

**MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO RIZOMA DE ARUNDO DONAX L.
(POACEAE)****MORPHOANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF THE RHIZOME OF ARUNDO
DONAX L. (POACEAE)****MORFOANATOMÍA E HISTOQUÍMICA DEL RIZOMA DE ARUNDO DONAX L.
(POACEAE)**

10.56238/revgeov17n2-009

Gilberto Dolejal ZanettiInstituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto de Ciências Farmacêuticas**Rinaldo Pires dos Santos**

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Jorge Ernesto de Araujo Mariath

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Roger Remy Dresch

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Rita Cristina Azevedo MartinsInstituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto
de Ciências Farmacêuticas**Cherrine Kelce Pires**Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto
Multidisciplinar em Química**Edison Luis Santana Carvalho**Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto
de Ciências Farmacêuticas**Elaine dos Anjos da Cruz da Rocha**Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto
de Ciências Farmacêuticas**Elaine dos Anjos da Cruz da Rocha**Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto
de Ciências Farmacêuticas

Maria Fernabda Larcher de Almeida

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto de Alimentação e Nutrição

Adriana Oliveira Gomes

Instituição: Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Multidisciplinar UFRJ - Macaé, Instituto de Ciências Farmacêuticas

Magdolna Maria Vozári-Hampe

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Bioquímica

RESUMO

Foram determinados parâmetros morfoanatômicos e histoquímicos do rizoma de *Arundo donax* L., objetivando a diagnose para o controle de qualidade do uso dos rizomas como matéria-prima vegetal. Dentre as características morfo-anatômicas que contribuem para a autenticidade desse órgão, destacam-se: a epiderme uniestratificada com cutícula persistente, o parênquima cortical com grãos de amido, as bainhas de esclerenquima (imediatamente abaixo da epiderme e delimitando a medula), os feixes vasculares (abertos e fechados), tomando disposição atactostélia, e os elementos de vasos com espessamento de parede reticulado. Por outro lado, a ausência de tricomas, cristais de oxalato de cálcio e estruturas secretoras e a presença de flavonóides e saponinas, em fibras esclerenquimáticas, também são usadas na identificação. Todas estas características anatômicas, quando analisadas em conjunto, auxiliam na caracterização do rizoma de *Arundo donax*, em análises de autenticidade.

Palavras-chave: *Arundo donax* L. Poaceae. Rizoma. Morfoanatomia. Histoquímica.**ABSTRACT**

Morpho-anatomical and histochemical parameters from the rhizomes of *Arundo donax* L., were determined aiming the diagnosis for the botanic quality control of the rhizomes of *Arundo donax* as a plant raw material. Among the morpho-anatomical characteristics that contribute for the authenticity of these rhizomes it can be highlighted: the unistratified epidermis with persistent cuticle, the cortical parenchyma with starch grains, the sclerenchyma sheath immediately under the epidermis and still delimiting the central cylinder, the vascular bundles (open and closed ones) taking an actatostelic disposition and the vessel elements with reticulated wall thickenings. On the other hand, it is also remarkable the absence of trichomes, calcium oxalate crystals, secretory structures, and presence of flavonoids and saponins in sclerenchymatics fibres are remarkable. All this anatomic characteristics, when analysed in group, aid in the characterization of results of *Arundo donax* rhizomes in autentitity analysis.

Keywords: *Arundo donax* L. Poaceae. Rhizomes. Morpho-Amatomy. Histochemistry.**RESUMEN**

Se determinaron los parámetros morfoanatómicos e histoquímicos del rizoma de *Arundo donax* L. con el objetivo de realizar un diagnóstico para el control de calidad del uso de rizomas como materia prima vegetal. Entre las características morfoanatómicas que contribuyen a la autenticidad de este órgano, destaca: la epidermis no estratificada con cutícula persistente, el parénquima cortical con granos de



almidón, las vainas esclerenquimatosas (inmediatamente debajo de la epidermis y que delimitan la médula), los haces vasculares (abiertos y cerrados), que presentan una disposición atactostélica, y los elementos vasculares con engrosamiento reticulado de la pared. Por otro lado, la ausencia de tricomas, cristales de oxalato de calcio y estructuras secretoras, y la presencia de flavonoides y saponinas en las fibras esclerenquimatosas también se utilizan en la identificación. Todas estas características anatómicas, analizadas en conjunto, facilitan la caracterización del rizoma de *Arundo donax* en los análisis de autenticidad.

Palabras clave: *Arundo donax* L. Poaceae. Rizoma. Morfoanatomía. Histoquímica.



1 INTRODUÇÃO

No controle de qualidade da matéria-prima vegetal, encontra-se bem estabelecida a importância dos estudos referentes a morfo-anatomia de órgãos de plantas comumente comercializados como insumos vegetais para diversos fins [1,2]. Em decorrência deste fato tem-se, por exemplo, a obrigatoriedade do controle botânico de qualidade de drogas vegetais que são comercializadas pela indústria farmacêutica desde a década de 90 do século passado, conforme rege a portaria 06/95 da Secretaria da Vigilância Sanitária/ Ministério da Saúde, e subsequentes [3].

Os trabalhos de determinação de características botânicas estabelecem parâmetros morfo-anatômicos que auxiliam na identificação e separam uma determinada espécie de outra, possibilitando a autenticidade do material e a determinação de adulterantes. Mesmo quando sob a forma de pó, a planta pode ser padronizada botanicamente e identificada em condições laboratoriais, através de seus elementos histológicos característicos [4]. Neste sentido, o pó de *Panax ginseng* C. A. Meyer e *Panax quinquefolius* L. foi padronizado e, comparando diferentes amostras comerciais com o padrão, pode-se inferir sobre a qualidade dos mesmos [5]. Da mesma forma, com o estudo dos caracteres histofoliares de *Ilex paraguariensis* St. Hil., pode-se chegar a conclusões que permitiram a identificação do pó das folhas desta espécie e de *Mangifera indica* L., planta utilizada como adulterante [6].

Na determinação de características referentes à anatomia funcional de um determinado órgão vegetal, a análise histoquímica é de grande utilidade. As técnicas de histoquímica podem ser empregadas para a realização de um perfil fitoquímico, bem como para otimizar a preparação de extratos vegetais, favorecendo o isolamento de metabólitos, uma vez que as técnicas empregadas sinalizam a localização anatômica dos diversos grupos de compostos químicos. Nos ensaios histológicos, as reações químicas são detectadas microscopicamente, indicando a presença dos metabólitos nos vários tecidos da planta, com alta sensibilidade e reproduzibilidade. As análises histoquímicas estão baseadas, fundamentalmente, em técnicas que promovem a coloração ou precipitação, de uma determinada classe de compostos químicos [7,8]. As precipitações, formação de complexos insolúveis, ocorrem pela formação de sais, por reações ácido/base, e as formações cromáticas pela obtenção de um complexo entre o reagente empregado e um grupo químico específico. Os experimentos são realizados tanto com material fresco como fixado e desidratado, sem qualquer prejuízo dos resultados. Os cuidados necessários com as técnicas histoquímicas estão centrados, fundamentalmente, na polaridade das substâncias utilizadas como substrato para as seções do material botânico [7].

Arundo donax L. (Poaceae) é uma espécie originária do Mediterrâneo e aclimatada no Brasil [9]. Esta planta, conhecida popularmente como cana-do-reino, detém alto grau de adaptabilidade a diferentes condições ecológicas. É vigorosa, perene e prefere solos úmidos, onde forma densos



canaviais, podendo ser hexa ou nonaploide [10,11,12]. É uma planta que apresenta colmos ocos, com 2 a 5 m de altura, e rizomas sólidos. As folhas estão distribuídas, regularmente, até próximo à inflorescência. O afilho rompe a base da bainha foliar, desenvolvendo-se por fora da mesma, o que caracteriza inovações do tipo extravaginais. A panícula possui raque glabra e lemas com longos tricomas. A espigueta está constituída por 2 a 4 flores de glumas agudas trinervadas e pálea com 2/3 do comprimento do lema. O grão de pólen é pequeno, esférico, psilado, caracterizando o tipo comum pulverulento das Poaceae, adaptado para a anemofilia.

O extrato aquoso de *Arundo donax*, obtido por infusão do rizoma, é empregado popularmente como diurético nas afecções das vias urogenitais e, em homeopatia, é utilizado em condições catarrais [13]. Na região da Calabria (Itália), *Arundo donax* é utilizado popularmente como emoliente e cicatrizante [14]. Enquanto que em medicina popular utiliza-se o rizoma de *Arundo donax*, o colmos desta planta é muito usado na produção de instrumentos musicais, como flauta e, por isto, em algumas regiões como na França, é conhecido popularmente por cana-de-música. A planta atinge 20 a 100 toneladas de massa seca por hectare e é cultivada em países como Cuba e França, constituindo uma fonte de biomassa e fibras, que não madeira, utilizáveis principalmente na fabricação de papel [15,16]. No Brasil, *Arundo donax* é cultivado como ornamental e seu rizoma é comercializado para fins medicinais e, algumas vezes, ocorre troca dos insumos farmacêuticos desta planta com os insumos de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw., planta conhecida popularmente como cana-do-brejo.

Este trabalho tem como objetivos a determinação de características morfo-anatômicas e histoquímicas do rizoma de *Arundo donax* L., visando o controle botânico de qualidade desse órgão como matéria-prima para fins industriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Rizomas de *Arundo donax* L. var. *variegata* Vilnorin foram coletados na cidade de Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul. A exsicata, sob registro ICN 144955, foi depositada no Herbário ICN do Instituto de Biociências da UFRGS.

A análise morfológica dos rizomas de *Arundo donax* foi realizada com o auxílio de estereomicroscópio binocular. Para a análise anatômica, porções do rizoma fresco, com 2 x 2 x 2 mm, foram fixadas em solução de glutaraldeído 2% em tampão fosfato, pH 7,2, 0,1 M e conservadas, sob refrigeração, a 4°C por 48h. O material, após lavado em solução tampão fostafo, de mesmo pH e osmolaridade, foi desidratado em série etílica ascendente (10, 30, 50, 70, 90, 100).

Para análise sob microscopia óptica, o material botânico desidratado foi incluído em resina acrílica a base de hidroxietilmetacrilato (Technovit 7100, Kulzer) [17,18]. Seções de 4 µm de espessura foram obtidas em micrótomo de rotação, com o uso de navalha de aço perfil “D”. As seções foram coradas em solução aquosa de Azul de Toluidina 0,05% [19].



Análises histoquímicas foram realizadas em seções transversais do rizoma fresco, obtidas à mão livre com o uso de lâmina de barbear. As seções foram tratadas com os seguintes corante/reagentes: reativo de lugol (IKI), para identificação de amido; Comassie Blue Brilhante R-250, em concentração 0,25% em metanol, para proteínas totais; Sudan III, para identificação de lipídios (óleos voláteis); reativo de Kade, para identificação de cardioativos; nitrato de prata amoniacial 4% em etanol, para isotiocianatos; reagente de Dragendorff, para alcalóides, reagente de Salkowsky, para saponinas; reagente de Shinoda, para flavonóides; KOH a 5%, em etanol, seguido de excitação em luz ultravioleta (340-380 nm), para cumarinas; cloreto férrico 1%, para taninos; solução aquosa de NaOH a 5%, ou vapores de amoníaco, para antracenosídeos; solução aquosa de ácido acético a 6% ou ácido clorídrico a 7%, para identificação de cristais de oxalato de cálcio ou carbonato de cálcio; vapores de ácido acético ou vapores de amoníaco, para antocianinas [7, 20].

As observações, desenhos e fotomicrografias foram realizadas em microscópio óptico de campo claro Leitz Dialux 20EB, equipado com câmara clara, ou microscópio óptico Leica DM, equipado com sistema de fluorescência,

Para a análise em microscopia eletrônica de varredura, o material botânico desidratado foi transferido para acetona pura e processado em aparelho de ponto crítico Balzers CPD 030. Em seguida, o material foi aderido a suporte de alumínio (*stubs*), com o auxílio de fita dupla face de carbono, e metalizado com uma fina camada de ouro (20 nm), em metalizador Balzers SCD 050. As eletromicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6060, sob 20 kV.

3 RESULTADOS

3.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA

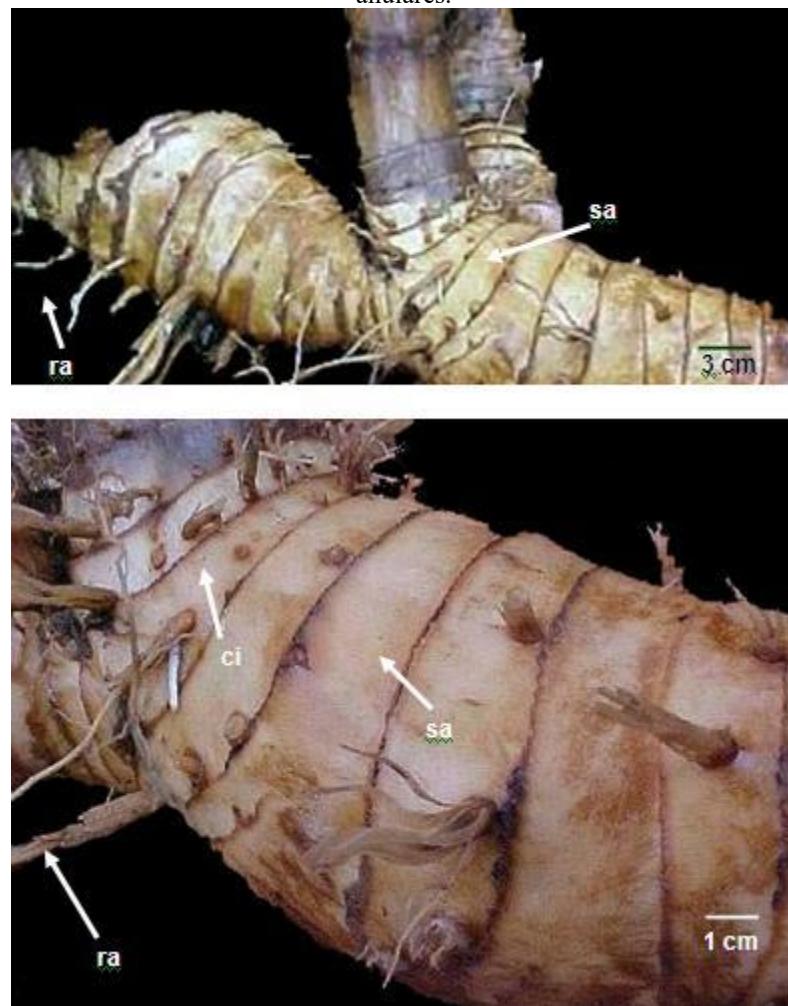
Arundo donax apresenta rizomas predominantemente de cor amarelo-parda a acastanhada, pouco luzidia quando jovem e atingem, em média, 9 (3-12) cm de diâmetro (Fig. 1). O rizoma apresenta perfil cilíndrico, tortuoso, levemente achatado lateral e ventralmente, com numerosas ramificações sinuosas. A superfície do rizoma possui saliências anulares oblíquas, com espaçamento entre 0,5 a 1cm, caracterizando as regiões nodais e internodais. A superfície é lisa quando o órgão é jovem, mas posteriormente mostra, freqüentemente, algumas estrias entre as saliências anulares. Contudo, não possui aspecto piloso ou áspero. O rizoma é, caracteristicamente, muito rígido, apresentando consistência extremamente endurecida e mostram grande resistência a pressões. Raízes adventícias originam-se do rizoma, em profusão. As raízes atingem, em média, 2 a 3mm de diâmetro, apresentando aspecto robusto e coloração mais clara do que a do rizoma. Comumente, a queda destas raízes deixa cicatrizes lenticulares muito evidentes na superfície de todo o rizoma.

As seções transversais do rizoma fresco revelam aspecto bastante lenhoso, com porosidade muito fina coloração amarela-palha. As seções mostram, a poucos milímetros de sua margem, um anel



periférico contínuo e mais claro que, apesar de tênue, separa nitidamente a zona cortical da medular, de cor mais acentuada.

Figura 1. Aspecto geral do rizoma de *Arundo donax* L. Legenda: ra. raízes adventícias; ci. cicatrizes; sa. saliências anulares.



Fonte: Elaborado pelos autores.

3.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Em seção transversal, o rizoma de *Arundo donax* apresenta uma epiderme uniestratificada, contínua e persistente. As células epidérmicas são pavimentosas, com as paredes periclinais maiores que as anticlinais. Apresentam parede celular espessa e encontram-se recobertas externamente por uma cutícula, contínua. Nesta Não foram observados tricomas tectores ou glandulares (Figs. 2A, 2B, 3A e 3B). Além disso, não há a formação de periderme.

Os primeiros estratos corticais do rizoma, logo abaixo da epiderme, formam uma hipoderme constituída, em média, por 3 a 14 camadas de células, na forma de fibras esclerenquimáticas que, sob seção, apresentam diâmetro variável. A parede celular das fibras apresentam espessamento da parede celular secundária mais espessa nos ângulos que mantêm contato com as células vizinhas (Figs. 2A, 2B, 3A e 3B).



Imediatamente abaixo da hipoderme, ocorre um parênquima de reserva (Figs. 2A, 3A, 3B e 3C). As células deste parênquima de reserva, em seção, mostram-se levemente achatadas no sentido radial e possuem parede celular espessa (Figs. 3B e 3C). Esse tecido está constituído por 30 a 50 camadas de células, com espaço intercelular reduzido, caracterizando o tipo meato (Fig. 2A e 3B). As duas primeiras camadas de células parenquimáticas, que se encontram mais próximas da hipoderme, possuem forma isodiamétrica bem definida. Algumas células do parênquima possuem citoplasma rico em grãos de amido (Figs. 2A e 3B). Os grãos de amido são pequenos, ovóides, simples e homogêneos (Fig. 4C).

Após o parênquima cortical, ocorre uma segunda bainha de esclerênquima que é constituída, em média, de 8 a 10 camadas de células, na forma de fibras (Figs. 2A, 3A e 3C). Esta região constitui-se no periciclo. Em contrapartida, a visualização da endoderme, em geral, é muito dificultada o que se deve, possivelmente, ao alto grau de significação desenvolvido pelas células que compõem o periciclo.

Abaixo das fibras pericíclicas, tem-se um parênquima constituindo a região a zona medular do rizoma. Esta região é muito desenvolvida, constituindo a maior parte do caule (Figs. 2A e 3A). O parênquima medular é constituído por células isodiamétricas, com maiores dimensões nas camadas mais profundas do rizoma. Por outro lado, apesar das células parenquimáticas serem maiores do que as células do parênquima cortical, a parede celular das primeiras é mais delgada. Os espaços intercelulares, em todo o parênquima medular, são muito reduzidos, caracterizando o tipo meato (Figs. 2A, 2D, 3A e 3C).

O sistema vascular do rizoma é constituído por feixes vasculares dispersos por todo o parênquima medular, evidenciando uma estrutura atactostélica muito característica.

Na região cortical, os feixes vasculares imersos no parênquima de reserva são do tipo colateral aberto e tem menores dimensões, em seção, que aqueles localizados no parênquima medular. Esses feixes vasculares apresentam, em sua porção periférica, um conjunto de fibras do esclerênquima que, em geral, apresentam 2 a 3 camadas de células com paredes lignificadas espessas. O parênquima do xilema também apresenta células parenquimáticas, menores do que as do entorno, associadas às células condutoras (figuras 2A e 2C).

Os feixes vasculares da região do cilindro central são do tipo colateral fechado, estando protegidos por uma bainha de fibras relativamente bem desenvolvida (figuras 2A e 2D). Estes feixes vasculares aumentão de tamanho à medida que se distanciam do periciclo. Nestes feixes vasculares, as células do xilema encontram-se separadas das fibras por algumas poucas células parenquimáticas internas no feixe vascular (figura 2D). O protoxilema apresenta elementos de vaso de menor diâmetro margeados por células de parede fortemente espessadas. O metaxilema está mais desenvolvido e seus elementos de vaso são grandes, volumosos e com parede celular reticulada (figura 3D). Associadas e, ao seu redor, ocorrem células com parede celular fortemente lignificada. O floema é pouco



desenvolvido e encontra-se separado do xilema por poucas camadas de células levemente alongadas e de parede celular mais espessa. As células do floema são pequenas e apresentam parede celular fina e delicada (figuras 2D e 3A).

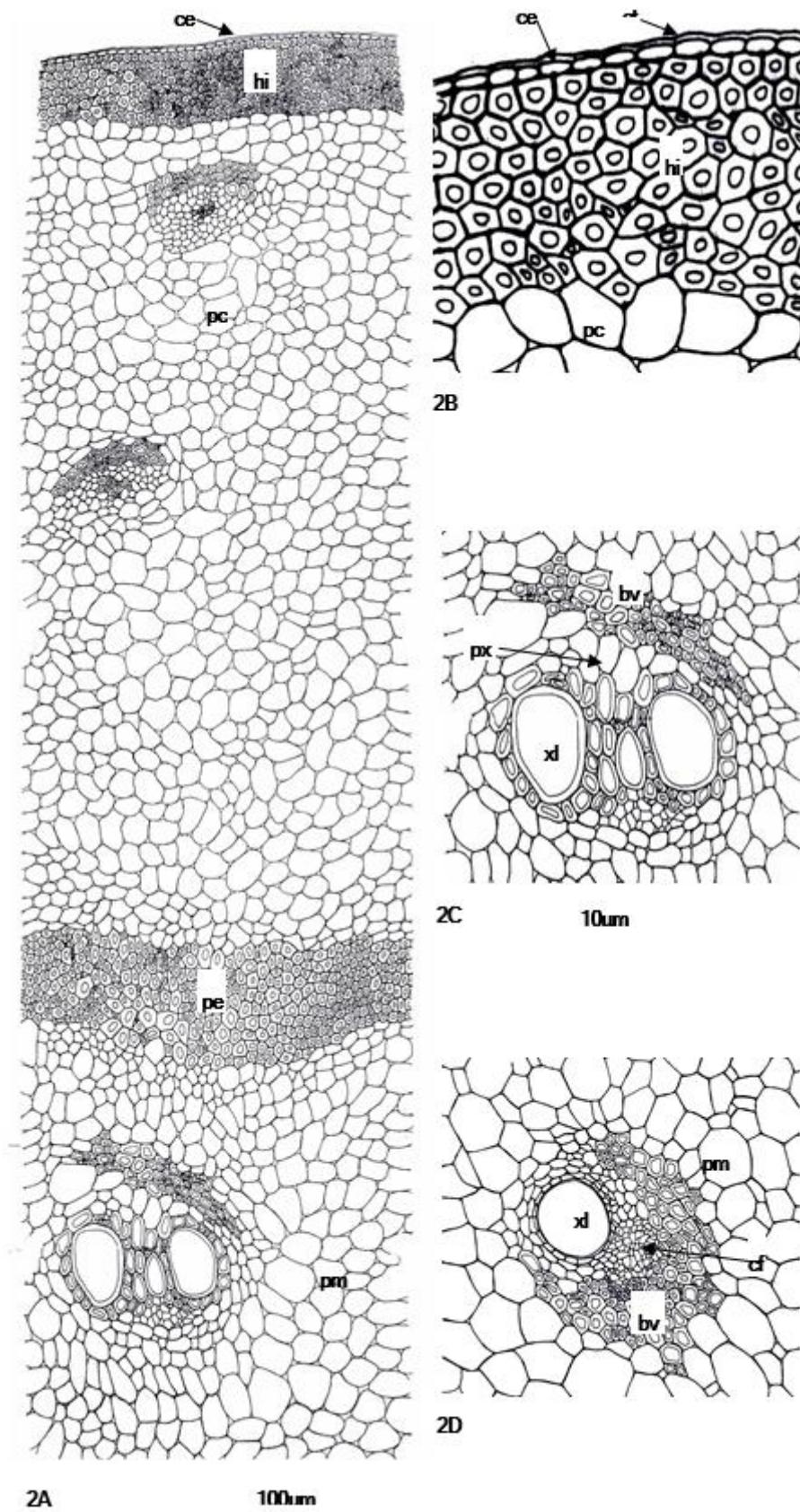
A seção transversal do rizoma revela a ausência de idioblastos contendo inclusões cristalinas como drusas, grãos de areia, monocristais ou ráfides. Também se faz ausente, em todas as regiões destes rizomas, qualquer tipo de células ou cavidades secretoras.

3.3 ANÁLISE HISTOQUÍMICA

A análise histoquímica das seções transversais do rizoma de *Arundo donax* (Fig. 4), permite evidenciar que as células parenquimáticas da região corticale medular, bem como as fibras do esclerênquima, são ricas em proteínas (Fig. 4A). Nessa análise, também ficou evidenciada a presença de alcalóides no parênquima próximo ao periciclo e nos elementos traqueais do xilema (Fig. 4B). A presença de amido foi detectada em poucas células parenquimáticas, dispersas na região cortical (Fig. 4C). Não foi detectada bainha amilífera ou endoderme contendo grãos de amido. Cumarinas encontram-se profundamente no parênquima medular (Fig. 4D). Também foram detectados flavonóides nas fibras esclerenquimáticas do sistema vascular (Fig. 4E), e saponinas nas fibras pericíclicas e nas dos feixes vasculares (Fig. 4F). Não foram detectados cristais de oxalato ou carbonato de cálcio, taninos, cardioativos, antracenosídeos, antocianinas, isotiocianatos e óleos voláteis.

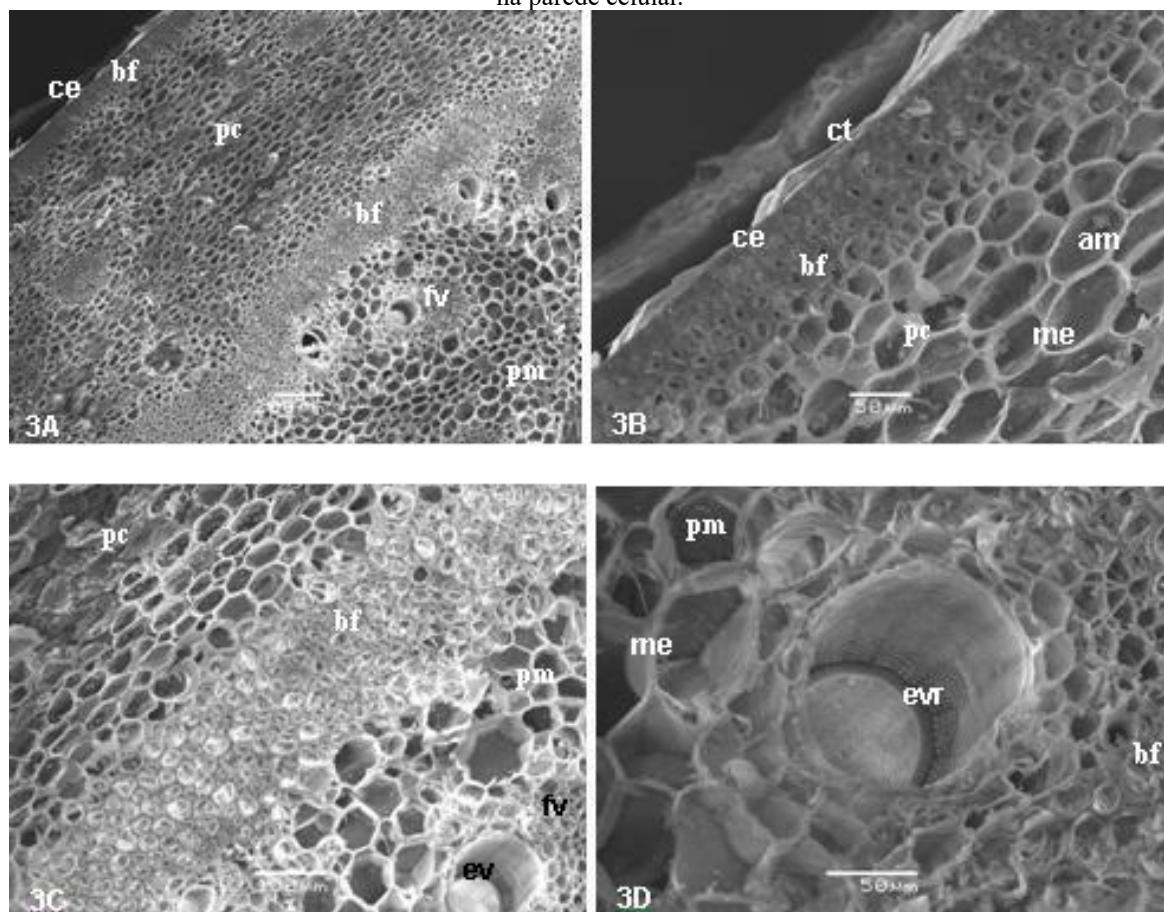


Figura 2. Seção transversal do rizoma de *Arundo donax* L. Fig. 2A. Aspecto geral. Fig. 2B. Região da epiderme e bainha de esclerênquima. Fig. 2C. Detalhe de um feixe vascular colateral aberto. Fig. 2D. Região de um feixe vascular colateral fechado. Legendas: ce. células epidérmicas; hi. Hipoderme; pc. parênquima cortical; pm. parênquima medular; pe. Periderme; fv. feixes vasculares; ct. cutícula; xl. xilema; cf. células do floema; bv. bainha vascular.



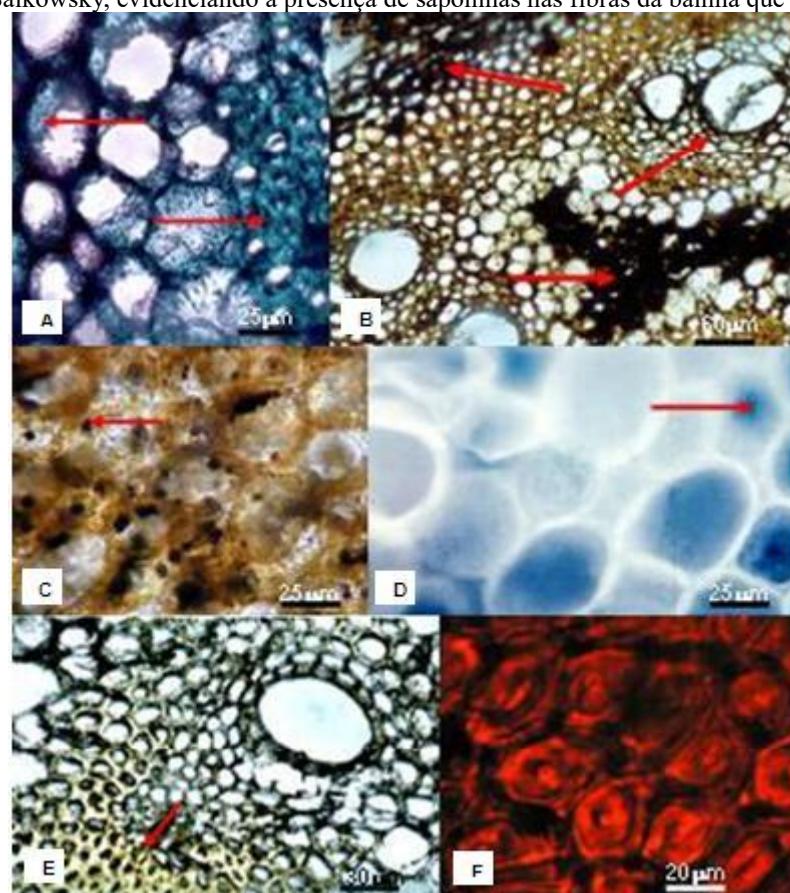
Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 3. Seção transversal do rizoma de *Arundo donax L.* em MEV. Fig. 3A. Aspecto geral. Fig. 3B. Região cortical. Fig. 3C. Região de transição entre córtex e o cilindro central. Fig 3D. Detalhe do xilema no feixe vascular. Legendas: ce. Células epidérmicas; bf. bainha de fibras esclerenquimáticas; pc. parênquima cortical; pm. parênquima medular; fv. feixe vascular; ct. cutícula; am. amido; me. meato; ev. elemento de vaso; evr. elemento de vaso com espessamento reticulado na parede celular.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 4. Seção transversal do rizoma de *Arundo donax* L. Fig. 4A. Coloração com reagente de azul de Comassie brilhante R-250 a 0,25% em metanol, evidenciando a presença de proteínas em células do parênquima e em fibras. Fig. 4B. Coloração com reagente de Dragendorff, evidenciando a presença de alcalóides no parênquima cortical e parênquima da medula, próximo ao periciclo, e elementos de vaso do xilema. Fig. 4C. Coloração com reativo de lugol, evidenciando a presença de grãos de amido no parênquima cortical. Fig. 4D. Coloração com KOH a 5% em etanol e filtro de excitação em luz ultravioleta (340-380 nm), evidenciando a presença de cumarinas no parênquima medular. Fig. 4E. Coloração com reagente de Shinoda, evidenciando a presença de flavonóides nas fibras dos feixes vasculares. Fig. 4F. Coloração pelo reagente de Salkowsky, evidenciando a presença de saponinas nas fibras da bainha que formam o periciclo.



Fonte: Elaborado pelos autores.

4 DISCUSSÃO

Os parâmetros adotados na definição do termo rizoma são discutíveis e estão centrados, basicamente, em questões referentes à ocorrência de material de reserva, o tipo de crescimento e a ontogenia do órgão [21]. No presente trabalho foi assumido o termo rizoma para o órgão subterrâneo de *Arundo donax* L. tomando-se por base a definição de Font Quer (1993), uma vez que esta estrutura apresenta crescimento indefinido do tipo plageotrópico e não geotrópico, exibe nós e entre-nós evidentes, lembra a forma de raízes e possui apenas um estoque reduzido de amido como substância de reserva [22]. Estes quatro caracteres citados acima sustentariam a determinação de rizoma para o caule subterrâneo de *Arundo donax*, sendo que, outra designação que não o termo rizoma para este órgão se sustentaria com estudos ontogenéticos do seu sistema subterrâneo, a partir de sementes.

Na análise morfológica dos rizomas de *Arundo donax* pode ser destacado o diâmetro de até 12 cm e a forma tortuosa, levemente achatada, que este órgão apresenta, mostrando saliências anulares e oblíquas por toda sua extenção. A grande resistência que oferece, e o aspecto liso, por vezes lúcidio,



bem como a cor amarela-parda, são elementos úteis na caracterização deste órgão para a planta em questão. Estas características auxiliam na diferenciação deste rizoma, quando comparado com outros rizomas utilizados como medicinais. Os rizomas de *Imperata brasiliensis* Trin. (Poaceae), por exemplo, também apresentam aspecto rígido e luzidio, como os de *Arundo donax*, porém atingem um diâmetro de apenas 3 a 5 cm, com entre-nós de 0,5 a 1 cm e apresentam cor brancacenta ou amarelo-palha [23], características que os diferenciam dos rizomas de *Arundo donax*. Os mesmos autores destacam os rizomas de *Acorus calamus* L., dentre outras plantas reconhecidas como medicinais, e assinalam que os mesmos possuem saliências oblíquas com 1 a 2 cm de distância, como em *Arundo donax*, porém atingem no máximo 3 cm de diâmetro e apresentam uma superfície rugosa, características estas, diferentes das encontradas em *Arundo donax*.

Na análise microscópica foi detectada que, characteristicamente, drusas e outras inclusões de oxalato de cálcio ou carbonato de cálcio estão ausentes nos rizomas de *Arundo donax*. Este fato pode servir para uma boa orientação na averiguação da autenticidade deste material vegetal. Estruturas de oxalato de cálcio são comuns em famílias de monocotiledóneas como Costaceae Smilacaceae e Comelinaceae [24]. Em *Smilax goyazana* A. DC. (Smilaceae), as células da medula estão repletas de cristais de oxalato de cálcio [25]. Outro exemplo da presença de cristais de oxalato de cálcio em tecidos de rizomas pode ser verificado no gênero *Costus* (Costaceae), [26].

Em todas as regiões do rizoma de *Arundo donax* não foi observada a presença de células e cavidades secretoras. Speck & Spatz (2003) também não assinalaram nenhuma estrutura secretora nestes rizomas [27]. A falta destas estruturas secretoras concorda com os resultados obtidos com a análise histoquímica do presente trabalho eservem como um parâmetro útil na averiguação da autenticidade destes rizomas como matéria prima vegetal.

Na análise microscópica dos rizomas de *Arundo donax* ficou evidente que a epiderme é contínua e persistente, e a cutícula mostrou-se como uma estrutura constante. Em *Smilax goyazana* A. DC. (Smilacaceae), também ocorre uma epiderme uniestratificada associada a uma exoderme esclerificada, porém, diferentemente de *Arundo donax*, esta epiderme apresenta muitos estômatos [25]. Para *Imperata brasiliensis* Trin.(Poaceae), é destacado que as células epidérmicas são irregulares tanto na forma como no tamanho e os espaços intercelulares do parênquima são characteristicamente meatos triangulares [23]. Estas características são distintas das observadas em *Arundo donax*, planta que exibe uma epiderme com células pavimentosas de forma e tamanho muito regular, e meatos que raramente apresentam a forma triangular. Para os rizomas de *Gentiana lutea* L.(Gentianaceae), é destacado uma região suberosa muito espessa [23], e, ao contrário dos rizomas de *Arundo donax*, estes outros não contêm amido. Por outro lado, em toda a estrutura dos rizomas de *Gentiana lutea* L.(Gentianaceae), como em *Arundo donax*, não ocorrem cristais de oxalato de cálcio.



A análise microscópica dos rizomas de *Arundo donax* ficou demarcada uma grande quantidade de células esclerenquimáticas, protegendo os feixes vasculares, formando bainha de fibras significadas constituída por várias camadas. Speck & Spatz (2003) salientam que os rizomas são estruturas conectantes entre as raízes e o caule caracterizando-se como a principal ferramenta de ancoragem dos colmos [27]. Estes autores destacam que o custo real da ancoragem, realizado pelos rizomas, está representado pela produção adicional de um material capaz de fortalecê-los, o que ocorre com o aumento da lignificação destes órgãos.

A endoderme dos rizomas de *Arundo donax*, não é observável, pois sua detecção torna-se muito difícil nos rizomas maduros. Estas características o diferencia de *Alpinia speciosa* L. (Zingiberaceae), que exibe uma endoderme pronunciada [28], bem como ocorre nos rizomas de *Canna edulis* Kerr-Gawler (Cannaceae), que também mostra um córtex com endoderme evidente [21].

Nos rizomas de *Arundo donax*, pode-se observar a presença de protoplasto em algumas fibras, fato muito perceptível com o uso de reagentes como azul de Comassie brilhante R-250 a 0,25% corante de proteínas (figura 3A), sendo que uma grande quantidade de proteínas foi evidenciada, por coloração com azul de Comassie brilhante R-250, nas paredes das fibras esclerenquimáticas, e no citoplasma das células parenquimáticas. Há casos em que algumas fibras, como as que ocorrem em palmeiras (Arecaceae) e no gênero *Sambucus* (Adoxaceae), que mesmo depois de diferenciadas, permanecem com seus protoplastos ativos. Nestes casos, as fibras são caracterizadas pela presença de septos, e pelo acúmulo de substâncias químicas como óleos, amido e cristais [29]. Na parede celular, muito comumente, ocorrem proteínas das quais se destacam as HRGPs (glicoproteínas ricas em hidroxiprolinas), GRPs (proteínas ricas em glicinas), as PRPs (proteínas ricas em prolinas) e ainda as AGPs (proteínas arabinogalactanos) [30]. Todas estas proteínas são estruturais e interferem no estado de defesa das plantas contra patógenos invasores. Em caules e tecidos que sofrem torção, é comum observar no lenho de torção e em sistemas subterrâneos fibras com parede celular muito espessada. A redução do lume acaba por ocasionar, em geral, a perda do protoplasto na maturidade destas células [29]. Este fato não se traduz necessariamente na inatividade da parede celular das fibras, pois são elementos que fornecem principalmente proteção e sustentação aos órgãos onde se fazem presentes. A constituição química que comumente as fibras apresentam em suas paredes celulares, é apontada como elementos que fornecem proteção e sustentação em órgãos como caules, sementes e frutos imaturos. O alto grau de lignificação que estas células atingem é um fator que confere função de proteção ao vegetal, pois as ligninas não são digeridas pelos animais, constituindo, assim, uma forma de defesa para as plantas [29].

Nos ensaios de histoquímica realizados com os rizomas de *Arundo donax* as saponinas foram evidenciadas nas fibras esclerenquimáticas dos feixes vasculares por coloração intensa desenvolvida quando a seção transversal do rizoma foi tratada com o reativo de Salkowsky. Possivelmente, estes



metabólitos apresentam a função de proteção contra a invasão de microrganismos, que eventualmente passam pelos vasos, visto que, geralmente, as saponinas apresentam potente função antimicrobiana [7]. Contudo, não foi encontrado para *Arundo donax*, na literatura pesquisada no presente trabalho, qualquer menção neste sentido. Para alcalóides, os testes de Dragendorff apresentaram resultados positivos e com grande intensidade. Estes resultados concordam com trabalhos de Glosal et al. (1971) que detectaram a presença destes metabólitos nitrogenados em *Arundo donax* [31]. No sistema vascular, em especial nas fibras esclerenquimáticas foi caracterizada a presença de flavonóides, pelo forte desenvolvimento de coloração amarela, apontando um alto grau de conjugação. Os flavonóides, em presença de HCL concentrado e magnésio, desenvolvem cor amarela, por apresentarem um núcleo \square -benzopirona [32]. Para a localização histológica das cumarinas foi utilizado como reagente KOH a 5%. Em meio alcalino, ocorre a abertura do anel lactônico destas estruturas [7]. Este fato propicia um destaque na fluorescência azul quando o material é visualizado em UV.

5 CONCLUSÕES

Dentre as características morfo-anatômicas que contribuem para a autenticidade dos rizomas de *Arundo donax* destaca-se a epiderme uniestratificada e com cutícula persistente, o parênquima cortical com grãos de amido, as bainhas de fibras subjacentes a epiderme delimitando o cilindro central, os feixes vasculares (abertos e fechados) em disposição atactostélica e os elementos de vasos com espessamento reticulado na parede celular. Por outro lado, a falta de tricomas, de cristais de oxalato de cálcio ou de carbonato de cálcio, bem como a falta de estruturas secretoras são marcantes na análise destes rizomas. Por outro lado, a presença de cumarinas, alcalóides, flavonóides e saponinas em regiões específicas dos rizomas de *Arundo donax* contribuem para a caracterização dos rizomas.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Sérgio Bordignon, pelo auxílio na identificação taxonômica das plantas coletadas. À Márcia Vignoli, pela arte final das figuras, a nanquim. Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFRGS e ao Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UFRGS, pelo apoio técnico.



REFERÊNCIAS

- [1] DELAPORTE, R. H., SÁNCHEZ, G. M., CUÉLLAR, A. C. & MELLO, J. C. P. 2001. Control calidad y actividad antiinflamatoria de las drogas vegetales *Alternanthera brasiliiana* (L.) Kuntze y *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 20(1): 39-46.
- [2] DICKISON, W. C. 2000. *Integrative Plant Anatomy*. San Diego: Harcourt Academic Press. 533 p.
- [3] BRITO A. R. M. S. (1996). Legislação de fitoterápicos. In: DI STASI, L. C. *Plantas medicinais: Arte e ciência*. São Paulo: UNESP, cap. 13. p. 187-197.
- [4] JORGE, L. F. & MARKMAN, B. H. O. 1994. Caracterização histológica e química (Cromatografia em camada delgada) de *Plantago tomentosa* Lam. (tansagem). *Revista Brasileira de Farmácia*, 75(1): 10-12.
- [5] NAJERA, M. T., SPEGAZZINI, E. D., ROSELLA, M. A., PFIRTER, G. B., MANDRILE, E. L. 1985. Analítica de *Panax ginseng* Meyer (Araliaceae) y espécies relacionadas. I micrografia. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 4(1): 19-26.
- [6] AMAT, A. G. 1991. Caracteres histofoliares diferenciales de *Ilex paraguariensis* St. Hil. ("yerba mate") y su adulterante *Mandigifera indica* L. (mango). *Acta Farmacéutica Bonaerens*, 10(1): 9-13.
- [7] COSTA, A. F. 1982. *Farmacognosia*. 2nd ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. v. III. 1032 p.
- [8] GATTUSO, M. A. & GATTUSO, S. J. 1999. *Manual de procedimientos para análisis de drogas en polvo*. Rosário: Editora da Universidade Nacional da Rosário. 48 p.
- [9] LORENZI H. & SOUZA, H. M. 1999. *Plantas Ornamentais do Brasil: Arbustivas, Herbáceas e Trepadeiras*. 2nd ed. Nova Odessa: Plantarum. 1088 p.
- [10] WATSON, L. & DALLWITZ, M. J. 1992. *The grass genera of the world*. Cambridge: C. A. B. International. p. 326-329.
- [11] CLAYTON, W. D. & RENVOIZE, S. A. 1986. *Genera graminum. Grasses of the world*. Londres: Her Majesty's Stationery Office. 389 p.
- [12] ROSENGURTT, B., MAFFEI, B. R. A. de & ARTUCIO, P. I. de. 1970. *Gramineas uruguaias*. Montevideo: Universidad de la Republica. 489 p.
- [13] ALZUGARAY, D. & ALZUGARAY, C. 1984. *Flora brasileira*. São Paulo: Três livros e fascículos Ltda. v.1, 152 p.
- [14] PASSALACQUA, N. G., GUARRERA, P. M., FINE, G. 2007. Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia*, (78): 52-68.
- [15] SHATALOV, A. A. & PEREIRA, H. 2002. Carbohydrate behaviours of *Arundo donax* L. in ethanol-alkali medium of variable composition during organo solvent delignification. *Carbohydrate Polymers*, (49): 331-336.
- [16] VERNERSSON, T., BONELLI, P.R., CERELLA, E. G. & CUKIERMAN. 2002. *Arundo donax* cane as a precursor for activated carbons preparation by phosphoric acid activation. *Bioresource Technology*, (83): 95-104.



- [17] GERRITS, P. O. & SMIDT, L. 1983. New, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycolmethacrylate and subsequent preparing of serial section. *Journal Microbiological*, (132): 81-85.
- [18] RUETZE, M.; SCHIMMIT, U. 1986. Glycol-methacrylat (GMA) als einbettungssystem für histologische untersuchungen von koniferen-Nadeln. *European Journal For Pathology*, 16(5-6): 321-324.
- [19] GERLACH, D. 1977. Botanische mikrotechnik. 2nd ed. Stuttgart: Georg-Thieme Verlag. 311 p.
- [20] SASS J, E. 1951. Botanical microtechnique. 2nd ed. Ames: Iowa State University Press. 228 p.
- [21] ALONSO, A. A. & MORAES-DALLAQUA, M. 2004. Morfoanatomia do sistema caulinar de Canna edulis Kerr-Gawler (Cannaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 27(2): 229-239.
- [22] FONT QUER, P. 1993. Dicionário de Botânica. Barcelona: Ed. Labor S.A. v. II. p. 609-1242.
- [23] Oliveira, f., Akisue, g. & AkIsue, m. k. 1991. Farmacognosia. Rio de Janeiro: Ed. Atheneu. 412 p.
- [24] METCALFE, C. R. 1960. Anatomy of the monocotyledons. Gramineae. Londres: Oxford University Press. v. 1. p. 47-51.
- [25] PALHARES, D.; SILVEIRA, C. E. S. 2005. Estudo anatômico de Smilax goyazana A. DC. (Smilacaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 8(1): 52-62.
- [26] MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C. & DIAS, J. E. 1995. Plantas medicinais. Viçosa: Ed. da UFV. 220 p.
- [27] SPECK, O. & SPATZ, H-C. 2003. Mechanical properties of the rhizome of Arundo donax L. *Plant Biology*, (5): 661-669.
- [28] BELL, A. D. & TOM LINSON, P. B. 1980. Adaptative archicteture in rhizomatous plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, (80): 125-160.
- [29] SCATENA, V. L. & SCREMIN-DIAS, E. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 2003. Parênquima, colênquima e esclerênquima. Anatomia Vegetal. Viçosa: Editora UFV. Cap. 4. p. 109-127.
- [30] SHOWALTER, A. M. 1993. Structure and function of plant cell proteins. *The Plant Cell*, (5): 9-23.
- [31] GOSAL, S., CHAUDHURI, R. K. & DUTTA, S. K. 1971. Alkaloids of the flowers of Arundo donax. *Phytochemistry*, 10(11): 2852-2853.
- [32] FARIAS, M. R. 1999. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais.In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G; et al., Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC. Cap. 12. p. 197-220.

