



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LORENA DE MENDONÇA LUCENA

**ANÁLISE COMPARATIVA DE REAGENTES HISTOQUÍMICOS FRENTE A
COLORAÇÃO DE PECTINAS EM ESPÉCIES VEGETAIS**

Recife
2023

LORENA DE MENDONÇA LUCENA

**ANÁLISE COMPARATIVA DE REAGENTES HISTOQUÍMICOS FRENTE A
COLORAÇÃO DE PECTINAS EM ESPÉCIES VEGETAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, na disciplina de TCC 2 ministrada pela Prof^a. Dr^a. Jane Sheila Higino e Prof. Dr. Ricardo Brandão como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Karina Perrelli Randau

Coorientador: Me. Cledson dos Santos Magalhães

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lucena, Lorena de Mendonça.

Análise comparativa de reagentes histoquímicos frente a coloração de pectinas em espécies vegetais / Lorena de Mendonça Lucena. - Recife, 2023. 34 p. : il., tab.

Orientador(a): Karina Perrelli Randau

Coorientador(a): Cledson dos Santos Magalhães

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

1. Pectinas. 2. Espécies vegetais. 3. Família Anacardiaceae. 4. Família Moraceae. 5. Família Myrtaceae. I. Randau, Karina Perrelli. (Orientação). II. Magalhães, Cledson dos Santos. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS CURSO DE BACHARELADO EM
FARMÁCIA

Aprovada em: 18/09/2023

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **KARINA PERRELLI RANDAU**
Data: 18/09/2023 18:23:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Karina Perrelli Randau
(Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de
Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 **HERLAYNE CAROLAYNE CAETANO DA SILVA**
Data: 20/09/2023 10:20:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Herlayne Carolayne Caetano da Silva
(Examinadora)
Universidade Federal de
Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 **ELIZANDRA MARIA DA SILVA**
Data: 20/09/2023 09:00:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Elizandra Maria da Silva
(Examinadora)
Universidade Federal de
Pernambuco

Profa. Dra. Rafaela Damasceno Sá
(Suplente)
Universidade Federal de
Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer imensamente à professora Dr^a. Karina Perrelli Randau, que desde o acolhimento dos calouros, lá em 2018, se mostrou super receptiva. Que na disciplina de Farmacobotânica abriu meus olhos para essa área e despertou meu interesse, muito obrigada por ter aceitado me orientar. Agradeço também ao meu coorientador, Me. Cledson dos Santos Magalhães, que também participou da disciplina de Farmacobotânica. Obrigada por todo conhecimento compartilhado, por sempre ter se mostrado solícito e por toda a ajuda durante a elaboração deste trabalho. Agradeço também à equipe do laboratório por todo acolhimento e conversas, com vocês me senti bem-vinda.

À minha família, vocês são meu tudo. Obrigada por sempre estarem presentes e por me acolherem nos meus momentos difíceis. Mamãe, papai, Romero, Lara, Priscilla, cada um de vocês contribuíram imensamente nessa minha trajetória, me dando broncas quando eu merecia levar broncas, mas principalmente me dando todo suporte emocional que precisei desde pequenininha, até agora. Sei que isso se estenderá para as novas etapas que estão por vir. À minha avó, vó Ia, que não está presente fisicamente, mas com toda certeza está sempre comigo em meus pensamentos e no meu coração. A senhora é e sempre vai ser meu maior exemplo de força. Obrigada por todo lanche de tarde na sua casa (desde o biscoito com refrigerante antes do inglês, até o cafezinho com pão assado no lanche da tarde), obrigada pelos conselhos recheados de experiência, pelo colo e pelos tantos "Deus te abençoe, minha filha". Eu sei e sinto que Ele e a senhora estão me abençoando hoje e sempre.

Aos meus amigos, que tornaram a trajetória mais leve. Pelas horas de estudos juntos, pela convivência no DCFAR, pelos aperreios compartilhados e todas as risadas que tivemos juntos, meu muito obrigada.

Por último e não menos importante, gostaria de agradecer imensamente ao meu namorado, Henrique Miranda, que desde o comecinho da graduação me acompanha, me incentiva e acredita em mim quando muitas vezes eu mesma julgo não ser capaz. Por todos os conselhos, por todo apoio, por ser meu porto seguro, meu muito obrigada.

RESUMO

Os carboidratos mais encontrados na natureza pertencem à classe dos polissacarídeos e trata-se de componentes intrínsecos às espécies vegetais. A pectina é um polissacarídeo estrutural de constituição complexa e heterogênea, muito utilizado nos diversos ramos industriais, seja no ramo alimentício, farmacêutico ou cosmético, por exemplo. Uma maneira de detectar esses compostos pode ser através da técnica de histoquímica, que consiste na utilização de reagentes previamente estabelecidos permitindo a detecção e identificação desses compostos em diferentes localizações do vegetal. O objetivo deste trabalho é realizar a análise comparativa de dois reagentes histoquímicos que podem ser utilizados para a detecção de pectinas. Os cortes foram realizados à mão livre e corados com os reagentes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio para histolocalizar pectinas. Para confirmar a presença de pectinas e excluir a presença de mucilagens, o reagente Ácido Tânico foi utilizado. Os cortes foram fixados em lâmina e avaliados por microscopia óptica, com imagens capturadas por software. Os resultados obtidos mostram depósitos de pectinas em todas as espécies vegetais, exceto na lâmina foliar de *Eugenia uniflora*, divergindo de dados encontrados em literatura. Essa divergência pode estar relacionada a fatores sazonais, alterando a composição da planta, como também pode estar relacionada ao tempo de reação, concentração dos reagentes utilizados, entre outros fatores. Apesar dos dois reagentes utilizados serem capazes de histolocalizar as pectinas, os dados na literatura apontam preferência majoritária pela utilização do Vermelho de Rutênio para detectar pectinas e mucilagens. Dessa forma, o presente trabalho ressalta a importância do entendimento dos reagentes histoquímicos utilizados, o mecanismo de ação envolvidos nessas reações e a otimização do processo de histolocalização de compostos presentes em espécies vegetais.

Palavras-chave: Histoquímica; Anacardiaceae; Moraceae; Myrtaceae.

ABSTRACT

The most common carbohydrates found in nature belong to the class of polysaccharides and are intrinsic components of plant species. Pectin is a structurally complex and heterogeneous polysaccharide, widely used in different industries, including food, pharmaceutical, and cosmetic sectors, for example. Histochemistry is a technique involving the use of pre-established reagents which enables detection and identification of these compounds in different locations within the plant. The objective of this study is to perform a comparative analysis of two histochemical reagents that can be used for pectin detection. The sections were hand-cut and stained with Toluidine Blue and Ruthenium Red reagents to histolocate pectins, and Tannic Acid was used to exclude mucilage presence. Then, the sections were fixed on slides, and evaluated using optical microscopy, with images captured by software. The obtained results reveal deposits of pectin in all plant species, except for the leaf blade of *Eugenia uniflora*, contradicting data found in literature. This discrepancy could be related to seasonal factors, altering plant composition, as well as reaction time, reagents concentration, among other factors. Despite both used reagents being capable of histo-localizing pectins, literature data predominantly indicate a preference for Ruthenium Red to detect pectins and mucilages. Thus, this study emphasizes the importance of understanding the histochemical reagents employed, the mechanisms involved in these reactions, and the optimization of the histo-localization process of compounds present in plant species.

Key words: Histochemistry; Anacardiaceae, Moraceae, Myrtaceae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Estrutura da pectina	13
Figura 2 –	Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Anacardium occidentale</i> L.	23
Figura 3 –	Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Mangifera indica</i> L.	24
Figura 4–	Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	25
Figura 5–	Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	26
Figura 6 –	Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Eugenia uniflora</i> L.	27
Figura 7 –	Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Psidium guajava</i> L.	27

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Informações sobre o reagente Azul de Toluidina.	15
Quadro 2 –	Informações sobre o reagente Vermelho de Rutênio.	15
Quadro 3 –	Informações sobre o reagente Ácido Tânico.	16
Quadro 4 –	Espécies vegetais utilizadas, de acordo com a família a qual pertencem, seus nomes populares e científicos, bem como seus respectivos números de tombamento.	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo geral	11
2.2 Objetivos específicos	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1 Pectina	12
3.1.1 Estrutura	12
3.1.2 Funções da pectina	13
3.1.3 Aplicações da pectina	13
3.2 Histoquímica da pectina	14
3.2.1 Azul de Toluidina	14
3.2.2 Vermelho de Rutênio	15
3.2.3 Ácido Tânico	15
3.3 Espécies Vegetais	16
3.3.1 Família Anacardiaceae R. Br. (<i>Anacardium occidentale</i> L. e <i>Mangifera indica</i> L.)	16
3.3.2 Família Moraceae Gaudich (<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg e <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.)	17
3.3.3 Família Myrtaceae Juss. (<i>Eugenia uniflora</i> L. e <i>Psidium guajava</i> L.)	19
4 METODOLOGIA	21
4.1 Coleta das espécies, identificação botânica e tombamento	21
4.2 Caracterização histoquímica	21
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1 Introdução

O estudo de espécies vegetais e suas diferentes formas de aplicação mostra o quanto o reino vegetal é capaz de fornecer uma variedade de compostos para diversos fins, seja na indústria, na alimentação ou na descoberta de novas tecnologias (Faria, 2012; Rahman *et al.*, 2018).

Para conhecer e analisar as estruturas e os componentes desses vegetais, a técnica de histoquímica é muito empregada. Essa técnica consiste na utilização de reagentes previamente estabelecidos que permitem a visualização de compostos tanto primários quanto secundários dos tecidos vegetais e baseiam-se em reações químicas que emitem coloração e são capazes de identificar e localizar tais compostos, que podem tratar de produtos do metabolismo primário, como proteínas, lipídios e carboidratos até os diversos compostos presentes no metabolismo secundário de uma planta (Dôres, 2007).

Os carboidratos são uma das classes de compostos mais encontrados na natureza e que podem ser subdivididos em polissacarídeos de reserva e polissacarídeos estruturais (Figueiredo *et al.*, 2007). As pectinas são polissacarídeos ácidos com funções estruturais, que são encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares das células vegetais, possuindo importante papel na adesão entre células, conferindo firmeza e resistência mecânica ao vegetal, com papel de destaque em seu crescimento e desenvolvimento (Mohnen, 2008; Paiva *et al.*, 2009).

O estudo histoquímico desse grupo de polissacarídeos consiste em reações ligadas a seus grupamentos carboxilas que têm caráter ácido, o que permite a utilização de diferentes reagentes histoquímicos, dentre eles o Azul de Toluidina e o Vermelho de Rutênio. Uma vez que esses reagentes coram tanto pectinas quanto mucilagens, o reagente Ácido Tânico é capaz de excluir a presença de mucilagens e assim confirmar a histolocalização de pectinas (Figueiredo *et al.*, 2007; Ventrella *et al.*, 2013).

A utilização e avaliação individual desses reagentes é capaz de aperfeiçoar a técnica de detecção de pectinas, otimizando o processo de análise histoquímica, de modo a trazer avanços sob a óptica da pesquisa e compreensão das estruturas vegetais e seus componentes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar análise histoquímica comparativa para detecção de pectinas em espécies vegetais utilizando os corantes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio.

2.2 Objetivos Específicos

- Coletar as espécies vegetais a serem estudadas;
- Realizar a histolocalização de depósitos de pectina nas espécies vegetais utilizando os corantes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio;
- Utilizar o reagente de Ácido Tânico para confirmar a presença de pectina e excluir a presença de mucilagens;
- Analisar e comparar a especificidade dos corantes utilizados.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Pectina

3.1.1 Estrutura

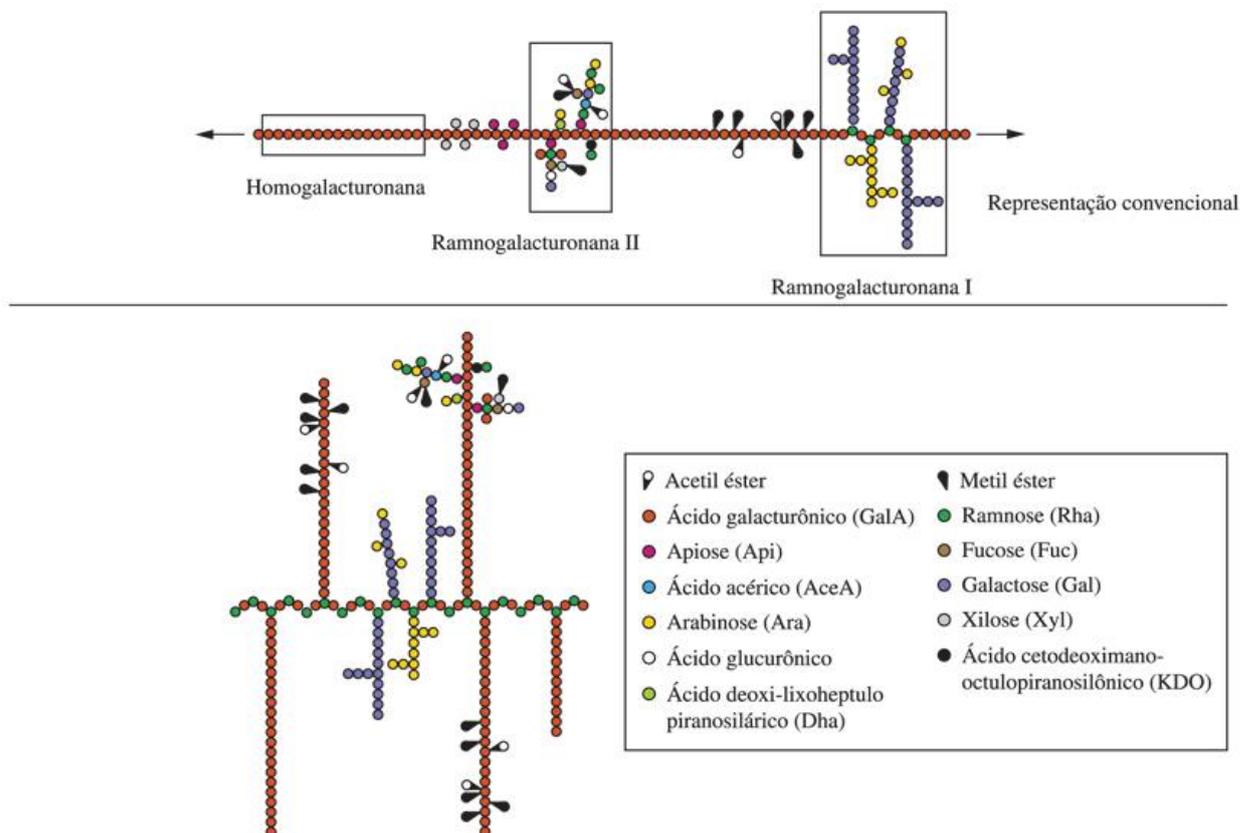
As pectinas são classificadas como polissacarídeos ácidos formadas por unidades de ácido galacturônico unidas entre si por ligação do tipo α -(1-4) (Mohnen, 2008). Em relação a sua estrutura, dividem-se em três grupos principais: homogalacturonanas (HG), ramnogalacturonanas tipo I (RG-I) e ramnogalacturonanas tipo II (RG-II), mas também podem possuir em sua composição xilogalacturonana (XGA) e apiogalacturonana (AP), sendo essas últimas encontradas em plantas aquáticas, como pode-se observar na Figura 1 (Caffall; Mohnen, 2009).

As homogalacturonanas são compostos homopoliméricos lineares compostos de unidades de ácido D-galactosilurônico (D-GalpA) α -(1→4) ligadas entre si, representando cerca de 60% das pectinas nas paredes celulares vegetais (Ridley *et al.*, 2021). A depender da espécie, alguns de seus grupamentos carboxílicos podem apresentar metil esterificação na posição O-6 ou acetil esterificação nas posições O-2 e O-3. A cadeia principal da homogalacturonana costuma ligar-se a porções de ramnogalacturonanas tanto do tipo I, quanto do tipo II, como também a hemiceluloses (Caffall; Mohnen, 2009).

A porção ramnogalacturonana tipo I constitui de 20% a 35% das pectinas, que possuem cadeia principal contendo unidades repetitivas de ácido D-galactosilurônico e L-ramnose, em que a primeira costuma ser acetilada em O-2 e O-3, enquanto a segunda apresenta substituições principalmente nas posições O-4 e menos frequentemente, na posição O-3 (Ridley *et al.*, 2001).

As ramnogalacturonanas tipo II constituem cerca de 10% das pectinas, sendo o polissacarídeo péctico mais complexo, com presença de açúcares raros e ligações glicosídicas que geram funções importantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Paulsen; Barsett, 2005; Atmodjo *et al.*, 2013). Sua estrutura consiste em uma cadeia linear e homogênea formada por ligações D-GalpA α -(1→4), com quatro cadeias laterais diferentes (Atmodjo *et al.*, 2013). Sua forma mais predominante é na forma de dímero, em que o elemento químico boro é capaz de formar dímeros de ramnogalacturonanas tipo II entre os OH-2 e OH-3 de cada subunidade monomérica, sob a forma de diéster de borato (Ridley *et al.*, 2001).

Figura 1 - Estrutura da pectina



Fonte: (Canteri *et al.*, 2012)

3.1.2 Funções da pectina

As pectinas são polissacarídeos estruturais de caráter ácido, encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares das células vegetais, possuindo um papel importante na adesão entre células, conferindo firmeza e resistência mecânica ao vegetal, com papel de destaque em seu crescimento e desenvolvimento (Paiva *et al.*, 2009). São capazes de conferir porosidade à parede celular, capacidade de ligação a íons, permitir o crescimento do tubo polínico, possibilitar a hidratação de sementes, além de ser responsável por fazer a abscisão de folhas e participar do desenvolvimento do fruto (Ridley *et al.*, 2001; Willats *et al.*, 2001).

3.1.3 Aplicações da pectina

A complexidade de sua estrutura confere funções únicas que fornecem multiplicidade à sua utilização nos diferentes setores industriais: farmacêutico,

cosmético, alimentício, etc. Na indústria farmacêutica, podem ser utilizados como atenuantes nos níveis de glicose e colesterol, como agente para produção de cápsulas de liberação sustentada além de ser também agente emulsionante e matéria-prima para engenharia de tecidos, preparação de membranas utilizadas para fabricação de lentes de contato e cateteres, entre outras funções (Freitas *et al.*, 2021). Na indústria de cosméticos, confere textura e consistência a pomadas e cremes, e por sua propriedade espessante e estabilizadora, é utilizada na produção de xampus e loções (Lebreton-Decoster *et al.*, 2011). Na indústria alimentícia, é utilizada na fabricação de geleias, compotas, conservas, bebidas lácteas e diversos outros produtos (Voragen *et al.*, 2009).

3.2 Histoquímica da pectina

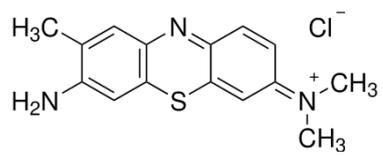
A partir da histoquímica é possível analisar as estruturas e os componentes desses vegetais. Para isso, utilizam-se reagentes histoquímicos previamente estabelecidos que permitem a visualização de compostos tanto primários quanto secundários dos seus tecidos. Os métodos histoquímicos baseiam-se em reações cromogênicas que permitem a visualização de diversos componentes, como proteínas, lipídios e carboidratos (Dôres, 2007). Com relação a esses últimos, os carboidratos mais encontrados na natureza pertencem à classe dos polissacarídeos. Estes subdividem-se em polissacarídeos de reserva (como o amido e glicogênio) e polissacarídeos estruturais (celulose, quitina e pectinas) (Figueiredo *et al.*, 2007).

A visualização dessas reações depende de fatores como: tempo de coloração, concentração do corante e características do tecido a ser avaliado, que pode variar de acordo com a espécie vegetal (Brandizzi, 1999).

3.2.1 Azul de Toluidina

Corante histoquímico catiônico, que por essa característica liga-se a componentes aniônicos e que por ser um reagente metacrômico, é capaz de fornecer dois espectros de reações com cores diferentes: entre lilás e rosa ou entre azul e verde (Cardoso *et al.*, 2009). Capaz de corar mucilagens e pectinas de roxo, paredes celulósicas de azul e paredes lignificadas e compostos fenólicos não estruturais de verde, sendo as primeiras de verde claro e as segundas de verde escuro, respectivamente (Ventrella *et al.*, 2013). Sua estrutura, fórmula molecular e número de CAS (Chemical Abstracts Service) é detalhado no Quadro 1.

Quadro 1 – Informações sobre o reagente Azul de Toluidina

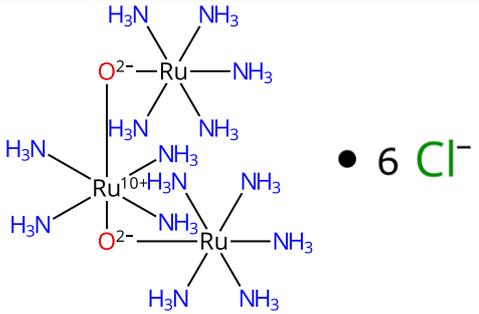
Estrutura	Fórmula Molecular	CAS
	$C_{15}H_{16}ClN_3S$	92-31-9

Fonte: (Sigma-Audrich, 2023)

3.2.2 Vermelho de Rutênio

Trata-se de um corante histoquímico policatiónico que se liga nos espaços intramoleculares de grupos carboxilas da pectina, de modo que o oxigênio carboxílico de uma fração de galacturonona liga-se a um oxigênio hidroxila de uma galacturonona vizinha (Sterling, 1970; Retamales; Scharaschkini, 2014). As pectinas podem corar de rosa a vermelho, a depender dos sítios de ligações disponíveis (Ventrella *et al.*, 2013). O Vermelho de Rutênio também é capaz de corar mucilagens vegetais, principalmente nas angiospermas em que a maioria dessas mucilagens são ácidas (Figueiredo *et al.*, 2007). Sua estrutura, fórmula molecular e número de CAS é detalhado no Quadro 2.

Quadro 2 - Informações sobre o reagente Vermelho de Rutênio

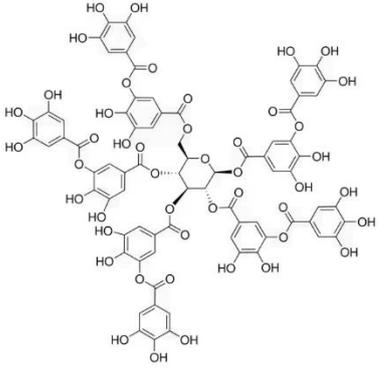
Estrutura	Fórmula Molecular	CAS
	$[(NH_3)_5RuORu(NH_3)_4ORu(NH_3)_5]Cl_6$	11103-72-3

Fonte: (Sigma-Audrich, 2023; Sci-Finder, 2023)

3.2.3 Ácido Tânico

O ácido tânico trata-se de um corante histoquímico capaz de detectar mucilagens, e a visualização da reação ocorre com auxílio do cloreto férrico, seja em cortes fixados em FAA ou não (Pizzolato; Lillie, 1973). O resultado é a formação de precipitado escuro, com as mucilagens corando em negro (Figueiredo *et al.*, 2007).

Quadro 3 - Informações sobre o reagente Ácido Tânico

Estrutura	Fórmula Molecular	CAS
	$C_{76}H_{52}O_{46}$	1401-55-4

Fonte: (Sigma-Audrich, 2023)

3.3 Espécies vegetais

3.3.1 Família Anacardiaceae R. Br. (*Anacardium occidentale* L. e *Mangifera indica* L.)

A família Anacardiaceae possui cerca de 80 gêneros e mais de 800 espécies, sendo predominante em regiões tropicais, subtropicais e até regiões temperadas, ocorrendo em ambientes desde secos a úmidos (Kubitzki *et al.*, 2010). No Brasil, essa família está presente em todas as regiões do país (norte, nordeste, sul, sudeste e centro-oeste), com presença nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Pântano e Pantanal (Silva-Luz *et al.*, 2023). Apresentam-se sob a forma de árvores e arbustos, com tecidos e órgãos vegetais com ductos de resina, presentes no floema de pecíolo, nas nervuras calibrosas das folhas, nas flores, frutos e em outros tecidos (Simpson, 2010; Silva-Luz *et al.*, 2023;).

Várias espécies da família Anacardiaceae possuem importância econômica, seja por causa da sua madeira, dos frutos ou das sementes que produzem, dentre elas manga (*Mangifera indica* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), cajá (*Spondias mombin* L.), entre outras (Lorenzi *et al.*, 2015; Mitchell *et al.*, 2022). Compostos da família Anacardiaceae possuem aplicação industrial, cosmética, no ramo de corantes têxteis e da nutrição, além de serem culturalmente importantes (Mitchell *et al.*, 2022). O estudo fitoquímico desta família revelou a presença de compostos como terpenos, quinonas, flavonóides e taninos, por exemplo (Correia *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2022).

A espécie *Anacardium occidentale* L., popularmente conhecida como cajueiro, é encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (Vergara *et al.*, 2010). Possui grande importância econômica, uma vez que a partir do fruto e do pedúnculo é possível obter aproveitamento tanto *in natura* quanto ser utilizado na fabricação de sucos e aguardente, no processo de curtimento do couro, além de possuir outras aplicações na indústria, na medicina e na confeitaria (Dendena; Corsi, 2014; Azam-ali; Judge, 2001).

Como propriedades medicinais, destacam-se: efeito endócrino e contra doenças metabólicas como a diabetes, doenças digestivas como gastrite, ter propriedades hipotensivas, além de possuir atividade analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antidiarreica, antimicrobiana, antifúngica, atuar como cicatrizante, dentre outras propriedades (Oliveira *et al.*, 2022; Novaes; Novaes, 2021; Da Silva *et al.*, 2020; Padilha *et al.*, 2020).

Outro exemplo de espécie de grande importância da família Anacardiaceae é *Mangifera indica* L., popularmente conhecida como mangueira. Essa espécie exótica está presente em todo o território brasileiro, destacando-se nas regiões Nordeste e Sudeste, sendo predominante nesta primeira região, devido ao clima favorável para seu desenvolvimento (Silva Sobrinho *et al.*, 2019).

De grande importância econômica, a manga é uma das frutas que mais se exporta no Brasil, com consumo *in natura*, produção de polpa, néctar, geleia, bebidas prontas para servir, balas, entre outros (Tharanathan *et al.*, 2006). É conhecida por ser fonte de micronutrientes, vitaminas, fibras, proteínas, compostos fenólicos e possuir propriedades antioxidantes, antidiabéticas, antiviral, anti-helmíntica, antidiarreica, hepato e gastroprotetora, além de apresentar propriedade imunomoduladora (Shah *et al.*, 2020).

3.3.2 Família Moraceae Gaudich (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg e *Artocarpus heterophyllus* Lam.)

A família Moraceae abrange cerca de 40 gêneros e mais de 1000 espécies, com distribuição geográfica nas regiões temperadas e tropicais (Pederneiras *et al.*, 2023). No Brasil, encontra-se principalmente no norte, nordeste, sudeste e sul, abrangendo os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Romaniuc *et al.*, 2015). Um fator comum das espécies

dessa família é a presença de laticíferos e seiva leitosa em tecidos parenquimatosos e são exemplos de espécies: o figo (*Ficus carica* L.), fruta pão (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) e a jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) (Somashekhar *et al.*, 2013).

As espécies supracitadas possuem grande importância econômica, uma vez que estão envolvidas na produção de papel, borracha e madeira, por exemplo (Simpson, 2010). O figo pode ser consumido *in natura*, secos, cristalizados, transformados em geleias e a madeira também é utilizada, além de serem plantas ornamentais (Francis, 2004). Em relação à fruta pão e a jaca, pertencentes ao gênero *Artocarpus* J.R.Forst. & G.Forst., possuem uso comercial ainda mais amplo. Na indústria alimentícia, podem ser processados de forma a serem consumidos em conserva, geleia, gelatina, pasta, doces, utilização na confeitaria, etc.; a madeira pode ser aproveitada para construção de móveis, na construção civil, fabricação de instrumentos e remos; o látex pode ser utilizado em vernizes e colas, entre outros usos (Jagtap; Bapat, 2010).

O gênero *Artocarpus*, que abrange as espécies *A. altilis* e *A. heterophyllus*, tem como metabólitos secundários majoritários: flavonóides, terpenos e fitoesteróis, além de outras classes de compostos fenólicos, como o estilbeno e quinonas. Por causa disso, desempenham certas atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antimalárica, despigmentante, anticoagulante, hipoglicemiante, etc. (Jagtap; Bapat, 2010; Pereira; Kaplan, 2013).

Na medicina tradicional, as folhas costumam ser utilizadas para tratar febre, feridas de pele e furúnculos; frutos jovens são usados como adstringente e os maduros são conhecidos por ter atividade laxativa e afrodisíaca; as sementes causam constipação e têm ação diurética. A madeira é usada como antidiabética e anti-inflamatória, enquanto o látex é usado como agente antibacteriano e a raiz utilizada para febre, diarreia e asma (Somashekhar *et al.*, 2013).

A polpa da fruta de *A. altilis* é utilizada para o fígado, as folhas para tratar cirrose hepática, possui ação citotóxica e inibidora de catepsina, hipertensão e diabetes. Além disso, os frutos, casca do tronco e broto também possuem atividade citotóxica e inibidora de catepsina. As raízes de *A. heterophyllus* são utilizadas em casos de diarreia e febre, as folhas como vermífugo, tratamento de úlceras e cicatrização de feridas e cascas em caso de diarreia, tosse, dermatite e asma (Jagtap; Bapat, 2010; Pereira; Kaplan, 2013).

3.3.3 Família Myrtaceae Juss. (*Eugenia uniflora* L. e *Psidium guajava* L.)

A família Myrtaceae compreende mais de 140 gêneros e cerca de 6000 espécies de árvores e arbustos com frutas comestíveis em áreas tropicais e subtropicais, e quase todas as espécies dessa família possuem óleos voláteis (Flora e Funga do Brasil, 2020; Simões, 2007). No Brasil, é uma das famílias mais bem representadas, com ocorrência na Mata Atlântica de encostas, Floresta Amazônica, Restinga e Cerrado. A espécie *Psidium guajava* L. possui distribuição geográfica em todas as regiões do país, enquanto *Eugenia uniflora* L. concentra-se principalmente nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul (Morais; Conceição; Nascimento, 2014). Essas duas espécies são economicamente importantes, uma vez que podem ser utilizadas na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (Saber *et al.*, 2023).

A pitanga (*E. uniflora*), fruto da pitangueira geralmente é consumida *in natura* ou utilizada no preparo de sucos e na indústria pode ser aproveitada para a fabricação de polpa congelada, picolé, sorvete, compotas, suco engarrafado, geleia, iogurte, licor e cosméticos (Lira Júnior *et al.*, 2007; Santos, 2019). O óleo essencial da pitanga contém principalmente terpenos em sua composição, conferindo-lhe atividade antimicrobiana e antioxidante (Auricchio; Bacchi, 2003; Stefanello *et al.*, 2011). As suas folhas contêm compostos fenólicos tais quais flavonóides, terpenos e antraquinonas que são explorados na medicina tradicional por possuírem ação antidiarreica, antibacteriana, antihipertensiva e agir contra distúrbios estomacais, gripe e reumatismo (Santos, 2019; Siqueira, 2022; Cruz; Kaplan, 2012).

A goiabeira (*P. guajava*) é uma planta que tem diversas partes exploradas na medicina tradicional, uma vez que os extratos das raízes, folhas, da casca e do fruto são amplamente utilizados para tratar tosse, diarreia, gastroenterite e patógenos intestinais, ferimentos e desordens menstruais. Essa utilização está relacionada à fitoquímica da espécie, que possui em sua composição flavonóides, carotenóides, terpenóides e terpenos (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2008; Cruz; Kaplan, 2012).

Além disso, estudos farmacológicos demonstraram sua capacidade antioxidante, hepatoprotetora, antiespasmódicas e antitussígena, reforçando assim o seu uso tradicional (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2008). Seu fruto é fonte de macro e micronutrientes que a tornam de grande interesse tanto para consumo *in natura* quanto para a indústria de alimentos, sendo utilizados para fabricar sucos

processados, produtos enlatados, desidratados, em forma de pastas, doces e elaboração de sobremesas (Santos, 2019; Singh, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta das espécies, identificação botânica e tombamento

O material vegetal consistiu nas folhas das espécies *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, *Artocarpus heterophyllus* Lam., *Anacardium occidentale* L., *Eugenia uniflora* L., *Mangifera indica* L. e *Psidium guajava* L., que foram coletadas e encaminhadas ao Herbário Dárdano de Andrade Lima, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), para devida identificação botânica e respectivo tombamento. Cada espécie recebeu sua numeração de tombamento, como indica o quadro abaixo (QUADRO 1).

Quadro 4 - Espécies vegetais utilizadas, de acordo com a família a qual pertencem, seus nomes populares e científicos, bem como seus respectivos números de tombamento.

FAMÍLIA	ESPÉCIES	TOMBAMENTO
Anacardiaceae	Caju (<i>Anacardium occidentale</i>)	89979
	Manga (<i>Mangifera indica</i>)	91429
Moraceae	Fruta pão (<i>Artocarpus altilis</i>)	91180
	Jaca (<i>Artocarpus heterophyllus</i>)	91181
Myrtaceae	Goiaba (<i>Psidium guajava</i>)	88150
	Pitanga (<i>Eugenia uniflora</i>)	88149

Fonte: Dados de pesquisa (2023)

4.2 Caracterização histoquímica

Após identificação e tombamento, as espécies vegetais passaram pelo processo de análise histoquímica. Para tal, secções transversais da lâmina foliar foram obtidas à mão livre com auxílio de lâmina de barbear comum e como suporte, utilizou-se a medula do pecíolo de embaúba (*Cecropia sp.*).

Para identificação de pectinas, foram utilizados os reagentes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio. Para confirmar a presença de pectinas e excluir a presença de mucilagens, o Ácido Tânico foi utilizado. Deste modo, as pectinas coram de rosa a lilás com o Azul de Toluidina, e de rosa a vermelho com o Vermelho de Rutênio. Já o Ácido Tânico cora mucilagens em negro. Cabe destacar que o reagente Vermelho de Rutênio deve ser preparado logo antes das análises, e que o tempo de exposição a cada reagente foi de dez minutos.

Além disso, em paralelo aos testes histoquímicos das espécies foram realizadas lâminas semipermanentes sem adição de reagentes para servir de controle, de acordo com procedimentos usuais de histoquímica vegetal (Johansen, 1940; Sass, 1951).

A análise contou com microscopia óptica (Leica DM750M), acoplado a câmera digital (Leica ICC50W), através da qual foram obtidas imagens processadas em software (LAS EZ) (Sá *et al.*, 2019).

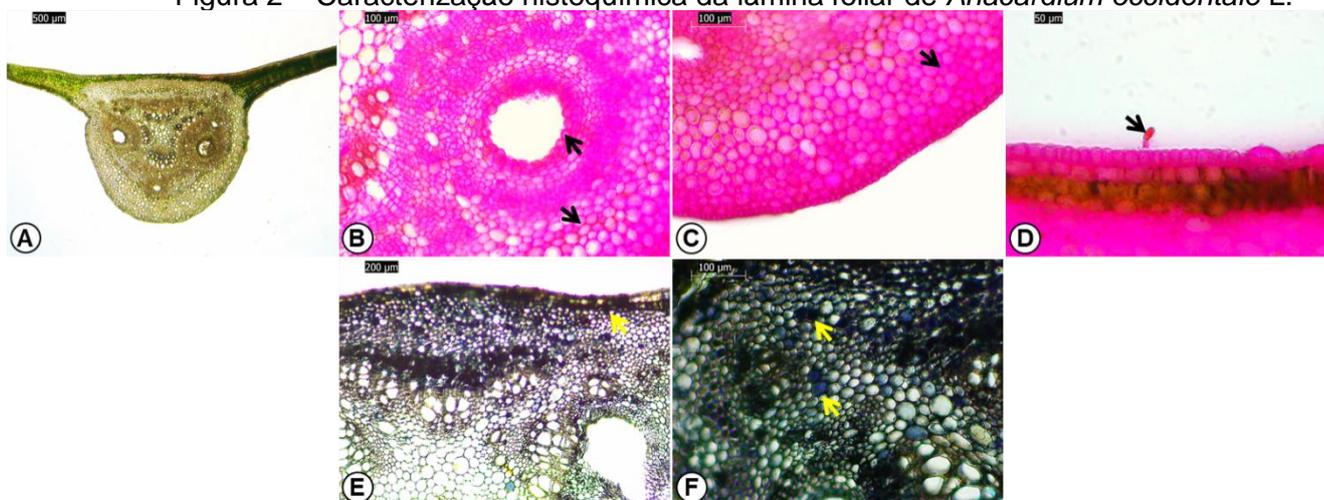
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 *Anacardium occidentale* L. e *Mangifera indica* L.

As Figuras 2 e 3 mostram o resultado do estudo histoquímico das lâminas foliares de *A. occidentale* e *M. indica*, em que secções transversais foram coradas com os reagentes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio para a detecção de pectinas, e Ácido Tânico para a detecção de mucilagens. As figuras 2A e 3A tratam-se de controles, onde não há adição de reagentes.

Ao analisar as secções transversais de *A. occidentale* coradas com o reagente Vermelho de Rutênio, a reação foi positiva nas regiões da parede celular (Figura 2B), do parênquima (Figura 2C) e do tricoma (Figura 2D), evidenciando a presença de pectinas ou mucilagens. Para verificar os locais de acúmulo de mucilagens e comparar resultados, o Ácido Tânico foi utilizado, observando mucilagem na região da epiderme (Figura 2E) e parênquima (Figura 2F). O teste com Azul de Toluidina deu negativo.

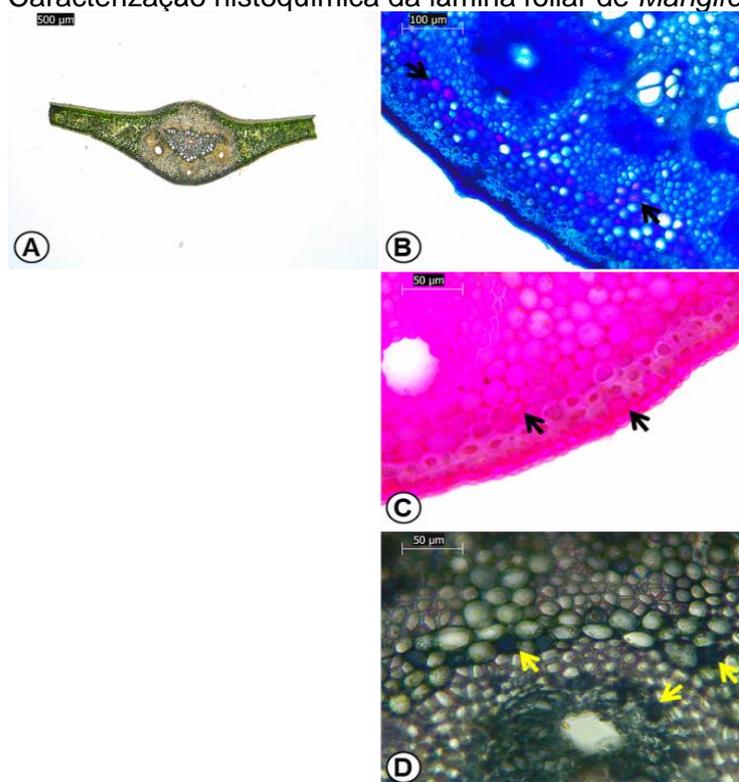
Figura 2 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Anacardium occidentale* L.



A: controle; B-D: Vermelho de Rutênio; E-F: Ácido tânico. Fonte: Autoria própria.

As secções transversais de *M. indica* coradas com Azul de Toluidina indicaram a presença de pectinas no parênquima (Figura 3B) e com Vermelho de Rutênio observou-se o mesmo composto na parede do parênquima fundamental (Figura 3C). Mucilagens foram observadas, utilizando Ácido Tânico, no parênquima fundamental (Figura 3D).

Figura 3 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Mangifera indica* L.



A: controle; B: Azul de Toluidina; C: Vermelho de Rutênio; D: Ácido tânico. Fonte: Autoria própria.

Os achados quanto ao reagente Vermelho de Rutênio, com relação ao tricoma pertencente à espécie *A. occidentale* assemelha-se ao estudo realizado por Lacchia e colaboradores (2016), em que espécies da família Anacardiaceae mostraram a presença de mucilagens em coléteres, através da reação histoquímica positiva para Vermelho de Rutênio e Ácido Tânico.

A presença de mucilagem nesses coléteres estaria associada à proteção do meristema em desenvolvimento e contra a dissecação de folhas jovens, devido à sua capacidade de reter e absorver água. Um outro estudo demonstra que os ductos do floema de espécies dos gêneros *Anacardium*, *Lithraea* e *Spondias* produzem uma secreção do tipo mista, que envolve em sua composição compostos fenólicos, mucilagens e terpenóides (Tölke *et al.*, 2021).

Um estudo da secreção do ducto da veia média presentes nas folhas de uma espécie de *Anacardium sp.*, mais especificamente *Anacardium humile*, demonstrou a presença de polissacarídeos ácidos utilizando o Vermelho de Rutênio em papel de filtro (Royo *et al.*, 2015).

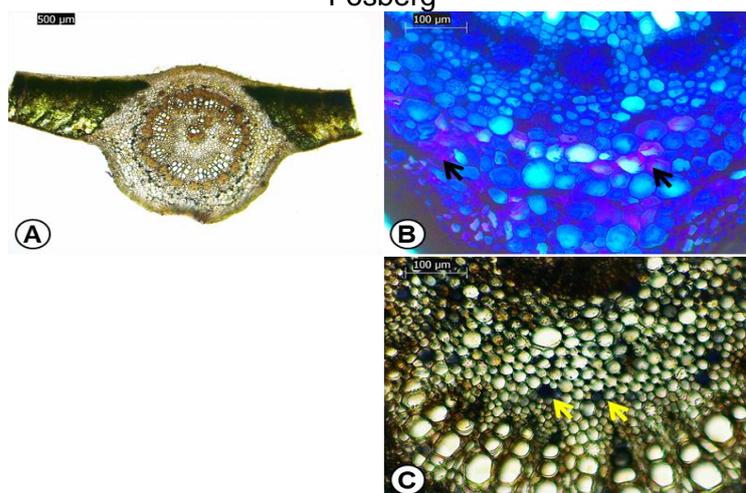
Um estudo que também abordava sobre os ductos secretores e sobre células da epiderme do fruto de *Mangifera indica* demonstrou reação positiva ao reagente Vermelho de Rutênio (Joel e Fahn, 1980).

5.2 *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg e *Artocarpus heterophyllus* Lam.

As Figuras 4 e 5 mostram os resultados da caracterização histoquímica das lâminas foliares de *A. altilis* e *A. heterophyllus*, em que secções transversais foram coradas com os reagentes histoquímicos determinados e as figuras 4A e 5A tratam-se de controles, sem adição de reagentes.

No tocante à espécie *A. altilis*, foi observado pectina (Azul de Toluidina) no parênquima e parede celular (Figura 4B) e mucilagem (Ácido Tânico) no parênquima (Figura 4C). O teste com Vermelho de Rutênio deu negativa.

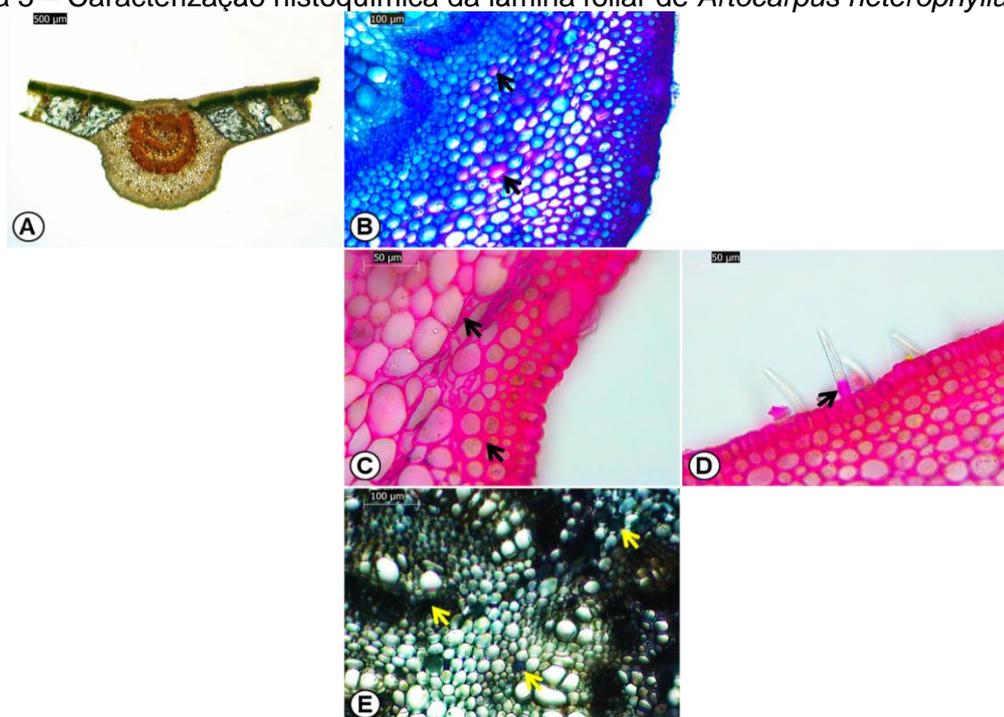
Figura 4 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg



A: controle; B: Azul de Toluidina; C: Ácido tânico. Fonte: Autoria própria.

Ao analisar os resultados da caracterização das folhas de *A. heterophyllus*, observou-se pectina através da reação com Azul de toluidina no parênquima fundamental e parede celular do parênquima (Figura 5B). Com o reagente Vermelho de Rutênio foi evidenciado pectina na parede celular do parênquima, colênquima (Figura 5C) e no tricoma tector (Figura 5D). Mucilagens foram observadas no parênquima e próximo ao feixe vascular com a utilização do Ácido Tânico (Figura 5E).

Figura 5 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Artocarpus heterophyllus* Lam.



A: controle; B: Azul de Toluidina; C-D: Vermelho de Rutênio; E: Ácido tânico. Fonte: Autoria própria.

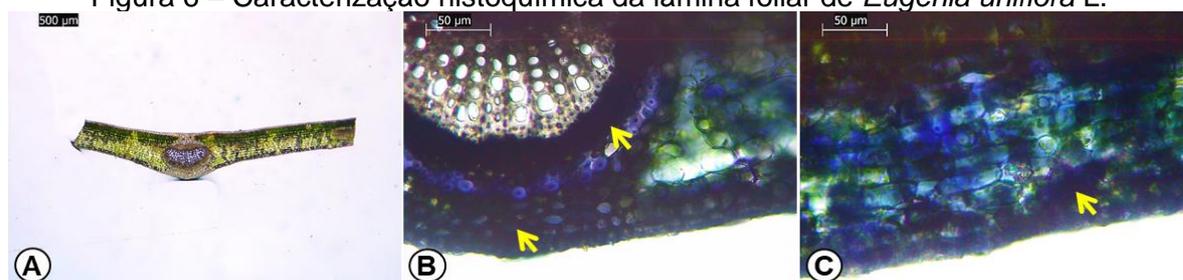
Um estudo de Schnetzler e colaboradores (2017) a respeito de algumas espécies da família Moraceae corroboram com os resultados obtidos em *A. heterophyllus*, em que os tricomas coraram em rosa com a utilização do reagente Vermelho de Rutênio, indicando a presença de pectinas. Neste mesmo estudo de Schnetzler e colaboradores, o reagente Azul de Toluidina foi utilizado nos tricomas, mas com o objetivo de detectar compostos fenólicos, que foram corados em tons azuis esverdeados, uma vez que se trata de um corante metacrômico.

5.3 *Eugenia uniflora* L. e *Psidium guajava* L.

As figuras 6 e 7 trazem o resultado do estudo histoquímico das lâminas foliares de *E. uniflora* e *P. guajava*, em que secções transversais foram coradas com os reagentes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio para a detecção de pectinas, e Ácido Tânico para a detecção de mucilagens. As figuras 6A e 7A tratam-se de controles, sem adição de reagentes.

Em *E. uniflora* foram observadas mucilagens com a utilização do Ácido Tânico na região do feixe vascular (Figura 6B) e no parênquima (Figura 6C). Os testes para pectina com Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio deram negativos.

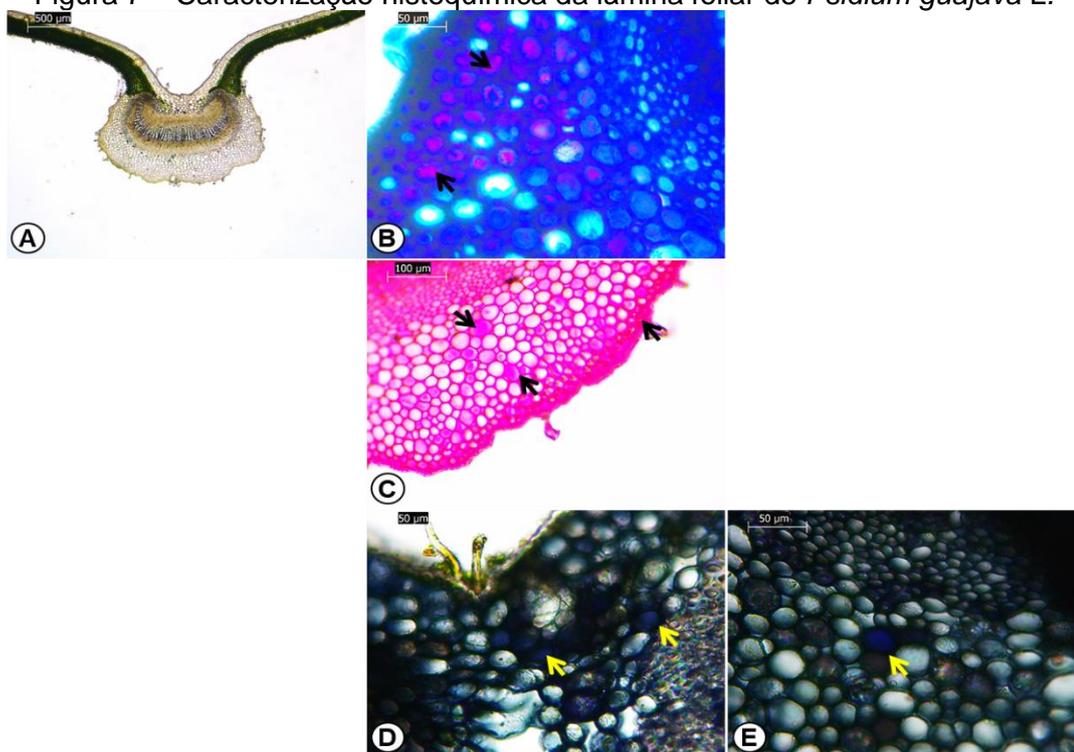
Figura 6 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Eugenia uniflora* L.



A: controle; B-C: Ácido tânico. Fonte: Autoria própria.

Ao analisar os resultados da caracterização histoquímica de *P. guajava*, observou-se pectinas utilizando o reagente Azul de Toluidina, na região do parênquima fundamental (Figura 7B), resultado confirmado com a utilização de Vermelho de Rutênio, observando pectina na mesma estrutura (Figura 7C) e na parede celular da epiderme (Figura 7C). Com o Ácido Tânico, mucilagens foram evidenciadas no parênquima fundamental (Figuras 7D e 7E).

Figura 7 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Psidium guajava* L.



A: controle; B: Azul de Toluidina; C: Vermelho de Rutênio; D: Ácido tânico. Fonte: Autoria própria.

Beschorner e Bündchen (2020) em estudo sobre a histoquímica e análise anatômica das folhas de *E. uniflora*, utilizando os reagentes Vermelho de Rutênio para detecção de pectinas e Azul de Toluidina para detecção de celulose, lignina e

pectina divergem a respeito dos resultados obtidos neste trabalho, já que ambos reagentes obtiveram resultados positivos.

Segundo Gahan (1984), o reagente Vermelho de Rutênio reage positivamente em casos de grandes concentrações de pectina. Essa divergência de resultados poderia estar relacionada à diferença dos perfis fitoquímicos da mesma espécie vegetal por variações sazonais, como temperatura, condições do solo, disponibilidade de luz e água, entre outros, que pode variar o conteúdo dos metabólitos presentes na planta (Sampaio, 2015).

Retamales e Scharaschkini (2014) realizaram um estudo para propor um protocolo de coloração para identificação de compostos secundários da família Myrtaceae utilizando 10 diferentes gêneros da família, dentre eles uma espécie pertencente ao gênero *Eugenia*. Neste estudo, os corantes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio foram utilizados para corar folhas das espécies da família Myrtaceae em diferentes tempos de reação, em que se obteve otimização do processo com quarenta e cinco segundos para o Azul de Toluidina e de um minuto para o vermelho de Rutênio. Segundo o estudo, foi possível identificar compostos como: mucilagem no mesofilo, lignina nas fibras e xilema, polissacarídeos carboxilados na epiderme, pectinas nas paredes celulares primárias, entre outros. Essa descoberta pode ser usada de fonte metodológica para extração destes compostos em outras famílias, ou servir de base para novos estudos acerca da histolocalização de compostos.

Neste mesmo estudo, Retamales e Scharaschkini (2014) destacam a questão da aplicabilidade, segurança e eficácia dos corantes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio, uma vez que é possível identificar uma gama de compostos secundários observados em diferentes colorações. O estudo ainda destaca que esses reagentes podem ser alternativas para outros protocolos não tão interessantes, por requererem mais tempo de reação e utilizar reagentes instáveis, como ácido clorídrico, ácido tânico e ácido pícrico.

6 CONCLUSÃO

Os resultados descritos no presente estudo demonstraram a eficácia dos corantes Azul de Toluidina e Vermelho de Rutênio para detecção de pectinas em lâminas foliares das espécies vegetais estudadas. Para as espécies *A. occidentale*, *M. indica* e *A. heterophyllus*, os resultados corroboram com estudos já descritos em literatura, ainda que a descrição do uso dos reagentes tenha sido para detecção de outros compostos, como compostos fenólicos e mucilagens, por exemplo.

Entretanto, os resultados obtidos para a espécie *E. uniflora* divergiram dos dados encontrados em literatura. Essa divergência pode ser atribuída a alguns fatores, como variações sazonais (época do ano, clima, temperatura, localização geográfica da espécie, etc), como também estar associada ao processo de coloração histoquímica utilizado. Sendo assim, é importante destacar a necessidade de maiores estudos sobre os protocolos utilizados, visando a otimização do método de detecção de pectinas.

A pesquisa de artigos sobre reações histoquímicas mostrou uma maior utilização do composto Vermelho de Rutênio para a detecção de mucilagens e pectinas. A capacidade desse reagente de detectar esses dois compostos acabou dificultando a comparação dos resultados obtidos com os dados já existentes em literatura no tocante à histolocalização de pectinas, especificamente. Além disso, os poucos dados literários sobre o corante Azul de Toluidina dificultaram uma possível análise comparativa entre esses reagentes.

Sendo assim, o presente estudo foi de grande importância para servir de apoio na busca da compreensão dos reagentes histoquímicos utilizados para detectar pectinas, o mecanismo de ação envolvidos nessas reações e os processos acerca da otimização da histolocalização deste composto.

REFERÊNCIAS

- ATMODJO, M. A. et al. Evolving views of pectin biosynthesis. **AnnuRevPlantBiol**, v. 64, n. 1, p. 747-779, 2013.
- AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L.(pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.
- AZAM-ALI, S. H.; JUDGE, E. C. Small-scale cashew nut processing. **Coventry (UK): ITDG Schumacher Centre for Technology and Development Bourton on Dunsmore**, p. 1-70, 2001.
- BESCHORNER, A. B.; BÜNDCHEN, M. Análise anatômica e histoquímica das folhas de *Eugenia uniflora* L. **ScientiaTec**, v. 7, n. 03, 22 out. 2020.
- BRANDIZZI, F. R. SE. 1999. Plant microtechnique and microscopy. 322 pp. Oxford, New York: oxford university press. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 86, n. 3, p. 708, set. 2000. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.2000.1231>.
- CAFFALL, K. H.; MOHNEN, D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, v. 344, n. 14, p. 1879-1900, 2009.
- CARDOSO, C. M. V.; PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Foliar anatomy of the subfamily Myrtoideae (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 57, n. 2, p. 148-161, 2009.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300, 2006.
- CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47-52, 2012.
- DA SILVA, E. A. B. et al. Plantas medicinais, usos e memória na Aldeia do Cajueiro, Pará. **Gaia Scientia**, v. 14, n. 3, p. 31-50, 2020.
- DENDENA, B.; CORSI, S. Cashew, from seed to market: a review. **Agronomy for sustainable development**, v. 34, p. 753-772, 2014.
- DÔRES, R. G. R. Morphologic analysis and phytochemistry of fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.). 2007. 396 f. Tese (Doutorado em Plantas daninhas, Alelopatia, Herbicidas e Resíduos; Fisiologia de culturas; Manejo pós-colheita de) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- FIGUEIREDO, A. C. et al. **Histoquímica e Citoquímica em Plantas: Princípios e Protocolos**. 1ª edição ed. FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DE LISBOA: Centro de Biotecnologia Vegetal, 2007.
- Flora e Funga do Brasil. **Myrtaceae in Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB171>>. Acesso em: 10 set. 2023

FRANCIS, J. K. TROPICAL ECOSYSTEMS| *Ficus* spp. (and other important Moraceae). 2004.

FREITAS, C. M. P. *et al.* Structure and Applications of Pectin in Food, Biomedical, and Pharmaceutical Industry: A Review. **Coatings**, v. 11, n. 8, p. 922, 1 ago. 2021.

GAHAN, P. B. Plant histochemistry and cytochemistry: an introduction. **Academic Press**, 1984.

GUTIÉRREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 1-27, 2008.

JAGTAP, U. B.; BAPAT, V. A. *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 2, p. 142–166, maio 2010.

JOEL, D. M.; FAHN, A. Ultrastructure of the Resin Ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). 3. Secretion of the Protein-polysaccharide Mucilage in the Fruit. **Annals of Botany**, v. 46, n. 6, p. 785–790, dez. 1980.

JOHANSEN, D. A. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw Hill, New York.

KUBITZKI, Klaus *et al.* Rutaceae. In: **Flowering plants**. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 276-356.

LACCHIA, A. P. S. *et al.* Foliar colleters in Anacardiaceae: first report for the family. **Botany**, v. 94, n. 5, p. 337-346, 2016.

LEBRETON-DECOSTER, C. *et al.* Oligogalacturonides improve tissue organization of in vitro reconstructed skin. **International Journal Of Cosmetic Science**, v. 33, n. 5, p. 455-461, 2011.

LIRA JÚNIOR, J. S *et al.* Pitangueira. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA, v. 1, p 87, 2007.

LORENZI, H., LACERDA, M. T. C.; BACHER, L. B. Frutas no Brasil nativas e exóticas (de consumo in natura). São Paulo: Editora Plantarum, 2015. 704 p.

MITCHELL, J. D. *et al.* Neotropical Anacardiaceae (cashew family). **Brazilian Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 139-180, 2022.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current Opinion In Plant Biology**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 266-277, jun. 2008. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.006>.

MORAIS, L.; CONCEIÇÃO, G.; NASCIMENTO, J. FAMÍLIA MYRTACEAE: ANÁLISE MORFOLÓGICA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE UMA COLEÇÃO BOTÂNICA. **Agrarian Academy**, [S. l.], v. 1, n. 01, 2014. Disponível em:
<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/agrarian/article/view/5222>. Acesso em: 19 ago. 2023.

Myrtaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB171>>. Acesso em: 10 set. 2023

NOVAES, T. E. R.; NOVAES, A. S. R. Análise dos potenciais medicinais do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn): uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e41810111838, 21 jan. 2021.

OLIVEIRA, Y. R. *et al.* Anacardiaceae na Medicina Tradicional de Comunidades Rurais do Piauí, Nordeste do Brasil. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 26, n. 1, p. 32–42, 30 mar. 2022.

PADILHA, J. A. *et al.* Efeitos terapêuticos de *Anacardium occidentale*: uma revisão da literatura. **Acta Brasiliensis**, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 178-186, set. 2020. ISSN 2526-4338. Disponível em:

<<http://revistas.ufcg.edu.br/ActaBra/index.php/actabra/article/view/368>>. Acesso em: 17 ago. 2023. doi: <https://doi.org/10.22571/2526-4338368>.

PAULSEN, B. S.; BARSETT, H. Bioactive Pectic Polysaccharides. **Polysaccharides I**, [S.L.], p. 69-101, 2005. Springer-Verlag. <http://dx.doi.org/10.1007/b136817>.

Pederneiras, L.C. *et al.* *Moraceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB167>>. Acesso em: 08 set. 2023

PEREIRA, V. DE J.; KAPLAN, M. A. C. *Artocarpus*: um gênero exótico de grande bioatividade. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 1, p. 1–15, jan. 2013

PIZZOLATO, P.; LILLIE, R. D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 21, n. 1, p. 56-64, 1973.

RETAMALES, H. A.; SCHARASCHKIN, T. A staining protocol for identifying secondary compounds in Myrtaceae. **Applications in plant sciences**, v. 2, n. 10, p. 1400063, 2014.

RIDLEY, B. L.; O'NEILL, M. A.; MOHNEN, D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 929-967, 2001.

ROMANIUC N. S. *et al.* 2015 *Moraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:

<<http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB167>>

ROYO, V. A. *et al.* Anatomy, histochemistry, and antifungal activity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae) leaf. **Microscopy and Microanalysis**, v. 21, n. 6, p. 1549-1561, 2015.

SABER, F. R. *et al.* Family Myrtaceae: The treasure hidden in the complex/diverse composition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-19, 2023.

SAMPAIO, B. L. **Estudo da influência dos fatores ambientais e da variação sazonal dos metabólitos de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray e avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e fotoquímico preventiva dos extratos in vitro**. 2015. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão

Preto, 2015. doi:10.11606/T.60.2017.tde-03052017-165352. Acesso em: 2023-08-21.

SANTOS, L. S. Compilação de dados de composição nutricional e quimiotaxonomia de espécies da família myrtaceae por UPLC-MS acoplada à quimiometria. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/16670>>.

SASS, J. E. 1951. Botanical microtechnique. The Iowa State College Press, Ames, Second Edition.

SCHNETZLER, B. N.; TEIXEIRA, S. P.; MARINHO, C. R. Trichomes that secrete substances of a mixed nature in the vegetative and reproductive organs of some species of Moraceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 3, p. 392–402, 31 jan. 2017.

SHAH, K. *et al.* Mangifera Indica (Mango). **Pharmacognosy Review**, v. 4, n. 7, 2020.

SILVA SOBRINHO, M. *et al.* Modelagem da Distribuição Potencial de Mangifera indica L. sob Cenários Climáticos Futuros no Bioma Caatinga. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 34, n. 3, p. 351–358, set. 2019.

SILVA-LUZ, C.L *et al.* **Anacardiaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB44>>. Acesso em: 16 ago. 2023.

SIMÕES, C. *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. Edição 6. Porto Alegre: **Editora da UFRGS, Editora da UFCS**, 2007.

SIMPSON, M. G. Diversity and Classification of Flowering Plants: Eudicots. **Plant Systematics**, p. 275–448, 2010.

SINGH, S. P. Guava (Psidium guajava L.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**, p. 213–246e, 2011.

SIQUEIRA, T. I. M. Uso popular de espécies medicinais da família Myrtaceae no Brasil e no mundo. 2022. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2022.

SOMASHEKHAR, M.; NAYEEM, N.; SONNAD, B. A review on family Moraceae (Mulberry) with a focus on Artocarpus species. **World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**, v. 2, n. 5, p. 2614-2626, 2013.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry & biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 73-94, 2011.

STERLING, C. Crystal-Structure of Ruthenium Red and Stereochemistry of its Pectic Stain. **American Journal Of Botany**., p. 172-175. fev. 1970

THARANATHAN, R. N.; YASHODA, H. M.; PRABHA, T. N. Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits”—An Overview. **Food Reviews International**, v. 22, n. 2, p. 95–123, jul. 2006.

TÖLKE, E. D. *et al.* Secretory ducts in Anacardiaceae revisited: Updated concepts and new findings based on histochemical evidence. **South African Journal of Botany**, v. 138, p. 394–405, 1 maio 2021.

VERGARA, C. M. A. C. *et al.* Prebiotic effect of fermented cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 141–145, jan. 2010.

VENTRELLA, M. C. *et al.* **Métodos histoquímicos aplicados às sementes**. 2013. Disponível em:
<http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/handle/123456789/5158?show=full#preview>.
Acesso em: 25 set. 2022.

Voragen, A. G. J. *et al.* Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 263-275, 13 mar. 2009.

WILLATS, William GT *et al.* Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. **Plant molecular biology**, v. 47, n. 1, p. 9-27, 2001.