, em que o exsudato pode ser misturado com uma pitada de sal ou o caule jovem é aplicado como cataplasma sobre a área afetada (Lachman-White *et al.*, 1992).

Além do interesse medicinal, o conhecimento sobre as espécies de *Clusia* é igualmente desejável do ponto de vista ecológico, pois suas espécies ocorrem em praticamente todas as formações vegetais do país, especialmente nas restingas (Araújo & Scarano, 2007), o que faz deste gênero um objeto de pesquisa adequado para estudos anatômicos com ênfase nas adaptações ecológicas.

Enquanto crescem os estudos fitoquímicos, ainda que em um número limitado de espécies, os trabalhos anatômicos sobre *Clusia* são escassos. Assim, as características morfológicas do gênero e os possíveis sítios de produção das substâncias de ação terapêutica são praticamente desconhecidos, o que evidencia a importância de investir esforços para ampliar os conhecimentos anatômicos de suas espécies.

Nas restingas paraenses os trabalhos publicados sobre anatomia são poucos, podendo-se citar: Alvarez *et al.*, (2001), Alvarez & Potiguara (2002) e Alvarez *et al.*, (2006). No entanto, nenhum desses abordam a estrutura de espécies de *Clusia*, tampouco relacionam as espécies estudadas as estratégias adaptativas com relação ao ecossistema de restinga.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estudar a anatomia foliar de *C. fockeana* Miq. e *C. hoffmannseggiana* Schltdl. (Clusiaceae), relacionando-as com as estratégias adaptativas ao ecossistema da restinga do Crispim.

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Restinga

Rizzini (1979) ao descrever as restingas do Brasil, divide o litoral brasileiro nas seguintes formações topográfico-edáfico-botânicas: litoral rochoso, limoso e arenoso; sendo este último subdividido de acordo com aspectos fisiográficos, em praias, antedunas, dunas e depressões coletoras de águas pluviais (alagadiços, brejos e banhados) que são consideradas vegetações especiais.

Do ponto de vista ecológico, a restinga é definida por Silva (1990) como um conjunto de ecossistemas que mantém estreita relação, tanto na sua origem como nos processos nele atuante; possuindo características próprias relacionadas à composição florística e estrutura da vegetação, funcionamento e interação com o sistema solo-atmosfera.

Esta formação geográfica impõe dificuldades ao estabelecimento das plantas (Beduschi & Castellani, 2008). Nas restingas, onde os recursos são escassos e as condições abióticas são estressantes, é comum a ocorrência de interações positivas (facilitação) entre plantas (Araújo & Lacerda, 1987). De acordo com Hesp (1991), para sobreviver neste ambiente, as plantas contam com adaptações, tais como capacidade de armazenamento de água (suculência), resistência à salinidade e mecanismo fotossintético C4 e CAM.

A diversidade de habitats encontrados nas restingas brasileiras faz deste bioma um dos mais complexos ecossistemas existentes, e essa característica que, por um lado, lhes confere especial interesse e valor, é em parte responsável por sua fragilidade e extrema susceptibilidade às perturbações causadas pelo homem. (Araújo & Lacerda, 1987).

Segundo Bastos *et al.*, (2003) as plantas se distribuem na restinga em zonas bem definidas no sentido mar - continente, conforme vários fatores ambientais; essas zonas de vegetação podem ser chamadas de comunidades ou formações vegetais. Na praia do Crispim, os mesmos autores citaram que estas formações, ora apresentam-se como plantas rastejantes na margem da maré, campos brejosos periodicamente inundados, moitas de arbustos intercaladas por campos, formando dunas e formação campo de restinga.

Em um recente levantamento, realizado por Oliveira *et al.*, (2011) na restinga de Crispim, foram observadas *Clusia panapanari* (Aubl.) Choisy, *C. fockeana* e *C. hoffmannseggiana*, cujos dados não corroboraram os de Amaral *et al.*, (2008), onde relataram a presença de *Clusia panapanari*, *C. columnaris* Engler e *C. grandiflora* Splitg. neste mesmo local. Provavelmente, estas espécies foram identificadas incorretamente pelos os últimos

autores; pois devido à grande similaridade entre os taxons em questão, em seu estado vegetativo, é fácil confundi-las.

1.1.2 A família Clusiaceae

Clusiaceae Lindley possui distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (Joly, 1998). No Brasil possui cerca de 18 gêneros, 201 espécies e 13 subespécies, com domínios fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Bittrich, 2012). Cronquist (1981) descreveu que os maiores gêneros da família são: *Hypericum* L. (350 spp.), *Clusia* L. (200 spp.) e *Garcinia* L. (200 spp.); sendo *Clusia* o que apresenta maior diversidade de hábitos, frequentemente encontrado em matas litorâneas (Joly, 1998).

De acordo com a classificação filogenética, Clusiaceae pertence à ordem Malpighiales, e é considerada monofilética com base em sinapomorfias morfológicas e moleculares (Chase *et al.*, 2002, Gustafsson *et al.*, 2002).

Todas as espécies dessa família são lactescentes e a cor deste exsudato varia de totalmente branco a amarelo, alaranjado, avermelhado ou mesmo quase incolor e resinoso (Ribeiro *et al.*, 1999); tais características designaram tradicionalmente a família como Guttiferae, que significa “que leva goma”, uma referência ao látex colorido do grupo (Judd *et al.*, 2009). Estas possuem hábitos bastante variados, podendo ser plantas arbóreas, epífitas, hemiepífitas (algumas *Clusia*), ou ocasionalmente lianas (Gustafsson, 2000).

Nas Clusiaceae, os caracteres vegetativos e florais possuem valor diagnóstico, principalmente em nível genérico e específico e, somados às características de frutos e sementes, são utilizados na delimitação de subfamílias e tribos (Cronquist, 1981; Engler, 1888).

Nos últimos anos, muitas espécies de Clusiaceae tem sido objeto de várias pesquisas, principalmente no âmbito farmacognóstico, devido suas atividades biológicas (Reyes-Chilpa & Huerta-Reyes, 2009) e farmacológicas (Cruz & Teixeira, 2004). Coelho-Ferreira (2008) relatou a importância do látex extraído das espécies de Clusiaceae, ressaltando que estes farmacógenos tem aplicações distintas e imprescindíveis para tratar certas afecções.

1.1.3 O Gênero *Clusia*

Segundo Lüttge (2007a) o nome *Clusia* L. foi proposto por Franciscan Charles Plumier, que viveu entre os anos de 1646 a 1704. Supõem-se que o nome foi em homenagem a Charles de L'Ecluses, latinizado Carolus Clusius, filho de família nobre, foi o maior botânico do seu

tempo (Hunger, 1927). No entanto, não se sabe a fundo a motivação para o nome *Clusia* (Lüttge, 2007a).

A distribuição para o gênero se estende de norte ao sul dos trópicos. O limite norte é Bahamas (*Clusia rosea* Jacq.) e ao sul atinge o estado do Rio Grande do Sul (*Clusia criuva* Cambess.) no Brasil (Gustafsson *et al.*, 2007).

As espécies brasileiras de *Clusia* são mais abundantes na região amazônica (65% das 49 espécies brasileiras pesquisadas) e Mata Atlântica (39%), mas algumas espécies sobrepõem-se nas duas regiões (Araújo & Scarano, 2007).

Muitas vezes espécies de *Clusia* funcionam como “plantas berçário”, onde arbustos e árvores permitem o estabelecimento de uma diversificada vegetação debaixo de suas copas (Lüttge, 2007b), pois se associam positivamente com juvenis de outras e de sua própria espécie, podendo também aumentar a complexidade da vegetação ao longo do tempo (Beduschi & Castellani, 2008). Deste modo, são geralmente espécies pioneiras das vegetações de ilhas, por exemplo; sobre solos arenosos das restingas do litoral Brasileiro. Provavelmente, é a enorme plasticidade e flexibilidade ecofisiológicas de espécies de *Clusia*, que as tornam particularmente adequadas para tal função (Lüttge, 2007b).

No entanto, apesar da plasticidade ecológica e resistência à mudanças e à condições estressantes, garantir a sobrevivência local não implica necessariamente em uma ampla distribuição, isto é o resultado de uma combinação de fatores ecológicos, resistência e alta capacidade de dispersão (Araújo & Scarano, 2007).

O gênero *Clusia* é notável pela enorme variedade na sua morfologia floral, especialmente no androceu, essa variabilidade morfológica é acompanhada por uma grande diversidade na biologia reprodutiva (Bittrich & Amaral, 1997).

A reprodução biológica de *Clusia*, muitas vezes é composta por três características, que individualmente, são relativamente raras entre as angiospermas: dioicia, mimetismo floral e resina como recompensa para os polinizadores (Gustafsson *et al.*, 2007).

A maioria das espécies do gênero secreta grande quantidade de resina, que é um recurso raro para os polinizadores (Armbruster, 1984). Plantas produtoras de resina têm um papel importante na comunidade, por fornecerem matéria prima para a construção de ninhos de várias espécies de abelhas, que, por sua vez, podem estar coletando alimento e desta forma, polinizando outras espécies vegetais que dependem da polinização cruzada (Carmo & Franceschinelli, 2002).

Santos *et al.* (2009) relataram que algumas espécies de *Clusia* também são utilizadas como combustível, onde sua madeira é usada como lenha e também para construção; outras espécies também tem seu uso no setor paisagístico (Ferreira, 2004).

Além disso, plantas de *Clusia* têm sido usadas na medicina popular como ungüentos e tônicos no combate à hipertensão, dores no corpo, ulcera e feridas (Fernandes, 2007).

1.1.4 Estudos anatômicos em *Clusia*

A anatomia vegetal fornece importantes contribuições à elucidação de relações ecológicas, taxonômicas, filogenéticas das plantas vasculares (Judd *et al.*, 1999), fisiológicas, entre outras (Silva & Potiguara, 2008). Sendo mais rápido descobrir a identidade de uma droga bruta (em estado fragmentado) a partir de sua anatomia do que de sua composição química (Cutler *et al.*, 2011).

A maior parte destes estudos, realizados em *Clusia*, foram focados principalmente em órgãos reprodutivos. Estes restringem-se basicamente a anatomia floral (Hochwallner & Weber, 2005) e ontogênese de frutos (Mourão, 2009; Campana *et al.*, 2010). É notório também a escassez de pesquisas sobre os órgãos vegetativos de espécies desse gênero, entretanto cita-se o realizado por Paula (1966) e Boeger *et al.*, (2004). Com relação à anatomia foliar, destacam-se os de Metcalfe & Chalk (1950) e Cronquist (1981), os quais se referem à presença de canais ou cavidades secretoras em espécies da família.

Metcalfe & Chalk (1983) relataram que estudos anatômicos são importantes, especialmente quando associados aos aspectos ecológicos e comparativos, subsidiando trabalhos taxonômicos. Silva & Medeiros (2005) ressaltaram a importância da anatomia ecológica de espécies da floresta ombrófila e da restinga, visando o investimento no estudo da biodiversidade, que é fundamental e urgente para biomas ameaçados, tanto para a viabilização da sua proteção, quanto para a utilização racional e sustentável dos seus recursos.

Ainda neste contexto, ressalta-se o estudo realizado por Fernandes (2007) que estudou 14 espécies de *Clusia* (*C. aemygdioi* A. Gomes da Silva & B. Weinberg, *C. arrudae* Planchon & Triana, *C. burchellii* Engler, *C. criuva* Cambess., *C. fluminensis* Planchon & Triana, *C. gardneri* Planchon & Triana, *C. hilariana* Schlecht., *C. insignis* Martius, *C. intermedia* G. Mariz, *C. lanceolata* Cambess., *C. marizii* A. Gomes da Silva & B. Weinberg, *C. nemorosa* G. Meyer, *C. parviflora* (Saldanha) Engler e *C. spiritu-sanctensis* G. Mariz & B. Weinberg), realizando testes histoquímicos em sete, a autora enfatizou ainda que estes poderiam fornecer elementos de comparação qualitativa, para identificação de compostos que podem ser destinados ao uso comercial e/ou medicinal.

1.1.5 Propriedades biológicas

Quimicamente, as resinas de flores de *Clusia* e *Tovomovita*, consistem basicamente de benzofenonas poliisoprenilada, compostos também encontrados no látex da maioria, se não em todas as Clusiaceae (Oliveira *et al.*, 1996). Essas substâncias apresentam uma grande variedade significativa de atividades biológicas, (Reyes-Chilpa & Huerta-Reyes, 2009) e farmacológicas (Cruz & Teixeira, 2004).

Além disso, o látex contém uma grande variedade de metabólitos secundários em solução e suspensão, sendo também um elemento importante na prevenção da herbivoria (Judd *et al.*, 2009).

Muitas das propriedades terapêuticas das plantas são relatadas pela população, as quais são confirmadas em sua maioria nos estudos científicos (Noldin *et al.*, 2006). Tais propriedades biológicas das plantas da família Clusiaceae têm sido objeto de vários estudos (Lokvam & Braddock ,1999; Scio, 2004; Sobral *et al.*, 2009; Costa Júnior *et al.*, 2011; Camargo *et al.*, 2011).

As atividades biológicas relatadas pelos estudos incluem propriedades antioxidante, antimicrobiana (Lokvam & Braddock, 1999; Pretto *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2011), antibacteriana (Lokvam *et al.*, 2000), moluscicidas (Pinheiro *et al.*, 2003, Gasparotto-Júnior *et al.*, 2005), anti-HIV-1 (Huerta-Reyes *et al.*, 2004), antiulcerogênica e citotóxica (Noldin *et al.*, 2006), antifúngica (Pedraza-Chaverri *et al.*, 2008), anti-inflamatória (Acuña *et al.*, 2009), toxicológica (Reyes-Chilpa *et al.*, 2009), analgésica (Cui, *et al.*, 2010), antiplasmódial (Martí *et al.*, 2010) e anti-inflamatório tópico (Otuki *et al.*, 2011).

1.1.6 Compostos fenólicos: taninos e flavonoides

Os fenólicos formam uma classe de compostos do metabolismo secundário que possui um grupo hidroxila ligado diretamente a um carbono de um anel benzênico (Demarco e Castro, 2008). Segundo os mesmos autores, estes compostos são quimicamente heterogêneos, sendo alguns solúveis somente em solventes orgânicos, e outros em água, como os glicosídios e os ácidos carbônicos, além de haver polímeros insolúveis.

Existe uma grande variedade de fenóis nas plantas e a maioria destes compostos são derivados de fitoquímicos comuns: fenilalanina e tirosina (Angelo & Jorge, 2007; Pereira & Andrade, 2009). Fahn (1979) relatou que compostos fenólicos atuariam no vegetal protegendo contra o dessecamento e a herbivoria. Entre os fenóis que atuam na defesa das plantas, incluem-se taninos e flavonoides (Mithöfer e Boland, 2012.)

De acordo com sua estrutura química, os taninos são classificados em dois grupos: hidrolisáveis e condensados (Monteiro *et al.*, 2005). Os taninos condensados são compostos formados pela polimerização de unidades de flavonoides e são também denominados de proantocianidinas; os taninos hidrolisáveis são polímeros heterogêneos que contêm ácidos fenólicos, em especial ácido gálico e açúcares simples (Taiz & Zeiger, 2006).

Os taninos são eficazes na proteção contra herbivoria por terem um sabor bastante desagradável e serem capazes de desnaturar proteínas (Álvarez *et al.*, 2008). A adstringência dos taninos servem como repelente para predadores e impedimento para invasão de parasitas (Evert & Eichorn, 2006). O mesmo autor referiu que plantas que produzem e secretam grandes quantidades de polifenóis, como taninos, podem excluir outras espécies de plantas vizinhas, por alelopatia.

Os flavonoides constituem a maior classe de fenólicos vegetais (Ferreira *et al.*, 2008). São metabólitos quimicamente diversos que podem ser divididos em subgrupos, incluindo: antocianinas, flavonóis, flavonas, chalconas, flavononas, dihidrochalconas e dihidroflavonóis (Treutter, 2005).

As antocianinas são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho, presentes em flores e frutos (Abe *et al.*, 2007). As flavonas e os flavonóis são protetores químicos, que protegem as células vegetais dos danos causados pela fototoxicidade e esses flavonoides ainda funcionam como sinais atrativos para insetos, como as abelhas (Ferreira *et al.*, 2008).

Os flavonoides têm um importante papel na defesa das plantas (Tavano *et al.*, 2009) e quando estão assim relacionados, estes podem ser divididos em dois grupos: compostos "pré-formados" e "induzidos" (Treutter, 2005). Ainda segundo este autor, os "induzidos" são sintetizados pelas plantas em resposta à lesão física, infecção ou stress; já os "pré-formados" são compostos inatos que são sintetizados durante o desenvolvimento normal do tecido da planta e são muitas vezes armazenados em locais estratégicamente importantes.

1. 2 REFERÊNCIAS

ABE, L.T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p.94-400, 2007.

ACUÑA, U. M.; JANCOVSKI, N.; KENNELLY, E. J. Polyisoprenylated bezophenones from Clusiaceae: potencial drugs and lead compounds. **Current topics in medicinal chemistry**, n.9, p.1560-1580, 2009.

ALVAREZ, A. S.; POTIGUARA, R. C. V.; SANTOS, J. U. M. Arquitetura foliar de *Swartzia brachyraquis* Harms var. *snethlageae* (Ducke) Ducke e *Swartzia laurifolia* Bentham (Leguminosae- Papilionoideae), ocorrentes na restinga de Algodoal/Maiandeua Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**. Série Botânica, v.17, n.1, p.93-106, 2001.

ALVAREZ, A. S.; POTIGUARA, R. C. V. Padrão de venação foliar de espécies do gênero *Myrcia* DC. ex. Guill (Myrtaceae) da restinga de Algodoal, Maiandeua-Pará. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi**. Série Botânica, v.18, n.2, p.205-218, 2002.

ALVAREZ, A. S.; POTIGUARA , R. C.V. ; SANTO, J. U. M. Arquitetura foliar de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae), da restinga de Algodoal, Maiandeua, Pará. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi**. Ciências Naturais, Belém n.1, p.29-36, 2006.

ÁLVAREZ, R.; ENCINA, A.; PÉREZ HIDALGO, N. *Pistacia terebinthus* L. leaflets: an anatomical study. **Plant Systematics and Evolution**, n.272, p.107-118, 2008.

AMARAL, D. D.; PROST, M. T.; BASTOS, M. N. C.; COSTA NETO, S. V.; SANTOS, J. U. M. Restingas do litoral amazônico, estados do Pará e Amapá, Brasil. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi**. Ciências Naturais, Belém v.3, n.1, p.35-67, 2008.

ANDRADE, M. A. B. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas das dunas do litoral do estado de São Paulo. **Boletim da Faculdade de Filosofia**, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica, n.22, p.3-170, 1967.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.232-240, 2007.

ARAÚJO, D.S.D.; LACERDA, L.D. A natureza das restingas. **Ciência Hoje**, v.6, n.33, p.42-48, 1987.

ARAÚJO, D.S.D.; SCARANO, F. R. In: **Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity** (U.Lüttge, ed.). Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, v.194, 2007 p.31-54.

ARMBRUSTER, W.S. The role of resin in Angiosperm pollination: ecological and chemical considerations. **American Journal of Botany**, n.71, p.1149-1160, 1984.

ASSIS, A. M. **Florística e caracterização das comunidades vegetais da planície costeira de Picinguaba, Ubatuba**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1999. 250 p.

BASTOS, M.N.C; COSTA, D.C.T.; SANTOS, J.U.M. **Vegetação de restinga: aspectos botânicos e uso medicinal**. Belém-PA. Museu Paraense Emílio Goeldi, 2003. 23p.

BEDUSCHI, T.; CASTELLANI, T. T. Estrutura populacional de *Clusia criuva* Cambess. (Clusiaceae) e relação espacial com espécies de bromélias no Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. **Revista Biotemas**, v.21, n.2, p.41-50, 2008.

BITTRICH, V.; AMARAL, M C. E. Floral Biology of same *Clusia* species from Central Amazonia. **kew Bulletin**, Richmond, v.52, n.3, p.617-635, 1997.

BITTRICH, V. *Clusiaceae In Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000089>>. Acesso em 13 de fever. 2012.

BOEGER, M.R. T.; ALVES, L. C.; NEGRELLE, R. R. B. Leaf Morphology of 89 Tree Species from a Lowland Tropical Rain Forest (Atlantic Forest) in South Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.6, p.933-943, 2004.

CAMPANA, R. C.; MOURÃO, K .S. M.; MARZINEK, J. Morfoanatomia e ontogênese dos frutos e sementes de *Clusia lanceolata* Cambess. (Clusiaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.32, n.4, p.437-444, 2010.

CARMO, R. M.; FRANCESCHINELLI, E. V. Polinização e biologia floral de *Clusia arrudae* Planchon & Triana (Clusiaceae) na Serra da Calçada, município de Brumadinho, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.3, p.505-513, 2002.

CARNEIRO, D. B.; BARBOZA, M. S. L.; MENEZES, M.P. Plantas nativas úteis na Vila dos Pescadores da Reserva Extrativista Marinha Caeté-Taperaçu, Pará, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v.24, n.4, p.1027-1033, 2010.

CHASE, M. W.; ZMARTY, S.; LLEDÓ, M.D.; WURDACK, K.J.; SWENSEN, S.M.; FAY, M.F. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. **Kew Bulletin**, n.57, p.141-181, 2002.

COELHO-FERREIRA, M. G. Notas etnobotânicas sobre plantas medicinais. In: **A flora da Resex Chocoaré-Mato Grosso (PA): diversidade e usos**. Museu Paraense Emilio Goeldi. Coleção Adolpho Ducke (M.A.G. Jardim & M.G.B. Zoghbi, orgs.) Belém, 2008. p.63-89.

CÔRREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. V. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro, 1984, 687p.

COSTA-JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. M. Evaluation of effects of dichloromethane fraction from *Platonia insignis* on pilocarpine-induced seizures. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.21, n.6, p.1104-1110, 2011.

COSTA-NETO, S. V.; SENA, C.; LOBATO, L .C. B. Fitossociologia das formações herbáceas da restinga do Crispim, Município de Marapanim, PA. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi. Série Botânica**, v.17. n.11, p.161-186, 2001.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University Press, New York, 1981. 1262 p.

CRUZ, F. G.; TEIXEIRA, J. S. R. Polyprenylated Benzophenones with a Tricyclo [4.3.1.^{3,8}] Undecane Skeleton from *Clusia obdeltifolia*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, n.4, p.504-508, 2004.

CUI, J.; HU, W.; CAI, Z.; LIU, Y.; LI, S.; TAO, W.; XIANG, H. New medicinal properties of mangostins: analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 95, p.166-172, 2010.

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W.. **Anatomia vegetal**: uma abordagem aplicada. Tradução: MORAES, M. G. Revisão técnica: SANTOS, R. P. Artmed. Porto alegre. 2011. 304p.

DEMARCO, D.; CASTRO, M. M. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. **Natural product Communications** (online), v.3, n.8, p. 1273-1284, 2008.

DICKSON, W.C. **Integrative plant anatomy**. Harcourt/Academic Press, San Diego. 2000. 532p.

ENGLER, G. Guttiferae. **Flora Brasiliensis**, v.12, n.1, p.381-486, 1888.

EVERT, R. F.; EICHORN, S.E. **Esau's Plant anatomy** : meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development . 3rd ed.Wiley Interscience. Hoboken, New Jersey. 2006. 601p.

FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. Academic Press, London . 1979. 302p.

FERNANDES, S. D. C. **Morfologia, anatomia, histoquímica e aspectos fisiológicos da lâmina foliar de espécies de Clusia (Clusiaceae)**. Universidade de Brasília. Dissertação de mestrado, Brasília, Distrito Federal. 2007. 148p.

FERREIRA, A. M. *Clusia grandiflora* Spligt. (Clusiaceae) e *Ouratea racemiformis* Ule (Ochnaceae): espécies da restinga com potencial para uso no paisagismo. Universidade federal Rural da Amazônia; Museu paraense Emílio Goeldi. Dissertação de mestrado, Belém, Pará. 2004. 101p.

FERREIRA, M. M. M.; OLIVEIRA, A. H. C. de; SANTOS, N. S. dos. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. **Revista Agro@mbiente On-line**, v.2, n.2, p.57-60, 2008.

FONSECA, C.N.; LISBOA, P.L.B.; URBINATI, C.V. A Xiloteca (Coleção Walter A. Egler) do Museu Paraense Emílio Goeldi. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi.** Ciências Naturais, v.1, n.1, p.65-140, 2005.

FRANCO, A. C. C. The genus *Clusia* as an example of studies on plant responses to stress in tropical environments. In: **Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the neotropics** (Scarano, F. R. & Franco, A. C., eds.). Series Oecologia Brasiliensis. UFRJ, Rio de Janeiro, v. IV, 1998 p. 65-85.

GASPAROTTO-JÚNIOR, A.; BRENZAN, M.A.; PILOTO, I.C.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; FILHO, B.P.D.; FILHO, E. R.; FERREIRA, A.G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae). **Química Nova**, v.28, n.4, p.575-578, 2005.

GIBSON, A.C. **Structure-function relations of warm desert plants.** Springer, Berlin. 1996. 215p.

GUSTAFSSON, M.H.G. Floral morphology and relationships of *Clusia gundlachii* with a discussion of floral organ identity and diversity in the genus Clusia. **International Journal of Plant Sciences**, n.161, p.43-53, 2000.

GUSTAFSSON, M. H. G.; BITTRICH, V.; STEVENS, F. Phylogeny of Clusiaceae based on rbcL sequences. **International Journal of Plant Sciences**, n.163, p.1045-1054, 2002.

GUSTAFSSON, M.H.G.; WINTER, K.; BITTRICH, V. Diversity, Phylogeny and Classification of *Clusia*. In: ***Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity*** (U. Lüttge, ed.). Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, v.194, p.95-114, 2007.

HANDRO,W. Escleromorfismo foliar e nutrição mineral de *Gomphrena prostata* (Mart.). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n.38, p.225-242, 1966.

HANDRO,W. Contribuição ao estudo da venação e a anatomia foliar das amarantáceas do cerrado. II Gênero *Pfaffia*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n.39, p.495-506, 1967.

HESP, P. A. Ecological processes and plant adaptations on coastal dunes. **Journal of arid environments**, n.21, p.165-191, 1991.

HOCHWALLNE, H.; WEBER, A. Flower development and anatomy of *Clusia valerioi*, a Central American species of Clusiaceae offering floral resin. **Flora**, n.201, p.407-418, 2006.

HUERTA-REYES, M.; BASUALDO, M. Del C.; LOZADA, L.; JIMENEZ-ESTRADA, M.; SOLER, C.; REYES-CHILPA, R. HIV-1inhibition by extracts of Clusiaceae species from Mexico. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v.27, n.6, p. 916-920, 2004.

HUNGER, F.W.T. Charles de L'Ecluse (Carolus Clusius). Nederlandsch Kruidkundige. Martinus NijHoff, Gravenhage. p.1526–1609, 1927 *Apud Lüttge,U.* In: **Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity**. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. v.194, 2007. 273 p.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 12^a ed., Editora Nacional. São Paulo. 1998, 778p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVES, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**. Sinauer Associates, Massachusetts. 2002. 576 p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVES, P.F.; DONOGHUE, M.J. Tradução: SIMÕES, A. O., SINGER, R.B., SINGER, R.F., CHIES, T.T.S. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3^a ed., Artmed. Porto Alegre. 2009. 632p.

LACERDA, L. D. Análise florística das restingas do estado do Rio de Janeiro. In: **RESTINGAS: origem, estruturas e processos**. Niterói: CEUFF. 1984. p.379.

LACHMAN-WHILE, D.A.; ADAMS, C. D.; TROTZ, U. O. **A guide to the medicinal plants of Coastal Guyana**. Commonwealth Science Council. Technical Publications Series. London. 1992. 350p.

LÜTTGE, U. Background. In: **Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity (Lüttge, U., ed.)**. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, v.194, 2007a. p.3-9.

LÜTTGE, U. Phylogeny, Diversity and Ecology. In: **Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity (Lüttge, U., ed.)**. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, v.194, 2007b. p.13-16.

MANTOVANI, W.; MARTINS, F. R. Florística do cerrado na Reserva Biológica de Moji Guaçu, SP. **Acta Botanica Brasilica**, v.7, p.33-60. 1993.

MANTUANO, D. G. **As plantas da restinga de Jurubatiba, Macaé**, Revista do Núcleo de Pesquisas Ecológicas de Macaé, v. 3, UFRJ. 2005.18p.

MARTI, G.; EPARVIER, V.; MORETTI, C.; PRADO, S.; GRELLIER, P.; HUE, N.; THOISON, O.; DELPECH,B.; GUÉRITTE, F.; LITAUDON, M. Antiplasmodial benzophenone derivatives from the root barks of *Sympmania globulifera* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v.71, p.964-974, 2010.

METCALF, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons - leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Clarendon Press, Oxford. 1950. 1500p.

METCALFE, C.R. Secreted mineral substances, In: **Anatomy of the dicotyledons** (Metcalfe, C.R. & Chalk, L.), Clarendon Press, Oxford, Vol. 1, 1983. p.82-97.

MITHÖFER, A.; BOLAND, W. 2012. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. **Annual Review of Plant Biology**, n.63, p.25.1-25.20, 2012.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química nova**, v.28, n.5, p.892-896, 2005.

MORRETES, B. L. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado II. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, Botânica, n.22, p.291-312, 1966.

MORRETES, B. L.; FERRI, M. G. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo**, Botânica, n.16, p.5-140.1959.

MOURÃO.K.S. M.; MARZINEK, J. Fruit ontogenesis in *Clusia parviflora* (Sald.) Engler (Clusiaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.23, n.3, p.797-804, 2009.

NOGUEIRA, P. C. L.; BITTRICH,V.; SHEPHERD, G. J.; LOPES, A.V.; MARSAIOLI, A. J. The ecological and taxonomic importance of flower volatiles of *Clusia* species (Guttiferae). **Phytochemistry**, n.56, p.443-452, 1999.

NOLDIN, V. F.; ISAIAS, D. F.; FILHO, V. C. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Química Nova**, v.29, n.3, p.549-554, 2006.

OLIVEIRA, T. T.; BONADEU, F.; SANTOS, J. U. M. **As famílias Clusiaceae Lindl. e Hypericaceae Juss. nas restingas do estado do Pará** (dados ainda não publicados). 2011.

OLIVEIRA, C. M. A.; PORTO, A. L. M.; BITTRICH,V.; VENCATO, I.; MARSAIOLI, A. J. Floral resins of *Clusia* spp.: chemical composition and biological function. **Tetrahedron Letters**, n.37, p.6427-6430, 1996.

OTUKI, M. F.; BERNARDI, C.A.; PRUDENTE, A. S.; LASKOSKY, K.; GOMIG, F.; HORINOUCHI, C. D. S.; GUIMARÃES, C. L.; FERREIRA, J.; DELLE-MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V.; CABRINI, D. A. *Garcinia Gardneriana* (Planchon & Triana) Zappi. (Clusiaceae) as a Topical Anti-inflammatory Alternative for Cutaneous Inflammation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, n.109, p.56-62, 2011.

PAULA, J.E. Notas sobre a anatomia de *Clusia grandiflora* Splitg. (Guttiferae). **Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**, Botânica, n.22, p.1-24, 1966.

PAVIANI, T. I.; FERREIRA, M. L. Anatomia foliar de *Plathymenia reticulata* Benth. **Revista Brasileira de Biologia**, n.49, p.37-48, 1974.

PEDRAZA-CHAVERRI; J. CÁRDENAS-RODRÍGUEZ, N.; OROZCO-IBARRA, M.; PÉREZ-ROJAS, J. M. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). **Food and Chemical Toxicology**, n.46, p.3227-3239, 2008.

PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P.B. Phenolics: From Chemistry to Biology. **Molecules**, n.14, p.2202-2211, 2009.

PINHEIRO, L.; CORTEZ, D. A.G.; VIDOTTI, G. J.; YOUNG, M. C. M.; FERREIRA, A. G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). **Química Nova**, v.26, n.2, p.157-160, 2003.

REYES-CHILPA, R.; HUERTA-REYES, M. E. Compuestos naturales de plantas de la familia Clusiaceae: inhibidores del virus de inmunodeficiencia humana tipo1. **Interciencia**, v.34, n.6, p.385-392, 2009.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. **Flora da reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central.** INPA, Manaus. 1999. 793p.

RIBEIRO, P.R.; FERRAZ, C.G.; GUEDES, M.L.S.; MARTINS, D.; CRUZ, F.G. **A new biphenyl and antimicrobial activity of extracts and compounds from *Clusia burlemarxii*.** Fitoterapia. v.82, n.8, p.1237-1240, 2011.

RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil.** Aspectos sociológicos e florísticos. Hucitec/ EDUSP. São Paulo. 1979. 374p.

SANTOS-MENDONÇA, I.V.; LUCENA, M.F.A.; VASCONCELOS, S.F.; ALMEIDA-CORTEZ, J.S. Caracterização e distribuição espacial de galhas em *Clusia nemorosa* G. Mey (Clusiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Igarassu, PE. **Lundiana**, v.8, n.1, p.49-52, 2007.

SANTOS, M. G.; FEVEREIRO P. C. A. F.; REIS G. L.; BARCELOS, J. I. Recursos vegetais da Restinga de Carapebus, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista de Biologia Neotropical**, v.6, n.1, p.35-54, 2009.

SCIO, E. Cumárias encontradas no gênero Kielmeyera - Família Clusiaceae. **Revista Brasileira de Farmácia**, n.85, p.27-31, 2004.

SILVA, S. M. **Composição florística e fitossociológica de um trecho de floresta de restinga na ilha do Mel. Município de Paranaguá, PR.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. 1990. 146 p.

SILVA, L. D. S. A. B.; MEDEIROS, J. D. Anatomia foliar comparativa de *Psidium cattleyanum* Sab. (Myrtaceae). **Insula**, n.34, p.15-38, 2005.

SILVA, R. J. F.; POTIGUARA, R. C.V. Aplicações taxonômicas da anatomia foliar de espécies amazônicas de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.22, n.4, p.999-1014, 2008.

SILVA, R. M.; MEHLIG,U.; SANTOS, J. U. M.; MENEZES, M. P.M. The coastal restinga vegetation of Pará, Brazilian Amazon: a synthesis. **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, n.4, p.563-573, 2010.

SOBRAL, I. S.; SOUZA-NETA, L. C.; COSTA, G. A. N.; GUEDES, M. L. S., MARTINS, D.; CRUZ, F. G. Xantonas, triterpenos e atividade antibacteriana do extrato em diclorometano de *Kielmeyera cuspidata* Saddi, Clusiaceae. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.19, n.3, p.686-689, 2009.

STEVENS, P. F. Clusiaceae (Guttiferae) In: Kubitzki K.(ed.). **The families and genera of vascular plants**. Springer. Verlag Berlin Heidelberg. 2007. p.48-66.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3^a ed. Artmed. Porto Alegre. 2006. 719p.

TREUTTER, D. Significance of Flavonoids in Plant Resistance and Enhancement of Their Biosynthesis. **Plant Biology**, n.7, p.581-591, 2005.

TAVANO, E.C.R.; TAVARES, A.R.; TAKAKI, M.; LIMA, G.P.P. Conteúdos de compostos fenólicos e flavonoides em plantas de camomila (*Matricaria recutita* L. -Asteraceae) cultivadas in vivo e in vitro. **Naturalia**, n.32, p.67-77, 2009.

Artigo a ser submetido à revista Acta Amazonica**2. Anatomia foliar de duas espécies de *Clusia* L. (Clusiaceae Lindley): estratégias adaptativas para a restinga do Crispim, Marapanim, PA**

Marleide de Sousa Chaves RÊGO^{1,3}, Ana Cristina Andrade de AGUIAR-DIAS^{2,3}

1. Parte da dissertação de mestrado de Marleide de Sousa Chaves Rêgo, Programa de

Pós-graduação em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical.

Universidade Federal Rural da Amazônia /Museu Paraense Emílio Goeldi. Endereço:

Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501. Bairro: Montese. 66077-530. Belém-PA.

2. Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências Biológicas. Endereço: Rua

Augusto Corrêa, 01 . Bairro: Guamá. 66075-110. Belém, PA.

3. Autores para correspondência: marleide.chaves@yahoo.com.br;

acaaguiar@yahoo.com.br.

ABSTRACT

Leaf anatomy of two species of *Clusia* L. (Clusiaceae Lindley): adaptive strategies for the restinga of Crispim, Marapanim, PA

The effects of environmental factors on leaf structure have produced a wide variety of adaptations in different taxon. The ecological anatomy aims to understand the relationship of morphological and anatomical characters with environmental factors. This study investigated the leaf anatomy of *Clusia fockeana* Miq. and *C. hoffmannseggiana* Schltdl. (Clusiaceae), relating them to the adaptive strategies to the ecosystem of the sandbanks. The samples were collected in the restinga Crispim, Marapanim, PA and subjected to the usual techniques in plant Anatomy. Microchemical tests were performed to detect total phenolics and tannins according to specific protocols, and spectrophotometric quantification of flavonoids. The species analyzed showed features common to the species of xeric environments, such as: hypostomatic leaves with numerous stomata, thick cuticle, crystals, among others. The adaptive strategies observed in *C. fockeana* were: presence of raphides in large proportion and production of tannins, probably repelling galling herbivores and specific. It is believed that the large amount of calcium oxalate crystals observed in *C. hoffmannseggiana*, a defense would be trying to mitigate the herbivore and galling index. Only this species had galls, concentrating at the apex of the mature leaves. The presence of tannin in an absence in other species and, shows the difference adaptative mechanisms against herbivores between them. And those flavonoids in this species seem to have acted as chemical markers. Studies of *Clusia* are important for the understanding of structural variations considering the ecological role of these species in the colonization and associations with other species.

Keywords: ecological anatomy, restinga, phenolic compounds, herbivore, gall.

RESUMO

Anatomia foliar de duas espécies de *Clusia* L. (Clusiaceae Lindley): estratégias adaptativas para a restinga do Crispim, Marapanim, PA

Os efeitos dos fatores ambientais na estrutura foliar têm produzido uma grande variedade de adaptações em diferentes táxons. A anatomia ecológica visa compreender a relação dos caracteres morfo-anatômicos com os fatores ambientais. O trabalho objetivou estudar a anatomia foliar de *C. fockeana* Miq. e *C. hoffmannseggiana* Schltdl. (Clusiaceae), relacionando-as com as estratégias adaptativas ao ecossistema da restinga. As amostras do material botânico foram coletadas na restinga do Crispim, Marapanim, PA e submetidas às técnicas usuais em anatomia vegetal. Foram realizados testes microquímicos para detectar compostos fenólicos totais e taninos, e quantificação espectrofotométrica dos flavonoides. As espécies possuem características comuns às espécies de ambientes xéricos, como: folhas hipoestomáticas com numerosos estômatos, cutícula espessa, hipoderme, cristais, entre outras. As estratégias adaptativas observadas em *C. fockeana* foram: presença de ráfides em grande proporção e produção de taninos, provavelmente repelindo galhadores e herbívoros específicos. Acredita-se que a grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio observados em *C. hoffmannseggiana*, seria uma defesa tentando mitigar a herbivoria. Apenas esta espécie apresentou galhas, concentrando-se no ápice das folhas maduras. A presença de taninos em uma espécie e a ausência em outra, evidencia a diferença de estratégias adaptativas contra a herbivoria entre elas. Infere-se que a ausência de taninos em *C. hoffmannseggiana* a deixou mais suscetível a herbivoria e a presença de galhas. E que os flavonoides nesta espécie parecem ter atuado como marcadores químicos. Estudos de *Clusia* são importantes para o conhecimento das variações estruturais considerando o papel ecológico destas espécies na colonização e associações com outras espécies.

Palavras-chave: anatomia ecológica, restinga, compostos fenólicos, herbivoria, galhas.

2.1 Introdução

Clusiaceae Lindley possui distribuição pantropical, incluindo cerca de 27 gêneros e 1.000 espécies (Judd *et al.*, 2009). Segundo Cronquist (1981) os maiores gêneros da família são: *Hypericum* L. (350 spp.), *Clusia* L. (200 spp.) e *Garcinia* L. (200 spp.). No Brasil este táxon está representado por aproximadamente 18 gêneros, 201 espécies e 13 subespécies, ocorrendo em quatro domínios fitogeográficos: Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, sendo *Clusia* o maior gênero com 67 espécies e quatro subespécies (Bittrich 2012).

Dentre as famílias presentes na restinga destaca-se Clusiaceae (Bastos *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2010). A diversidade de habitats faz das restingas brasileiras um dos mais complexos ecossistemas existentes (Araújo e Lacerda 1987), devido à grande variação das condições abióticas, tais como intensidade de radiação luminosa, disponibilidade hídrica, temperatura e tipos de solo (Mantovani e Martins 1993; Assis 1999).

As espécies dessa família são de grande importância para o manejo ambiental e reflorestamento de áreas de restinga, e de grande interesse pelas suas variadas características biológicas e reprodutivas (Correia *et al.* 1993).

A maioria dos estudos que investigam a restinga são de cunho florístico ou fitossociológico (Lemos *et al.* 2001; Assis *et al.* 2004a/2004b; Scherer *et al.* 2005; Guedes *et al.* 2006; Klein *et al.* 2007; Leite *et al.* 2007; Pimentel *et al.* 2007; Queiroz 2007; Sacramento *et al.* 2007; Amaral *et al.* 2008; Martins *et al.* 2008a; Silva *et al.* 2010). Quanto aos estudos anatômicos desenvolvidos com espécies deste bioma são escassos (Morretes e Ferri 1959; Paviani e Ferreira 1974), o que dificulta o entendimento das variáveis em que as plantas estão submetidas nas restingas.

Este fato ressalta a importância de realizarem-se pesquisas que foquem na caracterização estrutural das plantas ocorrentes nesta formação vegetacional e em suas estratégias adaptativas. Para as restingas paraenses, os trabalhos anatômicos são restritos aos estudos realizados por Alvarez *et al.* (2001), Alvarez e Potiguara (2002) e Alvarez *et al.* (2006) que abordaram apenas a arquitetura foliar de espécies de Myrtaceae e Leguminosae-Papilioideae.

Metcalfe e Chalk (1983) referiram que estudos anatômicos são importantes, especialmente quando associados aos aspectos ecológicos e comparativos, subsidiando trabalhos taxonômicos. Silva e Medeiros (2005) ressaltaram a importância da anatomia ecológica de espécies da floresta ombrófila e da restinga, visando o investimento no estudo da biodiversidade, que é fundamental e urgente para biomas ameaçados, tanto para a viabilização da sua proteção, quanto para a utilização racional e sustentável dos seus recursos.

Os efeitos dos fatores ambientais na morfologia e anatomia foliar têm produzido uma grande variedade de adaptações em diferentes táxons, e estas variações morfológicas e estruturais resultam em estratégias adaptativas que favorecem a ocupação das espécies em ambientes distintos (Dickison 2000), as quais são possíveis de serem observadas em estudos estruturais (Cutler *et al.* 2011).

Até o momento, os estudos anatômicos com *Clusia* abordaram principalmente a anatomia floral (Hochwallner e Weber 2005) e do fruto (Mourão 2009; Campana *et al.* 2010), sendo notória a escassez de trabalhos anatômicos sobre os órgãos vegetativos do gênero, contudo, destacam-se Metcalfe e Chalk (1950), Paula (1966), Boeger *et al.* (2004) e Fernandes (2007).

Dante disso, o referido trabalho teve como objetivo caracterizar a anatomia foliar de *Clusia fockeana* Miq. e *C. hoffmannseggiana* Schltdl. (Clusiaceae), relacionando-as com as estratégias adaptativas ao ecossistema da restinga.

2.2 Materiais e Métodos

2.2.1 Área de coleta

O material botânico das espécies *Clusia fockeana* Miq. e *Clusia hoffmannseggiana* Schltdl. (Clusiaceae) Lindley, foi coletado na restinga de Crispim (Figura 1) a 8 km da vila de Marudá, situado no litoral nordeste do estado do Pará, município de Marapanim, $47^{\circ} 40' 24''$ e $47^{\circ} 38' 00''$ W. e $0^{\circ} 37' 06''$ e $0^{\circ} 34' 42''$ S (Amaral *et al.* 2001).

2.2.2 Observações de campo

As duas espécies ocorriam próximas uma da outra e apenas *C. hoffmannseggiana* apresentou galhas em suas folhas. As análises das galhas foram realizadas com n amostral de sete indivíduos, selecionando-se aleatoriamente dez folhas de cada indivíduo. Os parâmetros observados foram: a ocorrência em diferentes fases da folha (jovem e madura), face de localização no limbo (abaxial e adaxial), região de localização (ápice, intermediária e base), número de galhas por folha e sítio de oviposição.

2.2.3 Material botânico

Foram coletadas amostras de *Clusia fockeana* Miq. e *C. hoffmannseggiana* Schltdl. (Figura 2-4). Parte do material botânico foi destinado à confecção de exsicatas e incorporado como testemunho ao Herbário MG, com número de registro (*Clusia*

fockeana MG: 201973 e *C. hoffmannseggiana* MG: 201972). Exsicatas das espécies em estudo, assim como fotos foram identificadas pelo especialista da família Dr. Volker Bittrich- Unicamp.

2.2.4 Métodos

Para o estudo anatômico foram selecionadas folhas totalmente expandidas a partir do 4º nó caulinar das duas espécies e fixadas em formol, ácido acético e álcool 70% - FAA₇₀, por 24 horas (Johansen 1940), formalina neutra tamponada - FNT (Lillie 1965) e sulfato ferroso em formalina - SFF, por 48 horas (Johansen 1940) para preservação de substâncias hidrofílicas, lipofílicas e fenólicas, respectivamente. Foram estudados o terço mediano do pecíolo e lâmina foliar, selecionando-se amostras das regiões marginal, intermediária e nervura central.

Para a dissociação epidérmica, as amostras foram submetidas à solução de peróxido de hidrogênio e ácido acético (Franklin 1945, modificado). As epidermes foram coradas com fucsina básica (Braga 1977, modificado) e montadas entre lâminas e lamínulas em glicerina aquosa a 50% (Purvis *et al.* 1964).

Parte do material foi desidratada em série de álcool butílico terciário (Johansen 1940), incluída em parafina e seccionada transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo *Leica® RM 2245*. As secções seriadas, com 14-16µm de espessura, foram coradas com safranina e azul de astra (Gerlach 1969) e montadas em resina sintética Permount®.

Para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o material fixado em FAA₇₀, foi desidratado em série etílica, seco em ponto crítico de CO₂ e metalizado com ouro (Bozzola e Russel 1991). As análises, mensurações e capturas das imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Leo, modelo 1450 VP, do

Laboratório Institucional de Microscopia Eletrônica de Varredura do MPEG. Foi realizado também, teste de espectrometria por dispersão de energia – EDS, para detectar a natureza química dos cristais observados nas duas espécies.

Os testes microquímicos foram aplicados em secções realizadas à mão, utilizando cloreto férrico 10% para detecção de compostos fenólicos totais (Johansen 1940) e vanilina clorídrica para taninos (Mace e Howell 1974).

As fotomicrografias foram obtidas através de microscópio *Axiolab Zeiss*, nas diversas objetivas, com câmera digital *Canon Powershot A640* acoplada e as escalas projetadas nas mesmas condições ópticas.

A quantificação espectrofotométrica dos flavonoides em *C. hoffmannseggiana* (folhas sadias e folhas com galhas) e *C. fockeana* foi realizada de acordo com Rio (1996) modificado por Santos e Blatt (1998). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico: como padrão para flavonoides foi empregada rutina 99,5% , o solvente utilizado foi etanol absoluto p.a. e, cloreto de alumínio como reagente. A determinação foi realizada em amostras de matéria seca de folhas das espécies.

O extrato foi preparado com 2,0 g de amostra de folhas secas e pulverizadas, em Erlenmeyer de 250 mL, no qual foram adicionados 150 mL de etanol e extraído à temperatura ambiente (25 °C) por 72 horas. O extrato foi filtrado com papel de filtro e chumaço de algodão para balão volumétrico de 250 mL e aferido o volume com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 5 mL deste extrato para um balão volumétrico e acrescentou-se 1 mL de solução de cloreto de alumínio 5%, completando-se o volume final de 50 mL com o etanol absoluto. Este procedimento foi realizado em triplicata. Após 30 min, as leituras foram realizadas a 420 nm em cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico em espectrofotômetro Spectro Vision UV-Visível DB 1880S.

Para a construção da curva analítica foram preparadas soluções etanólicas com concentrações crescentes de rutina. A solução padrão de rutina foi preparada com etanol absoluto numa concentração de 100 µg/mL. Alíquotas de 1,0 mL (2,0 µg/mL) a 10,0 mL (20 µg/mL), com intervalos de 0,5 mL foram utilizadas para a confecção da curva padrão, acrescidas de 1 mL de cloreto de alumínio e completadas para 50 mL com etanol absoluto.

A partir da equação da reta obtida através da curva analítica, foi calculado o teor de flavonoides dos extratos obtidos a partir das folhas de *C. hoffmannseggiana* (folhas sadias e folhas com galhas) e *C. fockeana*, para obter o valor em µg de flavonoides/mL de solução extrativa, expressos em rutina. Posteriormente foi feito o cálculo de conversão para expressão dos resultados em mg de flavonoides/g de amostra seca.

2.3 Resultados e Discussão

Observações de campo

Nas espécies estudadas foi observado látex, o qual apresentou coloração creme em *Clusia fockeana* e amarelo-esverdeada em *C. hoffmannseggiana*, corroborando os dados de Nogueira *et al.* (1999), os quais relataram que espécies de Clusiaceae são lactescentes, e várias cores de látex foram relatados por seus coletores.

Em ambas as espécies as folhas são simples e coriáceas, *C. fockeana* apresentou folhas elípticas (Figura 2) e *C. hoffmannseggiana* folhas obovadas, ressalta-se que nesta última espécie foi observada galhas em suas folhas (Figura 3 e 4). As folhas de *C. hoffmannseggiana* apresentavam galhas de formato globoso, parecendo atravessar o limbo foliar adaxial até a abaxial, sendo mais proeminente na última face. Em avaliação visual notou-se que as galhas ocorriam preferencialmente nas folhas maduras,

concentrando-se na região apical das folhas. Observou-se o número de galhas por folha que variou de 2 - 43.

Segundo Monteiro *et al.* (2004) espécies de *Clusia* são frequentemente atacadas por indutores de galhas, entre elas estão: *C. nemorosa* (Santos-Mendonça *et al.* 2007); *C. criuva* (Maia *et al.* 2008); *C. hilariana* (Bregonci *et al.* 2010); *C. arrudae* (Fernandes *et al.* 2010). Almada e Fernandes (2011) relataram que ambientes xéricos abrigam uma elevada riqueza de galhadores quando comparados a ambientes mésicos.

Santos-Mendonça *et al.* (2007) estudaram galhas em *C. numerosa* e 98% destas foram registradas em folhas maduras. Morfotipos semelhantes foi descrito para *Clusia lanceolata* (Maia 1996; Constantino *et al.* 2009), *C. fluminensis* (Maia 2001) e *C. insignis* (Almada e Fernandes 2011).

Leite *et al.* (2009) observaram a mesma distribuição das galhas em *Avicennia schaueriana* (Avicenniaceae), concentrando-se no ápice foliar, seguida pela parte medial e basal. Santos-Mendonça *et al.* (2007) observaram em *C. nemorosa* de 1-29 galhas por folha e Constatino *et al.* (2009) observaram em *C. lanceolata* até 20 galhas. De acordo com Maia e Silva (2011) a descrição morfológica da galha associada à espécie da planta hospedeira permite uma rápida identificação das espécies galhadoras.

Caracterização anatômica

As duas espécies analisadas apresentaram limbo hipoestomático, estômatos paracíticos, cutícula espessa, hipoderme, ductos e idioblastos com cristais de oxalato de cálcio (Figuras 10,13-20, 24-31). Tais características corroboram com o descrito para a família Clusiaceae (Solereder 1908; Metcalfe e Chalk 1950; Fernandes 2007) mostrando-se como conservativas para o grupo.

A epiderme das espécies, em ambas as faces, apresenta células heterodimensionais de paredes anticlinais retas e espessas, em vista frontal (Figuras 8 e 12). Morretes (1988) relatou que células com paredes anticlinais e/ou periclinais com maior espessamento ocorrem com frequência em espécies provenientes de regiões sujeitas a estresse hídrico.

Em secção transversal, a epiderme de *C. fockeana* e *C. hoffmannseggiana* é unisseriada, com células variando entre quadradas, arredondadas a papilosas (Figuras 14, 15, 18 e 19). O revestimento cuticular é espesso e levemente estriado em ambas as espécies (Figuras 14, 15, 18-20), principalmente na face abaxial de *C. hoffmannseggiana* (Figura 19). Esta cutícula observada nas referidas espécies, infiltra-se entre as paredes anticlinais, formando uma flange cuticular (Figuras 14, 15, 18-20, 22, 24 e 26).

A cutícula pode apresentar uma série de estriações (ornamentações) e desempenhar funções contra perda de água e proteção contra a radiação solar (Alquini *et al.* 2006; Rudall 2007). De acordo com Esau (2005), a espessura da cutícula pode variar e ser fortemente influenciada pelos condicionantes ambientais, sendo frequentemente mais espessa em plantas que ocupam ambientes com pouca disponibilidade de água e forte intensidade luminosa.

Silva e Medeiros (2005) realizaram estudos comparativos com espécies de Myrtaceae em diferentes ambientes, onde observaram cutícula mais espessa em plantas da floresta ombrófila densa do que nas da restinga. Cutícula espessa também foi observada em outras espécies de *Clusia* que foram analisadas em ambientes variados nos estudos de Paula (1966) e Fernandes (2007). Neste estudo este caráter se mostrou invariável em diversas formações distintas, evidenciando um caráter conservativo para o grupo, e não ecológico.

As espécies aqui analisadas apresentaram cutícula levemente estriada. Estudos realizados por Vieira e Gomes (1995) em superfície foliar de quatro espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae), mostraram cutícula lisa e estriada em folhas de sombra. Mantovani e Vieira (1997) relataram a presença de ornamentações na cutícula da epiderme adaxial de *Rudgea decipiens* Müll. Arg. e *Rudgea macrophylla* Müll. Arg. ambas ocorrendo em ambiente que possui grande disponibilidade de água no interior da Mata Atlântica.

De acordo com os relatos acima a luminosidade e a disponibilidade de água não afetam esse caráter. Fernandes (2007) observou cutícula lisa em espécies de restinga, e lisa e estriada em espécies de mata do cerrado, não se pode considerar que a cutícula espessa observada nas espécies em questão, seja uma estratégia adaptativa ao local, já que este caráter foi encontrado em espécies de *Clusia* em diferentes biomas.

Todas as espécies de *Clusia* descritas até o momento apresentaram flanges cuticulares. Machado e Rodrigues (2004); Tresvenzol *et al.* (2010) também observaram esta característica em espécies de Fabaceae - Faboideae e de Bignoniaceae, respectivamente. Isto demonstra que este caráter não é peculiar para Clusiaceae.

As duas espécies apresentaram a face adaxial recoberta por depósitos de cera epicuticular em placas verticais. Adicionalmente, foi observada na face adaxial cera epicuticular granular em *C. fockeana* (Figuras 5-7) e crostas planas em *C. hoffmannseggiana* (Figuras 9-11), sendo mais agregada nesta última. Hifas fúngicas foram visualizadas nas duas faces em *C. fockeana* (Figuras 5-7) e apenas na face adaxial em *C. hoffmannseggiana* (Figuras 9 e 11).

O padrão de cera observado em *C. fockeana* e *C. hoffmannseggiana*, diferenciou do tipo encontrado em *C. criuva* por Boeger *et al.* (2004) e daqueles registrados em 14

espécies de *Clusia*, cada uma com um padrão próprio (Fernandes 2007). Segundo esta autora diferentes padrões de ceras sugerem mais um parâmetro de distinção estrutural entre as mesmas.

A forma que a cera adquire ao depositar-se na superfície dos órgãos é peculiar a cada espécie (Alquini *et al.* 2009) e apresentam uma variedade de formas físicas. Monquero *et al.* (2004) relataram que as formas frequentemente observadas são os túbulos, placas ou lamelas, bastonetes, filamentos, grânulos de forma determinada ou não.

Cutter (1986) mencionou que os depósitos de cera epicuticular parecem não desempenhar papel importante na redução da transpiração, mas, reduzem a umidade da superfície. Martins *et al.* (2008b) e Cutler *et al.* (2011) relataram que cera superficial pode auxiliar na redução de perda de água, que a espessa camada maximiza a reflexão da luz ultravioleta prejudicial e que muitas plantas xeromórficas têm uma cobertura cerosa que retarda a perda de água cuticular.

Desta maneira, a deposição de cera epicuticular verificada nas espécies estudadas, pode estar relacionada com a perda excessiva de água pela transpiração, mas não representa uma estratégia adaptativa, já que esta característica foi observada em outras espécies do gênero em diferentes biomas.

As espécies estudadas possuem folhas hipoestomáticas (Figuras 6,10 e 12) com numerosos estômatos paracíticos. Os estômatos estão inseridos no mesmo nível das células epidérmicas, exibindo câmaras subestomáticas de variadas formas e tamanhos (Figuras 13,15,17 e 19). Em ambas as espécies, as células-guarda apresentam cristas cuticulares (Figura 15 e 19).

Plantas crescendo sob condições xéricas apresentam maior número de estômatos, permitindo trocas gasosas mais rápidas quando a umidade é alta e o risco de desidratação é baixo (Lleras 1977; Medri e Lleras 1980). Para Silva e Medeiros (2005) a grande quantidade de estômatos encontrada nos indivíduos da restinga, juntamente com o menor tamanho das células-guarda, seria uma estratégia adaptativa que permitiria maior economia hídrica, otimizando o processo fotossintetizante.

Mundo e Duarte (2008), estudando a anatomia foliar de *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae), observaram a presença de crista cuticular, mostrando que este caráter não é exclusivo para *Clusia*.

Cristais de oxalato de cálcio em forma de râfides e drusas foram identificados em ambas as faces das folhas das espécies, sendo o último tipo restrito a abaxial. Na superfície adaxial os idioblastos com râfides são abundantes em *C. fockeana* (Figura 8) e possuem distribuição esparsa em *C. hoffmannseggiana*.

Rudall (2007) relatou que cristais de oxalato de cálcio podem ocorrer em quase todas as partes da planta e muitas vezes próximos aos feixes vasculares, possivelmente devido ao transporte de cálcio através do xilema. Volk *et al.* (2002); Boeger e Wisniewski (2003) citaram a possível função desses cristais como um mecanismo de remoção do excesso de cálcio nos tecidos, podendo atuar na defesa contra herbívoros e Nakata (2003) sugere que os cristais de oxalato de cálcio podem agir na desintoxicação de metais.

Molano-Flores (2001) relatou que râfides e drusas de oxalato de cálcio podem servir como defesas para as plantas, através do aumento da quantidade desses cristais, mesmo se a disponibilidade de cálcio for limitada, alterando potencialmente a palatabilidade da planta.

Saito e Lima (2009) realizaram estudos com folhas de sombra e de luz em Araceae, e registraram um aumento significativo na concentração de idioblastos rafídicos em indivíduos de luz. Já Rio *et al.* (2005) mencionaram que os cristais podem estar presentes em maior ou menor quantidade de acordo com a composição do solo onde a planta se encontra. Os expostos acima não justificam o caráter em questão, já que ambas as espécies encontravam-se sob a mesma luminosidade e solo. Acredita-se que os idioblastos com ráfides em maior proporção na epiderme de *C. fockeana* seria uma estratégia para repelir herbívoros mastigadores.

O mesofilo das espécies estudadas, em secção transversal, é dorsiventral. Subacente a epiderme, encontram-se duas (*C. fockeana*) a três camadas de células volumosas e ligeiramente lignificadas, com espessamento nas paredes e sem conteúdo aparente em *C. hoffmannseggiana*, apresentando também idioblastos com drusa de oxalato de cálcio (Figura 18). Em amostras frescas de *C. fockeana*, este tecido subepidérmico mostra-se com conteúdo de coloração creme, sendo evidenciada pelo o azul de astra (Figuras 13 e 14).

O parênquima paliçádico de ambas as espécies é formado por duas camadas, ocorrendo idioblastos com drusa em *C. hoffmannseggiana* (Figuras 17 e 18). Em *C. fockeana* o paliçádico possui células secretoras formando um tecido secretor de taninos, onde ocorrem alguns ductos (Figuras 13,14,16 e 42). O parênquima lacunoso apresenta 12-14 camadas com espaços intercelulares conspícuos em *C. hoffmannseggiana* (Figura 17) e presença de feixes vasculares de pequeno e médio porte do tipo colateral envoltos por uma bainha esclerenquimática (Figuras 13 e 17). *C. fockeana* apresentou espaços predominantemente reduzidos e algumas células com taninos (Figuras 13, 39 e 41).

As células diferenciadas observadas abaixo da epiderme das duas espécies provavelmente correspondem a uma hipoderme. Todas as espécies de *Clusia*, descritas até o momento, apresentaram este tecido, corroborando com os estudos realizados por Metcalfe e Chalk (1950) que relataram hipoderme para todas as espécies de Clusiaceae.

O tipo de hipoderme observada em *C. hoffmannseggiana*, foi notado também por Silva e Medeiros (2005). Esses autores relataram que funções, como maior proteção mecânica, aumento da reflexão de raios solares e atuação como tecido armazenador de água, podem ser atribuídas a este tecido. A presença deste tecido é característica de plantas xerófitas e possui diferentes funções conforme a espécie (Boeger e Wisniewski 2003; Scatena *et al.* 2004) podendo desempenhar funções como as já supracitadas, como também de secreção de diferentes substâncias (Esau 2005).

Gustafsson *et al.* (2007) citaram que a hipoderme dupla ou múltipla serve como um tecido alargado para armazenamento de água e que são observadas duas a muitas camadas em quase todas as espécies de *Clusia* investigadas. Solereder (1908) também citou a presença deste tecido para as espécies do gênero.

Fernandes (2007) descreveu para *C. criuva*, espécie oriunda da Floresta Amazônica, apenas uma camada de hipoderme, enquanto espécies do Cerrado apresentaram até cinco camadas, o que mais uma vez, sugere uma adaptação às condições ambientais.

De acordo com Silva e Medeiros (2005) o fato da formação de restinga estar em uma zona aberta, proporciona menor umidade relativa próximo das folhas, maior desenvolvimento do parênquima paliçádico, presença de pequenos espaços intercelulares no parênquima lacunoso, assim como desenvolvimento de hipoderme,

essas características anatômicas evidenciam variações adaptativas relacionadas com o habitat ocupado.

Fahn e Cutler (1992) relataram que parênquima lacunoso com várias camadas de células poligonais irregulares e com espaços intercelulares reduzidos é um aspecto característico de plantas xeromórficas. Boeger *et al.* (2004) observou em *C. criuva* de floresta ombrófila densa, parênquima lacunoso semelhante ao de *C. hoffmannseggiana*. Isso sugere que os fatores ambientais não são determinantes para o tamanho desses espaços, podendo este caráter estar ligado ao genoma.

A margem das folhas das espécies, em secção transversal, apresenta a forma terminal afunilada. Em *C. fockeana* a margem é revoluta, com estômatos situados abaixo do nível epidérmico e células do parênquima paliçádico tornando-se gradativamente menores (Figura 16). A margem de *C. hoffmannseggiana* é reta, apresenta cutícula espessa, parênquima fundamental formado por células arredondadas (Figura 20) e idioblastos com drusas. Ambas as espécies apresentam ductos secretores nesta região.

A nervura central das espécies, em secção transversal, é biconvexa. Em *C. hoffmannseggiana* a face abaxial apresenta maior proeminência (Figura 23). No córtex da face adaxial de *C. fockeana* observam-se alguns idioblastos taníferos (Figura 21), a face abaxial apresenta de 13-15 camadas de células parenquimáticas de tamanhos variados e ductos organizados próximos a epiderme (Figura 22). No córtex de *C. hoffmannseggiana* observam-se de 2-3 estratos de colênquima lacunar, seguido internamente por células parenquimáticas de tamanhos variados com abundância de ductos e idioblastos com drusas por todo o tecido cortical, alguns ductos estão associados ao feixe vascular (Figura 24).

Na nervura central, o sistema vascular de ambas as espécies apresenta feixes colaterais organizados em forma de arco, contendo feixes acessórios e envolto por bainha esclerenquimática. *C. fockeana* apresenta três feixes acessórios (Figura 21) enquanto em *C. hoffmannseggiana*, estes são numerosos (Figura 23). Ductos secretores foram observados predominantemente na região medular desta última espécie (Figura 23). Ainda na nervura central foram observados compostos fenólicos ao redor dos elementos traqueais, no floema e no lume das células esclerificadas sobre o floema de *C. fockeana* (Figura 40) e *C. hoffmannseggiana* (Figura 43).

Estas informações corroboram com o descrito por Fernandes (2007) que além destes formatos de nervura principal descritos, relatou outros para *Clusia* e referiu que esta é a região que apresenta maior variabilidade entre as espécies. A nervura central de *C. arrudae* e *C. insignis* analisadas pela mesma autora, estão de acordo com o observado em *C. hoffmannseggiana*, e *C. insignis* apresentou semelhança a *C. fockeana*. O córtex de *C. criuva* e *C. gardneri* apresentou ductos organizados próximos a epiderme conforme o observado em *C. fockeana*. Paula (1966) descreveu para *C. grandiflora* Splitg. 5-7 camadas de colênquima, idioblastos com drusas de oxalato de cálcio e canais secretores esquizógenos. Fernandes (2007) relatou que os feixes vasculares de *Clusia* estão dispostos em forma de círculo à elipse envoltos por camadas de bainha esclerenquimática, relatando também compostos fenólicos no tecido floemático de algumas espécies.

Em secção transversal, o pecíolo das espécies analisadas apresenta formato circular, a epiderme é unisseriada com células heterodimensionais, com aspecto papiloso e cutícula espessa estriada (Figuras 26, 28 e 29). Em *C. fockeana*, o córtex é formado por células parenquimáticas de tamanhos variados (Figura 25); já em *C.*

hoffmannseggiana, além destas, foi observado colênquima lacunar e idioblastos com drusas de oxalato de cálcio (Figura 28). Ductos secretores ocorrem na medula e principalmente no córtex de ambas as espécies. Em *C. fockeana* os ductos corticais estão situados próximo a epiderme (Figura 25), enquanto que em *C. hoffmannseggiana* são mais calibrosos e estão distribuídos aleatoriamente (Figura 28).

O sistema vascular do pecíolo é constituído por uma organização em forma de arco tênue com as extremidades curvas em *C. fockeana* (Figura 25) e invaginadas em *C. hoffmannseggiana* (Figura 30). Os elementos traqueais encontram-se radialmente dispostos em ambas as espécies. Em *C. hoffmannseggiana* o sistema vascular é envolto por uma bainha de células de paredes espessas e lignificadas com conteúdo fenólico (Figura 30). Na região medular do pecíolo, observam-se idioblastos com drusas de oxalato de cálcio em *C. fockeana* (Figura 27).

Os dados acima relacionados ao pecíolo estão de acordo com os descritos por Paula (1966) e Fernandes (2007) no que se referem ao formato, presença de colênquima, drusas de oxalato de cálcio, ductos e organização do sistema vascular.

As estruturas secretoras registradas em ambas as espécies são representadas por ductos (Figuras 13, 18, 22, 24, 25, 28, 30-32, 34, 36-38), tecido paliçádico secretor (Figuras 13, 14, 16, 32, 38, 40-42) e idioblastos. Estes foram observados de diferentes naturezas, tanto secretores de conteúdo denso (Figuras 14, 22, 24, 27, 28, 35 e 37), como granuloso (Figuras 31 e 37), ocorrendo no mesofilo, no parênquima fundamental da nervura central e córtex do pecíolo. O tecido paliçádico secretor foi observado no mesofilo e no parênquima fundamental da nervura central (Figuras 13, 14, 16, 21, 32, 39-42) apenas de *C. fockeana*, sendo o conteúdo destas células constituído por taninos (Figuras 39-42).

Em geral, quando submetidas a estresses ambientais as plantas investem em estratégias químicas, aumentando o acúmulo dos compostos fenólicos em seus tecidos (Bussotti *et al.* 1997). Estudos realizados por Mole *et al.* (1988) relacionaram a indução da luz na variação da concentração de compostos fenólicos, estabelecendo que com o aumento da intensidade luminosa os níveis destes compostos também aumentam. Formiga *et al.* (2009) referiram que alta temperatura e baixa pluviosidade também podem influenciar o metabolismo fenólico das plantas. Isso indica uma alta capacidade desses compostos para a plasticidade metabólica, como relatado por Mithöfer e Boland (2012).

De acordo com Rocha *et al.* (2011) os taninos são caracterizados como fenólicos de alto peso molecular, que precipitam proteínas e essas propriedades são fundamentais para explicar o papel desses compostos na proteção vegetal contra patógenos e na dissuasão de herbívoros que se alimentam destas plantas. Coley e Barone (1996); Álvarez *et al.* (2008) reforçaram que taninos são muito eficazes na proteção contra herbivoria, por terem um sabor bastante desagradável. E teores de taninos podem diminuir a taxa de predação afastando seus predadores naturais (Mota *et al.* 2005). Além disso, esses compostos conferem um tipo de defesa com menores chances de ser superada pelas adaptações dos herbívoros (Ribeiro e Fernandes 2000).

A presença de taninos em *C. fockeana* e ausência de galhas em suas folhas são fortes evidências do efeito deterrente do tanino sobre insetos galhadores, *C. hoffmannseggiana* que apresenta grande quantidade de galhas, não reagiu positivamente nos testes microquímicos para taninos.

Os ductos observados apresentaram diversos diâmetros, com células epiteliais variando de 5-8 (Figuras 31, 36-38), que ocorrem em diversas partes da folha, entre

elas: na hipoderme, no tecido paliçádico secretor, no parênquima paliçádico, no lacunoso e no pecíolo, onde em secção longitudinal apresentam-se bastante alongados nas duas espécies (Figura 34).

Foram observados ductos em ambas as espécies. *C. hoffmannseggiana* apresentou esta estrutura praticamente em todos os tecidos, apresentando maior diâmetro em alguns ductos e abundância destes. Em *C. fockeana* foram observados principalmente no mesófilo, no parênquima cortical e pecíolo, embora menos abundante e com certa constância nos diâmetros dos ductos.

Segundo Cronquist (1981) uma das características anatômicas marcantes de Clusiaceae é a presença de canais e cavidades secretoras esquizógenos em todos os tecidos, onde são elaborados e secretados diversos metabólitos secundários. Metcalfe e Chalk (1950; 1983) citaram que canais ou cavidades secretoras em Clusiaceae podem seguir o feixe vascular ou ocorrer independente deste no mesófilo, passando pela região medular e cortical do pecíolo.

Thadeo *et al.* (2009) mencionaram que ductos podem estar espalhados na região do pecíolo, com maior distribuição no parênquima cortical, podendo ocupar algumas vezes a região subepidérmica. Gasparotto-Júnior *et al.* (2005); Mundo e Duarte (2008) observaram ductos em *Calophyllum brasiliense* no mesófilo e córtex do pecíolo, mostrando um caráter comum para Clusiaceae. Fernandes (2007) analisou espécies de biomas diferentes evidenciando a mesma particularidade de *C. hoffmannseggiana* em *C. fluminensis* de restinga, com relação aos ductos.

Os cristais de oxalato de cálcio foram comuns as duas espécies aqui estudadas, *C. hoffmannseggiana* apresentou idioblastos com drusas por todo o tecido cortical. Para

Arruda *et al.* (2009), os idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio, gorduras ou fenóis estão relacionados à defesa química da planta.

Molano-flores (2001) demonstrou que tanto a disponibilidade de cálcio e herbivoria podem aumentar a produção de cristais de oxalato de cálcio, relatando que folhas de espécies expostas à herbivoria apresentam uma maior densidade de cristais quando comparadas com aquelas não atacadas.

Segundo Coté (2009), drusas podem atuar como dissuasivos por serem abrasivos para aparelho bucal dos herbívoros. Acredita-se que a grande quantidade de drusas de oxalato de cálcio observada em *C. hoffmannseggiana* foi uma estratégia de defesa tentando minimizar a herbivoria, já que além de galhada também mostrou-se predada.

As duas espécies analisadas apresentaram características comuns a ambientes xéricos; embora semelhantes estas se diferem em alguns aspectos estruturais (Tabela 1). Segundo Boeger e Wisniewski (2003) características xeromórficas são consideradas vantajosas para as plantas de restinga, pois reduzem a perda de água, o excesso de luz e a ação nociva dos herbívoros. Ressalta-se que o xeromorfismo foliar observado em *C. fockeana* e em *C. hoffmannseggiana*, pode estar associado a mais de um fator, entre eles: luminosidade, temperatura, disponibilidade hídrica e composição do solo.

Quantificação espectrofotométrica dos flavonoides

Os resultados da análise do teor de flavonoides totais em folhas de *C. hoffmannseggiana* (folhas sadias e folhas com galhas) e *C. fockeana* estão apresentados na Tabela 2. Observou-se uma diferença significativa nos teores de flavonoides entre as espécies *C. hoffmannseggiana* ($18,78 \pm 0,27$ mg/g) e *C. fockeana* ($3,20 \pm 0,24$ mg/g), sendo um potencial marcador fitoquímico entre essas espécies. O teor de flavonoides

em folhas de *C. hoffmannseggiana* com galhas foi inferior ($15,13 \pm 0,51$ mg/g) ao encontrado nas folhas sadias ($18,78 \pm 0,27$ mg/g).

O papel funcional dos metabólitos secundários vão desde a ecologia à defesa, auxiliam na proteção contra tensões bióticas e abióticas, além de estarem envolvidos em papéis ecológicos, como atrativos ou repelentes (Iriti e Faoro 2009). Os flavonoides têm um importante papel na defesa das plantas (Tavano *et al.* 2009) e quando estão assim relacionados, estes podem ser divididos em dois grupos: compostos "pré-formados" e "induzidos" (Treutter 2005).

Treutter (2005) e Pourcel *et al.* (2007) atribui a proteção UV (ultravioleta) um dos mais significativos, ou até mesmo o mais significativo papel funcional destes compostos. Além deste, desempenham outros papéis importantes como na interação entre a planta e seu meio ambiente (Pourcel *et al.* 2007), na aclimatação à temperatura, atrativos de polinizadores, aleloquímicos, são responsáveis por cores exclusivas de flores e frutas (Samanta *et al.* 2011).

Os dados aqui observados corroboram com os estudos realizados por Mota *et al.* (2005) que compararam tecidos não galhados e galhados de *Tibouchina pulchra* (Melastomataceae) e observaram quantidades menores de flavonoides em tecidos galhados. Mendonça (2008) também observou uma menor quantidade de fenóis em folhas com galhas. Nyman e Julkunen-Tiitto (2000) observaram desde a redução de flavonoides até nenhum efeito das galhas sobre a produção de fenólicos. No entanto, nenhum desses estudos relatam qual a relação entre indutores de galhas e flavonoides.

Segundo Oliveira *et al.* (2006) o papel dos flavonoides na sinalização entre insetos indutores de galhas e a suscetibilidade das espécies hospedeiras é praticamente desconhecida. Estes autores relataram que alguns galhadores, como os Hemiptera,

podem detectar sinalizadores químicos importantes nos processos de localização, escolha e aceitação da planta hospedeira. Durante sua co-evolução com as plantas, os insetos têm evoluído para serem capazes de localizarem suas plantas hospedeiras para alimentação e oviposição usando sinais químicos ou físicos de plantas hospedeiras (Wu e Baldwin 2010). Neste caso, os flavonoides presentes em *C. hoffmannseggiana*, talvez, atuaram como sinalizadores químicos, atraindo os insetos galhadores.

Por outro lado, estudos realizados por Pascual-Alvarado *et al.* (2008); Formiga *et al.* (2009) demonstraram que alguns galhadores podem se beneficiar dos compostos fenólicos, como uma proteção secundária, contra o ataque de seus inimigos naturais, e que insetos galhadores diminuem a incidência de folívoros.

De acordo com Joaquim *et al.* (2008) flavonoides e taninos são metabólitos secundários com grande potencial contra a herbivoria. Estudos realizados por Isaias *et al.* (2000) em *Aspidosperma cylindrocarpon* Müell. Arg. (Apocynaceae) sugerem que além de outras substâncias fenólicas, os flavonoides devem também contribuir para a defesa contra alguns galhadores e outros herbívoros. No entanto, estes relatos não estão de acordo com o observado neste estudo.

Formiga *et al.* (2009); Detoni *et al.* (2011) relataram que os fatores abióticos e as galhas podem atuar em conjunto modulando a resposta química na planta hospedeira. As variações nos conteúdos de metabolitos secundários de plantas são resultados de muitos fatores (Niknam e Ebrahimzadeh 2002). A quantidade de metabólitos secundários produzidos pela planta depende do habitat, do regime de chuvas, da insolação, do solo, da sazonalidade, enfim, das características edáficas-climáticas nas quais a planta está exposta (Vigo *et al.*, 2004; Freire *et al.*, 2006). Nesse sentido, é considerável o número de variáveis a serem investigadas em estudos posteriores

envolvendo a quantificação de flavonoides nas espécies aqui estudadas. A produção de flavonoides parece não sofrer tanta alteração diante da presença de galhas.

O método espectrofotométrico empregado apresentou linearidade a 420 nm para as concentrações estudadas (2,0 a 20,0 µg/mL). A equação da regressão linear média obtida a partir de três curvas de calibração, foi $y = 0,0285x + 0,0518$, em que y é a absorbância (nm) e x a concentração (µg/mL) em equivalentes de Rutina (Figura 44). O coeficiente de determinação obtido foi $R^2 = 0,9978$, comprovando a adequação do método ao intervalo avaliado (Brasil, 2003).

2.4 Conclusão

As folhas das espécies de *Clusia* estudadas apresentaram características estruturais conservativas para o gênero e típicas de ambientes xéricos. Apesar de ocorrerem no mesmo habitat estas espécies apresentam estratégias distintas.

2.5 Perspectivas futuras

Algumas perguntas que poderão ser respondidas com outros estudos surgiram durante a realização desta pesquisa, tais como:

- As características anatômicas observadas permanecem nas demais espécies do gênero?
- Qual a organização estrutural da galha?
- Quem são os indutores dessas galhas?
- Os compostos fenólicos observados são pré-formados / constitutivos ou induzidos?
- Nesta associação entre planta-inseto galhador ambos são beneficiados?

2.6. Referências

- Almada, E.M.; Fernandes, G.W.A. 2011. Insetos indutores de galhas em florestas de terra firme e em reflorestamentos com espécies nativas na Amazônia Oriental, Pará, Brasil. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*, 6(2): 163-196.
- Alquini, Y.; Bona, C.; Boeger, M.R.T.; Costa, C.G.; Barros, C.F. 2009. Epiderme, p.87-107. In: B. Appezzato-da-Glória; S. M. Carmello-Guerreiro (Eds.). *Anatomia Vegetal*. 2^a edição, UFV, Viçosa, Minas Gerais.
- Alvarez, A.S.; Potiguara, R.C.V; Santos, J.U.M. 2001. Arquitetura folilar de *Swartzia brachyraquis* Harms var. *snethlageae* (Ducke) Ducke e *Swartzia laurifolia* Bentham (Leguminosae-Papilionoideae), ocorrentes na restinga de Algodoal/Maiandeua Pará, *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*, série botânica, 17(1): 93-106.
- Alvarez, A.S.; Potiguara, R.C.V. 2002. Padrão de venação foliar de espécies do gênero *Myrcia* DC. ex. Guill (Myrtaceae) da restinga de Algodoal, Maiandeua-Pará. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*, série botânica, 18(2): 205-218.
- Alvarez, A.S.; Potiguara , R.C.V.; Santo, J.U.M. 2006. Arquitetura foliar de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae), da restinga de Algodoal, Maiandeua, Pará. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*, série botânica, 1: 29-36.
- Álvarez, R.; Encina, A.; Pérez Hidalgo, N. 2008. *Pistacia terebinthus* L. leaflets: an anatomical study. *Plant Systematics and Evolution*, 272: 107-118.
- Amaral, D.D.; Santos, J.U.M.; Bastos, M.N.C.; Costa Neto, S.V. 2001. Aspectos taxonômicos de espécies arbustivas e arbóreas ocorrentes em moitas (restinga do

- Crispim), Marapanim, Pará. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*, série Botânica, 17(1) :21-74.
- Amaral, D.D.; Prost, M.T.; Bastos, M.N.C.; Costa Neto, S.V.; Santos, J.U.M. 2008. Restingas do litoral amazônico, estados do Pará e Amapá, Brasil. *Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi*. Ciências naturais, 3(1) :35-67.
- Araújo, D. S. D.; Lacerda, L. D. 1987. A natureza das restingas. *Ciência Hoje*, 6(33): 42-48.
- Araújo, D.S.D.; Scarano, F.R. 2007. Biogeographic Features of *Clusia*, with Emphasis on South American and Especially Brazilian Species, p. 31-54. In: U.Lüttge (Ed.). *Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity*, Ecological Studies. vol. 194. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Arruda, R.C.O.; Viglio, N.S.F.; Barros, A.A.M. 2009. Anatomia Foliar de Halófitas e Psamófilas Reptantes Ocorrentes na Restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, 60(2): 333-352.
- Assis, M.A. 1999. *Florística e caracterização das comunidades vegetais da planície costeira de Picinguaba, Ubatuba*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo. 250 pp.
- Assis, A.M.; Thomaz, L.D.; Pereira, O.J. 2004a. Florística de um trecho de floresta de restinga no município de Guarapari, Espírito Santo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 18: 191-201.

Assis, A.M.; Pereira, O.J.; Thomaz, L.D. 2004b. Fitossociologia de uma floresta de restinga no Parque Estadual Paulo César Vinha, Setiba, município de Guarapari (ES). *Revista Brasileira de Botânica*, 27: 349-361.

Bastos, M.N.C; Costa, D.C.T.; Santos, J.U.M. 2003. *Vegetação de restinga: aspectos botânicos e uso medicinal*. Belém-PA. Museu Paraense Emílio Goeldi. 23pp.

Bittrich, V. 2012. Clusiaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000089>). Acesso em 13/02/2012.

Boeger, M.R.T.; Wisniewski, C. 2003. Comparaçao da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 26(1): 61-72.

Boeger, M.R.T.; Alves, L.C.; Negrelle, R.R.B. 2004. Leaf Morphology of 89 Tree Species from a Lowland Tropical Rain Forest (Atlantic Forest) in South Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47(6): 933-943.

Bozzola, J.J.; Russel, L.D. 1991. *Eletron microscopy: principles and techniques for biologists*. New York : Jones and Bartlett Publishers. 452pp.

Braga, M.M.N. Anatomia foliar de Bromeliaceae da Campina. *Acta Amazonica*, 7(3): 5-74.

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). R. E., nº 899 de 29 de maio de 2003 – Guia para validação de métodos qualitativos e bioanalíticos. Disponível em: (http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?mode=PRINT_VERSION&id=15132). Acesso em: 22/02/2012.

- Bregonci, J. M., Polycarpo, P. V.; Maia, V. C. 2010. Insect galls of the Parque Estadual Paulo César Vinha (Guarapari, ES, Brazil). *Biota Neotropica*, 10(1): 265-274.
- Bussotti, F; Grossoni, P.; Bottacci, A. 1997. Sclerophyll in beech (*Fagus sylvatica* L.) trees: its relationship with crown transparency, nutritional status and summer drought. *Forestry*, 70: 267-271.
- Campana, R.C.; Mourão, K.S. M.; Marzinek, J. 2010. Morfoanatomia e ontogênese dos frutos e sementes de *Clusia lanceolata* Cambess. (Clusiaceae). *Acta Scientiarum*, 32(4): 437-444.
- Coley, P.D.; Barone, J.A. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27: 305-335.
- Constantino, P.A.L.; Monteiro, R.F.; Wilson, M.D. 2009. Gall midge attack intensity and host-plant response in a Neotropical coastal ecosystem. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(3): 391-397.
- Correia, M.C.R.; Ormond, W.T.; Pinheiro, M.C.B.; Lima, H.A. 1993. Estudo da biologia de *Clusia criuva* Cambess. Um caso de mimetismo. *Bradea*, 6(24): 209-219.
- Coté, G.G. 2009. Diversity and distribution of idioblasts producing calcium oxalate crystals in *Dieffenbachia seguine* (Araceae). *American Journal of Botany*, 96(7): 1245-1254.
- Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York. 1262 pp.
- Cutter, E.G. 1986. *Anatomia vegetal: Parte I - Células e tecidos*. Editora Roca, São Paulo. 304pp.

- Cutler, D.F., Botha, T.; Stevenson, D.W. 2011. *Anatomia vegetal: uma abordagem aplicada*. Artmed, Porto alegre. 304 pp.
- Detoni, M.L. ; Vasconcelos, E.G.; Rust, N. M.; Isaias, R.M.S.; Soares, G.L.G. 2011. Seasonal variation of phenolic content in galled and non-galled tissues of *Calliandra brevipes* Benth (Fabaceae: Mimosoidae). *Acta Botanica Brasilica*, 25(3): 601-604.
- Dickson, W.C. 2000. Ecological Anatomy, p. 295-334. In: Dickson, W.C. (Ed.). *Integrative plant anatomy*. Harcourt/Academic Press, San Diego. 532 pp.
- Esau, K. 2005. *Anatomia de plantas com sementes*. Edgard Blücher, São Paulo. 293 pp.
- Fahn, A.; Cutler, D. F. 1992. *Xerophytes*. Gebruder Borntraeger, Berlim. 176 pp.
- Fernandes, S. D. C. 2007. *Morfologia, anatomia, histoquímica e aspectos fisiológicos da lâmina foliar de espécies de Clusia (Clusiaceae)*. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal. 148 pp.
- Fernandes, G.W.; Coelho, M. S.; Lüttege, U. 2010. Photosynthetic efficiency of *Clusia arrudae* leaf tissue with and without Cecidomyiidae galls. *Brazilian Journal of Biology*, 70(3): 723-728.
- Formiga, A.T.; Gonçalves, S. J. M. R.; Soares, G. L. G.; Isaias, R. M. S. 2009. Relações entre o teor de fenóis totais e o ciclo das galhas de Cecidomyiidae em *Aspidosperma spruceanum* Müll. Arg. (Apocynaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 23: 93-99.
- Franklin, G.L. 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*, 151: 51.

Freire, C. M. M.; Ortiz, M.; Marques, M.; Costa, M. 2006. Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 161-166.

Gasparotto-Júnior, A.; Ferreira, I. C. P.; Nakamura, C. V.; Dias-Filho, B. P.; Jacomassi, E.; Young, M. C. M.; Cortez, D. A .G. 2005. Estudo morfo-anatômico das folhas e caule de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma contribuição ao estudo farmacognóstico da droga vegetal. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 24 (3): 371-376.

Gerlach, G. 1969. *Botanische Mikrotechnik : eine einfuehrung*. Georg Thieme. Stuttgart. 344 pp.

Guedes, D.; Barbosa, L.M.; Martins, S.E. 2006. Composição florística e estrutura fitossociológica de dois fragmentos de floresta de restinga no Município de Bertioga, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 20: 299-311.

Gustafsson, M.H.G.; Winter, K.; Bittrich, V. 2007. Diversity, Phylogeny and Classification of *Clusia*, p .95-114. In: U.Lütge (Ed.).*Clusia: A Woody Neotropical Genus of Remarkable Plasticity and Diversity*, Ecological Studies. vol. 194. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Haupt, A.W.A. 1930. *Gelatin fixative for paraffin sections*. Stain Technol 5(3): 97-98.

Hochwallner, H.; Weber, A. 2006. Flower development and anatomy of *Clusia valerioi*, a Central American species of Clusiaceae offering floral resin. *Flora*, 201(5): 407-418.

Iriti, M.; Faoro, F. 2009. Chemical Diversity and Defence Metabolism: How Plants Cope with Pathogens and Ozone Pollution. *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 3371-3399.

- Isaias, R. M. S.; Soares, G. L. G.; Christiano, J. C.S .; Gonçalves,S. J. M. R. 2000. Análise comparativa entre as defesas mecânicas e químicas de *Aspidosperma australe* Müell. Arg. e *Aspidosperma cylindrocarpon* Müell. Arg. (Apocynaceae) contra herbivoria. *Floresta e Ambiente*, 7(1): 19-30.
- Joaquim,W. M.; Ono, E.; Salatino, M. L. 2008. Some Secondary Metabolites in Leaves of *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schldl.) Micheli in Brazil. *The Open Agriculture Journal*, 2: 75-79.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York, London . 52 pp.
- Joly, A.B. 1998. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 12^a ed., Editora Nacional. São Paulo. 778 pp.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Steves, P.F. & Donoghue, M.J. 2009. Tradução: Simões, A. O., Singer, R.B, Singer, R.F., Chies, T.T.S. *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. 3^a ed., Artmed. Porto Alegre. 632pp.
- Klein, A. S.; Citadini -Zanette, V.; Santos, R. 2007. Florística e estrutura comunitária da restinga herbácea no município de Araranguá, Santa Catarina. *Biotemas*, 20: 15-26.
- Leite, V.R.; Lopes, T.S.; Pereira, O.J. 2007. Florística do ecótono floresta de restinga e mata atlântica de tabuleiro no município da Serra (ES). *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 483-485.
- Leite, R. F.; Ferreira, M. S.; Magenta, M. A. G. 2009. Caracterização da galha em folhas de *Avicennia Schueriana* (Avicenniacea). *Revista ceciliana*, 1(2): 131-135.

Lemos, M.C.; Pellens, R.; Lemos, L.C. 2001. Perfil e florística de dois trechos de Mata Litorânea no Município de Maricá-RJ. *Acta Botanica Brasilica*, 15: 321-334.

Lillie, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3^a ed., McGraw Hill, New York. 715 pp.

Lleras, E. 1977. Defenses in stomatal number per unit area within sarne species under different micro-environmental conditions: A working hypothesis. *Acta Amazonica*, 4(7): 473-476.

Mace, M. E.; Howell, C. R. 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursors in roots of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany*, 52: 2423-2426.

Machado, S. R.; Rodrigues, T. M. 2004. Anatomia e ultra-estrutura do pulvino primário de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae - Faboideae). *Revista Brasileira de Botânica*, 27(1): 135-147.

Maia, V.C. 1996. *Clusiamyia nitida* Gen.n. e sp.n. (Diptera, Cecidomyiidae, Cecidomyiidi) associada com *Clusia lanceolata* Camb.(Clusiaceae) no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 13(4): 829-832.

Maia, V.C. 2001. The gall midges (Diptera, Cecidomyiidae) from three restingas of Rio de Janeiro State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(2): 583-629.

Maia, V.C.; Magenta, M. A. G.; Martins, S. E. 2008. Occurrence and characterization of insect galls at resting áreas of Bertioga (São Paulo, Brazil). *Biota Neotropica*, 8(1): 167-197.

Maia, V. C.; Silva, S. A. H. da. 2011. Representatividade do gênero *Lopesia* Rübsaamen (Diptera, Cecidomyiidae) no Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)*, 51 (23):359-365.

Mantovani, A.; Gomes, M.; Gomes, D.M.S.; Vieira, R.C. 1995. Anatomia foliar de *Rudgea decipiens* Müll. Arg. (Rubiaceae) e *R. macrophylla* Benth. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 9(2): 247-261.

Mantovani, A.; Viera, R.C. 1997. Leaf surface structure of two understorey shrubs. *Rodriguésia*, 45/47(71/75): 1-7.

Mantovani, W. ; Martins, F.R. 1993. Florística do cerrado na Reserva Biológica de Moji Guaçu, SP. *Acta Botanica Brasilica*, 7: 33-60.

Martins, S.E.; Rossi, L.; Sampaio, P.S.P.; Magenta, M.A.G. 2008a. Caracterização florística de comunidades vegetais de restinga em Bertioga, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 22: 249-274.

Martins, S.; Machado, S. R.; Alves, M. 2008b. Anatomia e ultra-estrutura foliar de *Cyperus maritimus* Poir. (Cyperaceae): estratégias adaptativas ao ambiente de dunas litorâneas. *Acta Botanica Brasilica*, 22(2): 493-503.

Medri, M.E.; Lleras, E. 1980. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. *Acta Amazônia*, 10(3): 463-493.

Mendonça, I. V. S. 2008. Estudo das interações planta-herbívoro em *Laguncularia Racemosa* (L.) C. F. Gaertn. (Combretaceae) no manguezal de Maracaípe, Ipojuca, Pernambuco, Brasil. *Revista de Biologia Neotropical*, 5(1): 73-74.

Metcalfe, C.R.; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford. v.2.1500 pp.

Metcalfe, C.R. 1983. Secreted mineral substances, p.82-97. In: Metcalfe, C.R.; Chalk, L. *Anatomy of the dicotyledons*. v. 1. Clarendon Press, Oxford.

Mithöfer, A.; Boland, W. 2012. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 25.1-25.20.

Molano -Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations effect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). *Annals of Botany*, 88: 387-391.

Mole, S., Ross, J.A.M., Waterman, P.G. 1988. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. I. Chemical changes. *Journal of Chemical Ecology*, 14: 1-21.

Monquero, P.A.; Christoffoleti, P.J.; Matas, J.A.; Heredia, A. 2004. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. *Planta Daninha*, 22(2): 203-210.

Monteiro, R.F.; Oda, R.A.M.; Narahara, K.L.; Constantino, P.A.L. 2004. Galhas: diversidade, especificidade e distribuição, p. 127-142. In: C. F. D. Rocha; F. A. Esteves; F. R. Scarano (Orgs.). *Pesquisas de longa duração na Restinga de Jurubatiba: ecologia, história natural e conservação*. Editora Rima, São Carlos, São Paulo.

Monteiro, J.M.; Albuquerque, U.P.; Araújo, E.L. 2005. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*, 28(5): 892-896.

- Morretes, B. L.; Ferri, M.G. 1959. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado I. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica*, 16: 7-70.
- Morretes, B. L. 1988. Contribuição ao conhecimento da anatomia foliar de espécies da vegetação das dunas interioranas do Município de Lençóis-Bahia. *Acta Botanica Brasilica*, 1(2): 143-153.
- Mota, L. B.; Kraus, J .E.; Salatino, A; Salatino, M. L .F. 2005. Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33: 971-981.
- Mourão, .K.S.M., Marzinek, J. 2009. Fruit ontogenesis in *Clusia parviflora* (Sald.) Engler (Clusiaceae). *Acta Botanica Brasileira*, 23(3): 797-804.
- Mundo, S. R.; Duarte, M. do R. 2008. Farmacobotânica foliar e caulinar de guanandi - *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae). *Revista Brasileira de Farmácia*, 89(2):87-91.
- Nakata, P.A. 2003. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164: 901-909.
- Niknam, V.; Ebrahimzadeh, H. 2002. Phenolics content in *Astragalus* species. *Pakistan Journal of Botany*, 34(3): 283-289.
- Nogueira, P. C. L., Bittrich,V., Sheper, G. J., Lopes, A.V.; Marsaioli, A. J. 1999. The ecological and taxonomic importance of flower volatiles of *Clusia* species (Guttiferae). *Phytochemistry*, 56: 443-452.

Nyman, T. & Julkunen-Tiitto J. 2000. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-induced sawflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 13184-13187.

Pascual-Alvarado, E.; Cuevas-Reyes, P.; Quesada, M.; Oyama. K. 2008. Interactions between galling insects and leaf-feeding insects: the role of plant phenolic compounds and their possible interference with herbivores. *Journal of Tropical Ecology*, 24: 329-336.

Paula, J.E. 1966. Notas sobre a anatomia de *Clusia grandiflora* Splitg. (Guttiferae). *Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Botânica*, 22: 1-24.

Paviani, T.I.; Ferreira, M.L. 1974. Anatomia foliar de *Plathymenia reticulata* Benth. *Revista Brasileira de Biologia*, 49: 37-48.

Pimentel, M.C.P.; Barros, M.J.; Cirne, P., Mattos , E.A.; Oliveira, R.C.; Pereira, M.C.A.; Scarano, R R.; Zaluar, H.L.T.; Araújo, D.S.D. 2007. Spatial variation in the structure and floristic composition of “restinga” vegetation in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30: 543-551.

Pourcel, L.; Routaboul, J. M.; Cheynier, V.; Lepiniec, L.; Debeaujon, I. 2007. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, 12(1): 29-36.

Purvis, M.J.; Collier, D. C.; Walls, D. 1964. *Laboratory techniques in botany*. London, Butterwoths, 371pp.

- Queiroz, E. P. 2007. Levantamento florístico e georreferenciamento das espécies com potencial econômico e ecológico em restinga de Mata de São João, Bahia, Brasil. *Biotemas*, 20: 41-47.
- Ribeiro, S. P. e Fernandes, G. W. 2000. Interações entre insetos e plantas no cerrado: teoria e hipóteses de trabalho.p. 299-320. In: R. P. Martins; Lewinsohn, T. M.; M. S., Barbeitos (Eds.). *Ecologia e comportamento de insetos*. Oecologia Brasiliensis. v. VIII. PPGE-UFRJ. Rio de janeiro, Brasil.
- Rio, R. G. W. 1996. *Métodos de controle químico de amostras de própolis*. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo. 81 pp.
- Rio, M. C. S.; Kinoshita, L. S.; Castro, M. M. 2005. Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. *Revista Brasileira de Botânica*, 28(4): 713-726.
- Rocha, W. S.; Lopes, R. M.; Silva, D. B.; Vieira, R. F.; Silva, J. P.; Agostini-Costa, T. S. 2011. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, (33)4 :1215-1221.
- Rudall, P.J. 2007. *Anatomy of Flowering Plants. An Introduction to Structure and Development*. 3rd Ed. Cambridge University Press, New York. 159 pp.
- Sacramento, A.C.; Zickel, C.S.; Almeida-Junior, E. B. 2007. Aspectos florísticos da vegetação de restinga no litoral de Pernambuco. *Revista Árvore*, 31: 1121-1130.
- Saito, S.R.M. ; Lima, V.F.G.A.P. 2009. Estudo anatômico e variação na concentração de idиoblastos com ráfides em folhas de Araceae, mantidas sob condições de luminosidade. *Revista Saúde*, 3 (2): 25-32.
- Samanta, A.; Das,G.; Das, S. K. 2011. Roles of flavonoids in plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology*, 6(1):12-35.

Santos, M. D. dos; Blatt, C. T. T. 1988. Teor de flavonoides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, 21(2) :135-140.

Santos-Mendonça, I.V.; Lucena , M.F.A.; Vaconcelos, S.F.; Almeida Cortez, J.S. 2007. Caracterização e distribuição espacial de galhas em *Clusia nemorosa* G. Mey (Clusiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Igarassu, PE. *Lundiana*, 8(1): 49-52.

Scatena, V. L.; Vich.; D. Vital; Parra, L. R. Anatomia de escapos, folhas e brácteas de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. ex Koern.) Ruhland (Eriocaulaceae). 2004. *Acta Botanica Brasilica*, 18(4) :825-837.

Scherer, A.; Maraschin-Silva, F.; Baptista, R.L.M. 2005. Florística e estrutura do componente arbóreo dematas de restinga arenosa no Parque Estadual de Itapuã, RS, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 19: 717-726.

Silva, L. D. S. A. B.; Medeiros, J. D. 2005. Anatomia foliar comparativa de *Psidium cattleyanum* Sab. (Myrtaceae). *Insula*, 34: 15-38.

Silva, R. J .F.; Potiguara, R. C. V. 2008. Aplicações taxonômicas da anatomia foliar de espécies amazônicas de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). *Acta Botânica Brasileira*, 22(4): 999-1014.

Silva, R. M.; Mehlig,U.; Santos, J. U. M.; Menezes, M. P. M. 2010. The coastal restinga vegetation of Pará, Brazilian Amazon: a synthesis. *Revista Brasileira de Botânica*, 33(4): 563-573.

- Solereder, H. 1908. *Systematic anatomy of the Dicotyledons.* A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Oxford: Clarendon Press. 1182 pp.
- Tavano, E .C. R.; Tavares, A. R.; Takaki, M.; Lima, G. P. P. 2009. Conteúdos de compostos fenólicos e flavonoides em plantas de camomila (*Matricaria recutita* L. - Asteraceae) cultivadas in vivo e in vitro. *Naturalia*, 32: 67-77.
- Thadeo, M. ; Meira, R. M. S. A.; Azevedo, A. A.; Araújo, J. M. de. 2009. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras da folha de Casearia decandra Jacq. (Salicaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 32(2): 329-338.
- Tresvenzol, L.M.F.; Fiúza, T.S.; Rezende, M.H.; Ferreira, H.D.; Bara, M.T.F.; Zatta, D. T.; Paula, J.R. 2010. Morfoanatomia de *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers, Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(6): 833-842.
- Treutter, D. 2005. Significance of Flavonoids in Plant Resistance and Enhancement of Their Biosynthesis. *Plant Biology*, (7): 581–591.
- Vieira, R. C.; Gomes, D. M. S. 1995. Superfície da lâmina foliar de *Psychotria nuda* (Cham. & Schleidl.) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. & Schleidl., *P. stenocalyx* Mull. Arg. e *P. tenuinervis* Mull. Arg. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 9(2): 263-270.
- Vigo, C. L. S.; Narita, E.; Marques, L. C. Influências da variação sazonal e tipos de secagem nas características da droga vegetal – raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pederson (Amaranthaceae). 2004. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 14(1): 137-144.
- Volk, G.M.; Lynch-Holm, V.J.; Kostman, T.A., Goss, L.J.; Franceschi, V.R. 2002. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. *Plant Biology*, 4: 34-45.

Wu, J.; Baldwin, I.T. 2010. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annual Review of Genetics*, 44: 1-24.

Tabela 1. Características estruturais foliares das espécies investigadas.

Características	Espécies	
	<i>C. fockeana</i>	<i>C. hoffmannseggiana</i>
Células com paredes retas	X	X
Abundância de ráfides na face adaxial	X	
Cera granular	X	
Cera em crosta plana		X
Estômatos desnivelados na margem	X	
Hipoderme com conteúdo	X	
Hipoderme ligeiramente lignificada		X
Hipoderme com idioblastos cristalíferos		X
Paliçádico secretor	X	
Paliçádico com idioblastos		X
Lacunoso com células com taninos	X	
Nervura central com maior proeminência		X
Margem revoluta	X	
Ductos enfileirados próximos as epidermes	X	

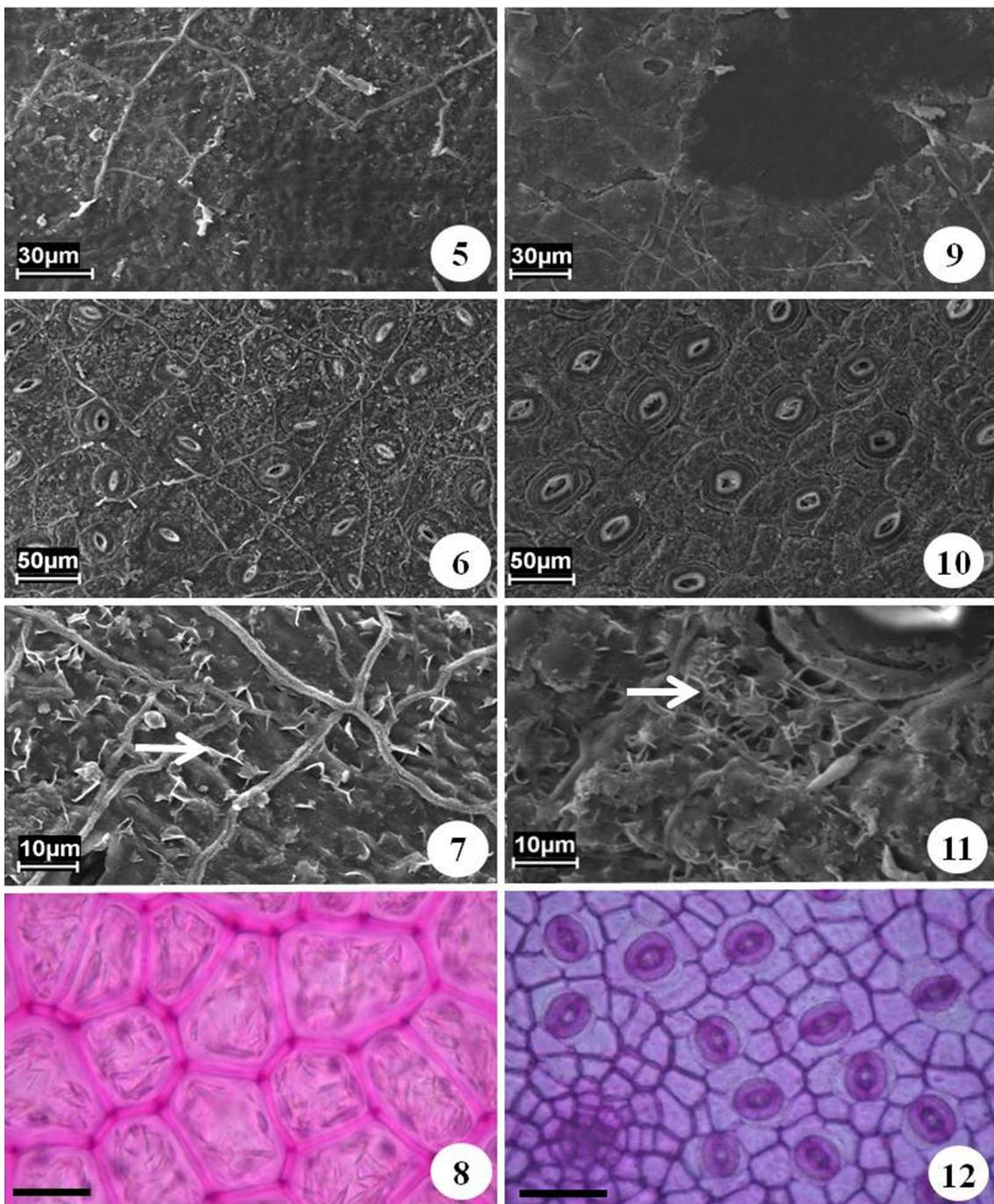
Tabela 2. Teor de flavonoides totais expressos em rutina, obtido por espectrometria no UV-Visível.

Espécies	Teor de flavonoides totais (mg de flavonoide/g de folha seca)
	m* ± dp**
<i>Clusia hoffmannseggiana</i>	18,78 ± 0,27
<i>Clusia hoffmannseggiana</i> (com galhas)	15,13 ± 0,51
<i>Clusia fockeana</i>	3,20 ± 0,24

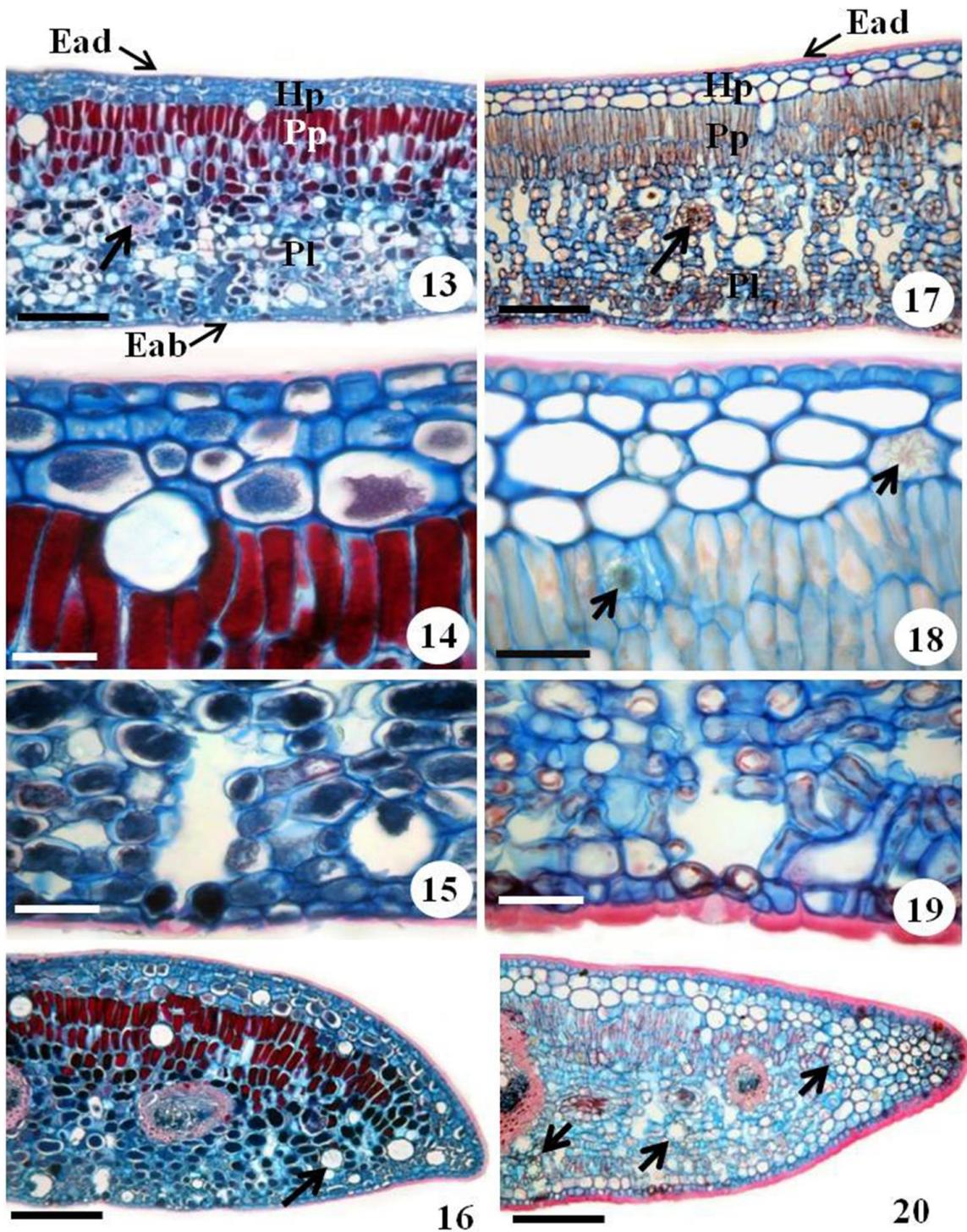
*m: valor médio de 3 determinações; **dp: desvio padrão



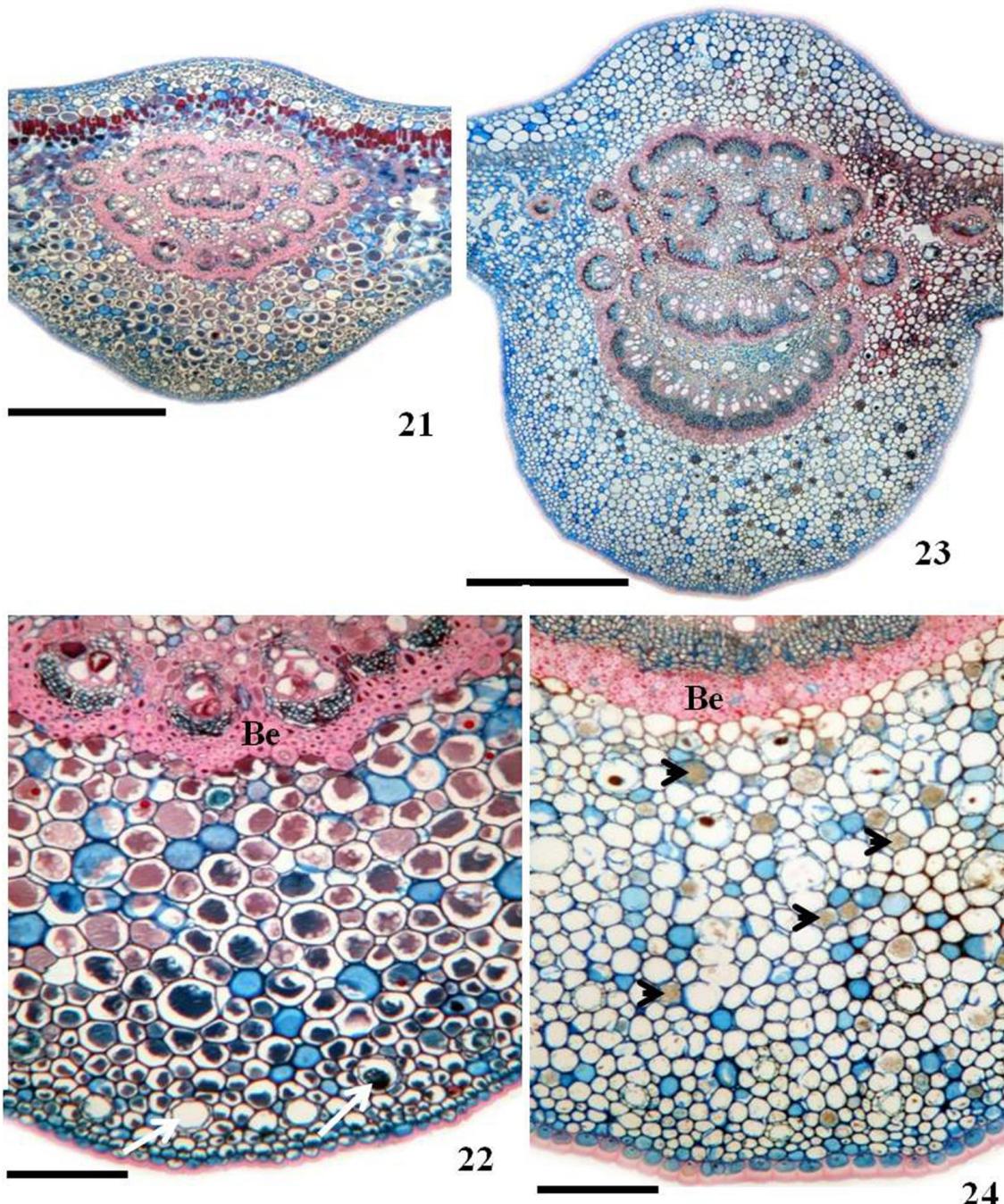
Figuras 1-4: Vista parcial da restinga do Crispim, Marapanim, PA. **1:** Vegetação campo de restinga no Crispim. **2:** Detalhe das folhas de *Clusia fockeana*. **3 e 4:** Detalhe das folhas de *C. hoffmannseggiana*, notar botão floral (seta); **4:** Presença de galhas (seta).



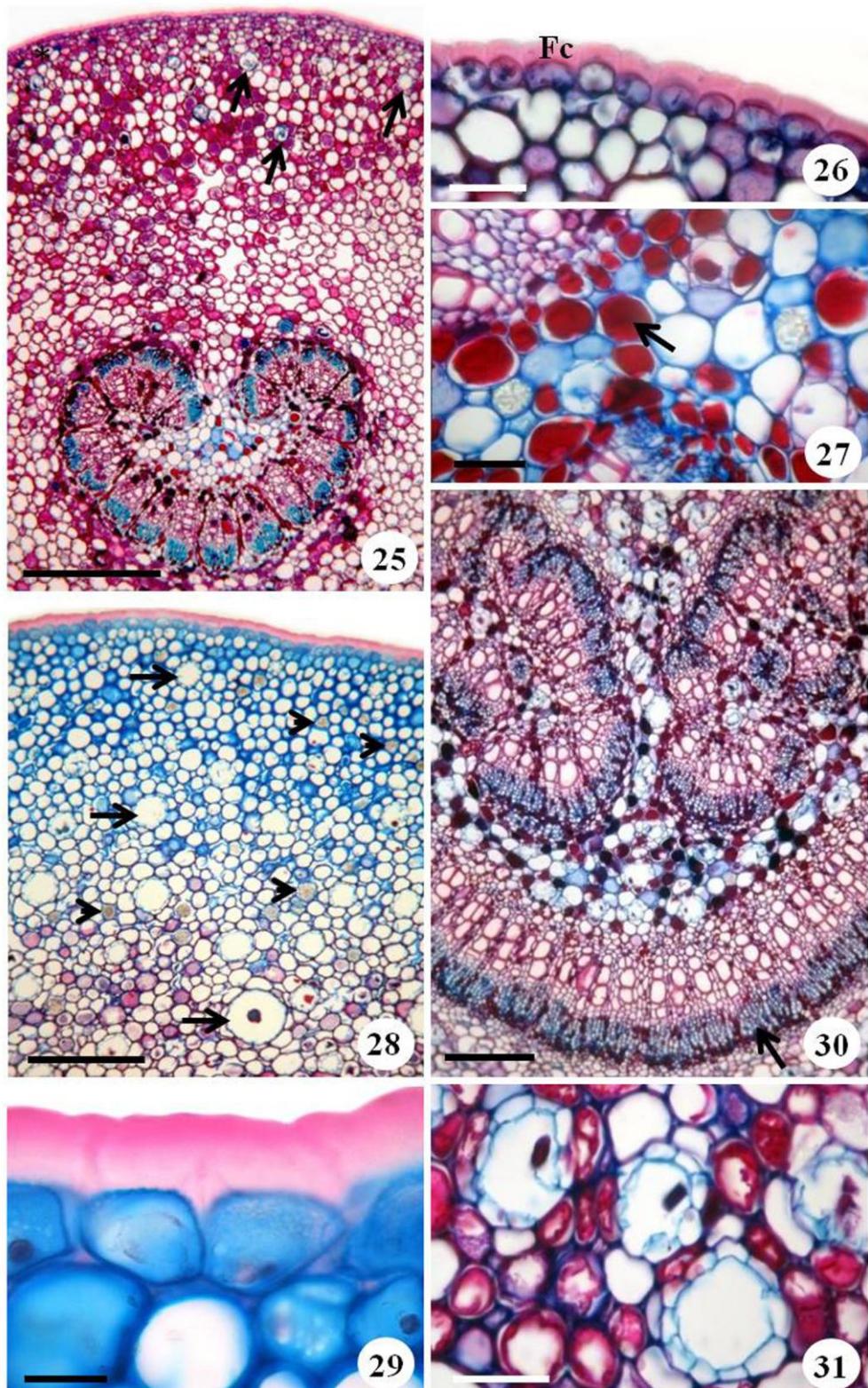
Figuras 5-12: Superfície da lâmina foliar de *Clusia fockeana* (5-8) e *C. hoffmannseggiana* (9-12). **5, 8 e 9:** Face adaxial. **5 e 9:** Detalhe das hifas fúngicas e cera epicuticular granular (5) e em crosta (9). **8:** Detalhe das ráfides. **6,7,10-12:** Face abaxial. **6,10 e 12:** Vista geral mostrando estômatos paracíticos, notar idioblasto (12). **7 e 11:** Detalhe da cera epicuticular em placas verticais (setas) e hifas fúngicas. Figuras 8 (barra=20μm) e 12 (barra=50μm).



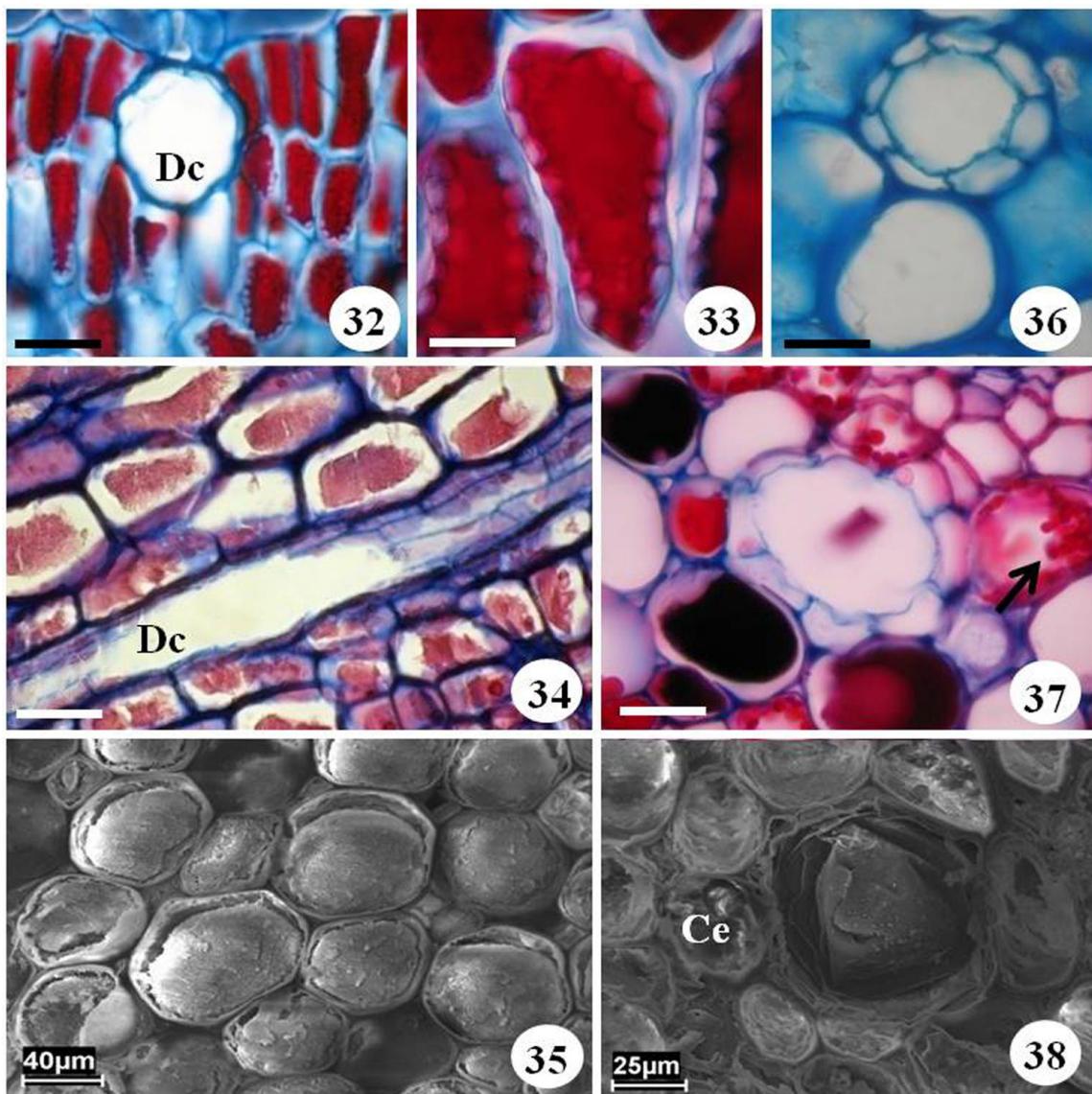
Figuras 13-20: Mesofilo e margem da lâmina foliar de *Clusia fockeana* (13-16) e *C. hoffmannseggiana* (17-20), em secção transversal. **13 e 17:** Visão geral do mesofilo com ductos e feixes vasculares (seta); **14 e 18:** Detalhe da hipoderme, notar tecido secretor (14), drusa (seta) e ducto (18). **15 e 19:** Detalhe do estômato com crista. **16 e 20:** Visão geral da margem, observando ductos (setas). Figuras 13, 16, 17 e 20 (barras=150µm); 14, 15, 18 e 19 (barras=50µm). **Ead:** epiderme adaxial; **Eab:** epiderme abaxial; **Hp:** hipoderme; **Pp:** parêquima paliçádico; **Pl:** parênquima lacunoso.



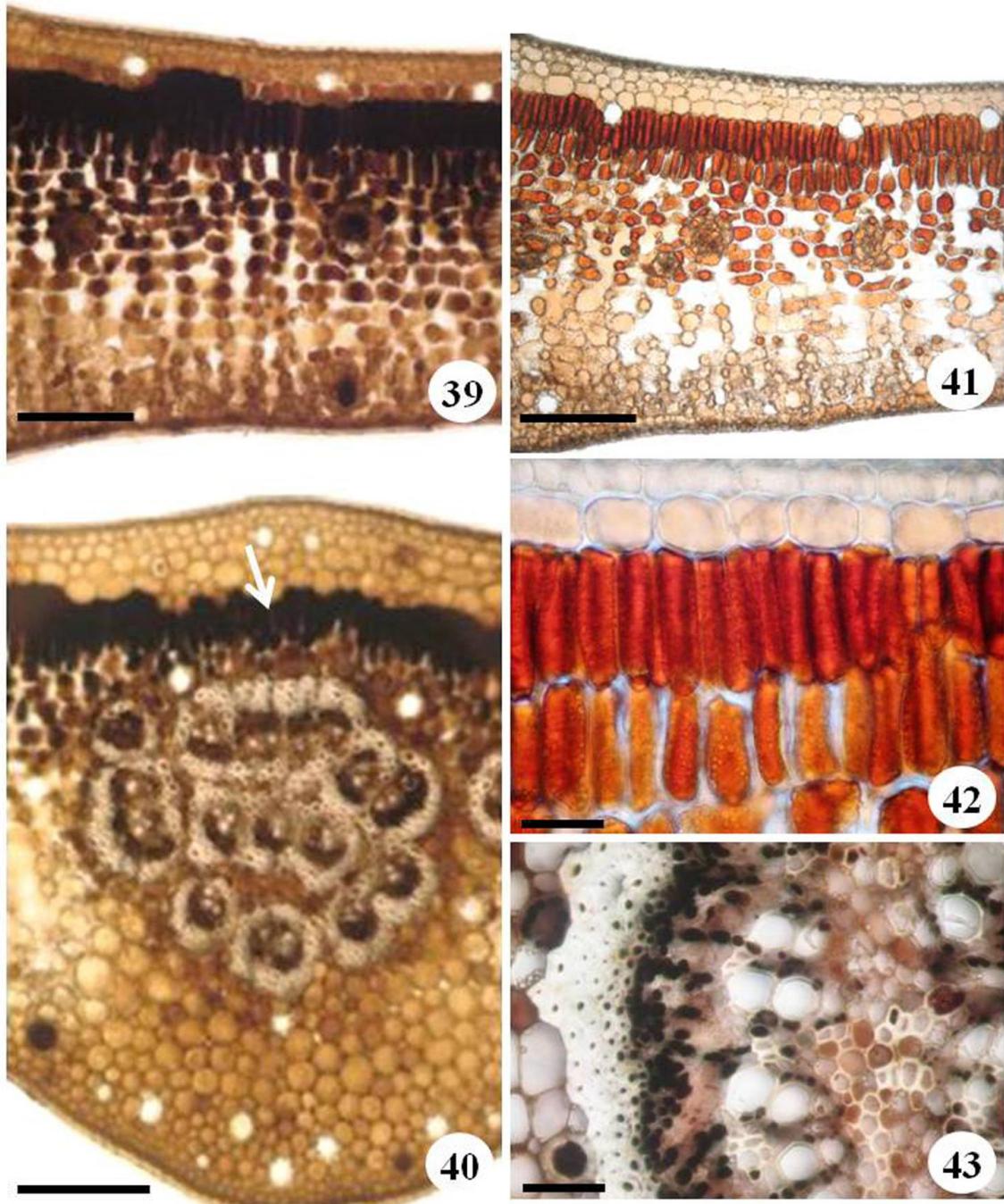
Figuras 21-24: Nervura central de *Clusia fockeana* (21 e 22) e *C. hoffmannseggiana* (23 e 24), em secção transversal. **21** e **23**: Visão geral evidenciando as faces biconvexas, notar maior proeminência da face abaxial em 23. **22** e **24**: Detalhe do córtex evidenciando ductos (setas) enfileirados próximo a epiderme (22) e drusas abundantes em 24 (pontas de seta). Figuras 21 e 23 (barras=200μm); 22 e 24 (barras=150μm). **Be**: bainha esclerenquimática.



Figuras 25-31: Pecíolo de *Clusia fockeana* (25 e 27) e *C. hoffmannseggiana* (26, 28-30) em seção transversal. **25:** Região cortical e vascular, notar os ductos próximos a epiderme (setas). **26:** Detalhe da flange cuticular. **27:** Idioblastos fenólicos na medula (seta). **28:** Região cortical com ductos (setas) e drusas distribuídos aleatoriamente (pontas de seta). **29:** Detalhe da cutícula espessa. **30:** Sistema vascular, notar células com conteúdo fenólico. **31:** Ductos na medula. Figuras 25 (barra=150µm); 26, 27, 29 e 31 (barras=20µm); 29 e 30 (barras=50µm). **Fc:** flange cuticular.



Figuras 32-38: Estruturas secretoras de *Clusia fockeana* (32-35) e *C. hoffmannseggiana* (36-38); 32, 34, 36-38: Ductos. 32 e 36: Margem. 34, 35, 37 e 38: Pecíolo. 34: Em secção longitudinal. 37 e 38: Em secção transversal, notar idioblasto (seta) com conteúdo granuloso (37) e secreção preservada no lume do ducto (38). 33 e 35: Células com conteúdo fenólico no mesofilo (33) e no córtex no pecíolo (35). Figuras 32-34, 36, 37 (barras=20µm).



Figuras 39-43: Fenóis totais (39 e 40) e taninos (41-42) em *Clusia fockeana* e fenóis totais em *C. hoffmannseggiana* (43); **39, 41 e 42:** Mesofilo. **40 e 43:** Nervura central. **40:** Tecido secretor (seta) na região cortical. **41:** Células com taninos no lacunoso. **43:** Idioblastos no sistema vascular, evidenciados pela coloração enegrecida. Figuras 39 e 41 (barras=150 μ m); 40 (barras=200 μ m); 42 e 43 (barras=50 μ m). **Dc:** ducto; **Ce:** célula epitelial.

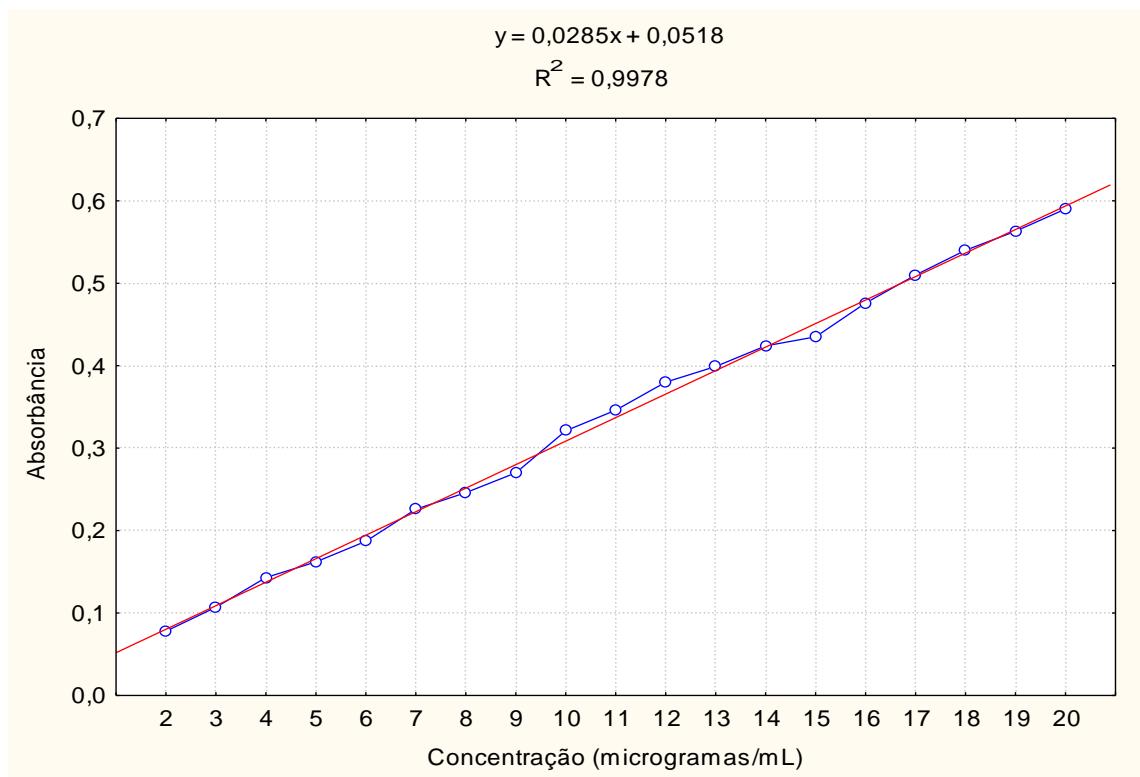


Figura 44. Curva analítica construída com padrão Rutina (2,0 a 20,0 µg/mL) a 420 nm.