



ALESSANDRA DE OLIVEIRA RIBEIRO

**ANÁLISE ANATÔMICA E QUANTIFICAÇÃO
DE TANINOS DE *Stryphnodendron adstringens*
(Mart.) Coville EM DIFERENTES ESTRATOS DA
COPA E ENTRE PERÍODOS DE COLETA**

LAVRAS – MG

2011

ALESSANDRA DE OLIVEIRA RIBEIRO

**ANÁLISE ANATÔMICA E QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS DE
Stryphnodendron adstringens (MART.) COVILLE EM DIFERENTES
ESTRATOS DA COPA E ENTRE PERÍODOS DE COLETA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração em Madeira como Matéria-Prima, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Fábio Akira Mori

LAVRAS - MG

2011

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Ribeiro, Alessandra de Oliveira.

Análise anatômica e quantificação de taninos de
Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville em diferentes estratos
da copa e entre períodos de coleta / Alessandra de Oliveira Ribeiro.
– Lavras : UFLA, 2011.

68 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Fábio Akira Mori.

Bibliografia.

1. Barbatimão. 2. Taninos. 3. Folhas. 4. Produtos florestais não-
madeireiros. 5. Cerrado. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD – 633.87

ALESSANDRA DE OLIVEIRA RIBEIRO

**ANÁLISE ANATÔMICA E QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS DE
Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville EM DIFERENTES
ESTRATOS DA COPA E ENTRE PERÍODOS DE COLETA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração em Madeira como Matéria-Prima, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de fevereiro de 2011.

Dr. Fábio Akira Mori	UFLA
Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli	UFLA
Dra. Ana Hortência Fonseca Castro	UFSJ

Dr. Fábio Akira Mori
Orientador

LAVRAS - MG

2011

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sabedoria, paz e proteção e por todas as pessoas especiais que colocou ao meu lado.

Ao meu orientador, professor Fábio Akira Mori, pela orientação, incentivo e motivação.

À professora Ana Hortênciã, que sempre esteve ao meu lado na caminhada acadêmica.

Ao meu pai, por todo apoio, companheirismo, amor e carinho.

A minha mãe, pelo dom da vida.

À minha filha, Jéssica, pois, mesmo sem saber, sempre foi o meu maior incentivo para que finalizasse este trabalho.

Ao Tiago, meu marido, amigo e companheiro que sempre incentivou minha carreira acadêmica, pelo auxílio em toda a coleta do material vegetal.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, Marisa, Cláudia e Cassiana.

A minha amiga Selma, que esteve sempre disponível para me ajudar, em todos os sentidos.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudos.

Ao amigo Jessé, pela grande colaboração intelectual na finalização deste trabalho.

Aos departamentos de Biologia, Ciências dos Alimentos e Engenharia Agrícola da UFLA, que nos receberam de braços abertos para a realização das análises.

A todos que me ajudaram no laboratório e, em especial, a Lívia, pela grande ajuda no trabalho prático.

A todos os funcionários do Departamento de Ciências dos Alimentos, em especial a Tina e à pesquisadora Eloísa, pelo auxílio técnico no laboratório e pela contribuição na realização deste trabalho.

RESUMO

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, conhecida popularmente como barbatimão, é uma espécie nativa do Cerrado, cujas folhas e cascas são importantes fonte de taninos vegetais, de grande importância comercial. Objetivou-se, com a realização deste trabalho, comparar os teores de fenóis totais, fenóis residuais, taninos, flavonoides, clorofilas a, b e razão a/b, entre os diferentes estratos da copa e entre períodos, considerando os meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro; comparar os teores de taninos pelos métodos de folin-ciocalteu e difusão radial e pelas características biométricas (altura, diâmetro da copa e IAF) e verificar possíveis modificações anatômicas nos foliólulos. As coletas foram realizadas no município de Lavras, sul de Minas Gerais. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4, sendo o primeiro fator a posição (base, meio e topo) e o segundo fator, os meses (fevereiro, maio, setembro e dezembro). Os dados provenientes do experimento foram analisados por meio da análise de variância e do teste de Tukey, ambos com nível de significância de 5%. Para avaliar a correlação entre altura, diâmetro e índice de área foliar com os teores de taninos, utilizou-se o coeficiente de Correlação de Pearson. Os resultados obtidos permitiram verificar que as folhas de *S. adstringens* produzem fenóis totais e taninos em maiores concentrações nas posições topo (23,05% e 18,23%) e base (21,42% e 16,61%) da copa e nos meses de maio (25,79% e 20,85%) e setembro (25,57% e 20,50%), respectivamente. Entretanto, não houve diferenças nos teores de fenóis residuais e flavonoides entre as posições da copa e nos meses de coleta. Os teores de taninos obtidos pelo ensaio de difusão radial foram menores do que os teores obtidos pelo ensaio de Folin-Ciocalteu, pois as metodologias empregadas para o presente estudo são baseadas em diferentes propriedades químicas dos taninos. As características biométricas, como altura e diâmetro da copa, não estão associadas à produção de taninos, sendo esta influenciada apenas em relação ao índice de área foliar (IAF). Secções paradérmicas revelaram maior número de estômatos na face abaxial, sendo a folha classificada como anfi-hipoestomática. A concentração de clorofila *a* foi maior em folhas localizadas no topo (10,428 mg/100mL) e na base (9,799 mg/100mL) da copa e a clorofila *b* atingiu maior valor no meio da copa (3,472mg/100mL).

Palavras-chave: Barbatimão. Taninos. Folhas. Produtos florestais não-madeireiros. Cerrado.

ABSTRACT

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, popularly known as “barbatimão”, is a native species and its leaves and bark are important sources of vegetal tannin of great commercial importance. The aim of this work was to compare contents of total phenols, residual phenols, tannin, flavonoids, chlorophylls a, b and a/b relation between crown heights and periods considering February, May, September and December, to compare tannin extraction by folin-ciocalteu and radial diffusion methods and by biometric characteristics (height, crown diameter and IAF) and to verify possible anatomical modifications in the folios. The collections were carried at Lavras, South of Minas Gerais. The experiment was conducted in an entirely randomized design disposed in a 3 x 4 factorial scheme, being position the first factor and (base, middle and top) and months the second factor (February, May, September and December). The data was analyzed through analysis of variance and Tukey test both with significance level at 5%. To evaluate correlation between height, diameter and leaf area index, Person correlation coefficient was used. The results showed that *S. adstringens* leaves produce higher concentrations of total phenols and tannin in top (23.05% and 18.23%) and base positions (21.42% and 16.61%) in May (25.79% and 20.85%) and September (25.57% and 20.50%) months respectively. However, there was no difference for residual phenols and flavonoids between crown positions and collection months. Tannin content obtained by radial diffusion method was lower than those extracted by Folin-Ciocalteu method, which occurred because the methods are based on different chemical properties of tannin. Biometric characteristics such as height and diameter are not related to tannin production and are affected only by leaf area index. Para-dermal sections revealed a higher stomata number in the abaxial face, being the leaf classified as amphi hypostomatic. The α chlorophyll concentration was higher in top (9,799 mg/100mL) and base (10,428 mg/100mL) leaves. Chlorophyll β had higher value in the middle of the crown (3,472mg/100mL).

Keywords: Barbatimão. Tannins. Leaf. Non wood Products. Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa de ocorrência de <i>Stryphnodendron adstringens</i> em Minas Gerais	17
Figura 2	Aspectos morfológicos de <i>S. adstringens</i> ; A – Planta inteira; B – casca; C - foliólulos; D – flores; E – frutos e sementes.....	19
Figura 3	Esquema representativo da biossíntese de taninos. Adaptado de Taiz e Zeiger (2006).....	21
Figura 4	Representação esquemática da coleta das folhas de <i>S. adstringens</i> nos diferentes estratos da copa (base, meio e topo).....	31
Figura 5	(A-D) Secções paradérmicas e transversais da lâmina foliar de <i>S. adstringens</i> . 50 µm. Secções paradérmicas da lâmina foliar evidenciando as faces adaxial (A) e abaxial (B), com estômatos anomocíticos (setas pretas) 50 µm. (C-D) Secções transversais com detalhes do mesofilo isobilateral, epiderme adaxial (Ead); epiderme abaxial (Eab); parênquima paliçádico (Pp); parênquima lacunoso (Pl) 50 µm. (D) Detalhes da nervura central, evidenciando a cutícula Cu; epiderme Ep; colênquima Co; fibras Fi; xilema Xi; floema Fl; feixe vascular do mesofilo Fv.....	54
Figura 6	(A -B setas brancas) Presença de células secretoras de taninos presentes no colênquima e ambos os parênquimas, paliçádico e lacunoso. 50 µm. (B) mesofilo isobilateral, epiderme adaxial Ead; epiderme abaxial Eab; parênquima paliçádico Pp; parênquima lacunoso Pl. 50 µm. (C-E) representação esquemática do mesofilo das folhas de barbatimão, evidenciando a deposição de taninos nas células entre os diferentes estratos da copa. Pp parênquima paliçádico; Pl parênquima lacunoso; Ead; Epiderme adaxial; Eab epiderme abaxial	56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Varição dos teores de taninos, em % de fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, entre as árvores nos diferentes estratos da copa	38
Gráfico 2	Varição dos teores de taninos, em %, entre fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, entre as árvores, nos diferentes meses de coleta.....	41
Gráfico 3	Médias dos valores de temperatura e precipitação nos meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro de 2009, em Lavras, MG. Fonte: Estação Climatológica Principal de Lavras.....	41
Gráfico 4	Resultado da análise de armazenamento de água no solo, em %, avaliada durante os meses do experimento (fevereiro, maio, setembro e dezembro, 2009)	42
Gráfico 5	Varição dos teores de taninos, em %, obtidos pelos métodos de Folin-Ciocalteu e difusão radial, entre as árvores nos diferentes estratos da copa	45
Gráfico 6	Varição dos teores de taninos, em %, obtidos pelos métodos de Folin-Ciocalteu e difusão radial, entre as árvores nos diferentes meses de coleta.....	45
Gráfico 7	Relação entre altura da copa e o teor de taninos em folhas de <i>S. adstringens</i>	47
Gráfico 8	Relação entre diâmetro da copa e o teor de tanino em folhas de <i>S. adstringens</i>	48
Gráfico 9	Relação entre índice de área foliar e o teor de tanino em folhas de <i>S. adstringens</i>	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Média dos teores de fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, em %, entre as árvores, nas diferentes posições da copa	38
Tabela 2	Variação dos teores de fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, em %, entre as árvores nos diferentes meses de coleta.	40
Tabela 3	Média dos valores de altura, diâmetro de copa e índice de área foliar nos nove indivíduos de <i>S. adstringens</i>	46
Tabela 4	Resultado do teste de Tukey para clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e sua razão <i>a/b</i> em relação às posições da copa	49
Tabela 5	Resultado do teste de Tukey para clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> , razão <i>a/b</i> e médias dos valores de insolação nos meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro de 2009	51
Tabela 6	Índice estomático (mm ²) em diferentes estratos da copa (base, meio e topo), da epiderme da face adaxial (ADA) e abaxial (ABA) de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	O cerrado brasileiro	15
2.2	Considerações sobre a espécie <i>Stryphnodendron adstringens</i>	16
2.3	Taninos	21
2.3.1	Utilização dos taninos	23
2.3.2	Quantificação de taninos	25
2.4	Clorofila nas plantas	26
2.5	Anatomia foliar	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	Área de coleta	30
3.2	Coleta do material botânico	30
3.3	Mensurações da copa	31
3.4	Armazenamento de água no solo	32
3.5	Preparo dos extratos	32
3.5.1	Determinação de fenóis totais	33
3.5.2	Determinação de fenóis residuais e taninos totais através do método de Folin-Ciocalteu	33
3.5.2.1	Determinação de taninos totais por meio do método de difusão radial	34
3.5.3	Flavonoides totais	34
3.6	Determinação de clorofilas	34
3.7	Análise anatômica e histoquímica	35
3.8	Delineamento experimental	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
4.1	Determinação de fenóis totais, fenóis residuais, taninos totais e flavonoides	37
4.1.1	Relação entre os métodos para determinação de taninos	44
4.1.2	Relação taninos e mensurações da copa	46
4.2	Determinação de clorofila	48
4.3	Análise anatômica e histoquímica	52
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
6	CONCLUSÕES	58
	REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado destaca-se pela sua biodiversidade, devido à grande extensão e heterogeneidade vegetal. Entretanto, é um dos biomas mais ameaçados do planeta, devido à velocidade de conversão de áreas nativas em áreas antropizadas (KLINK; MACHADO, 2005).

Em decorrência desse fato, os recursos naturais, uma vez extintos, estarão indisponíveis às futuras gerações. Como exemplo, pode-se citar o princípio ativo oferecido pelas plantas medicinais denominadas, no meio florestal, como produtos florestais não-madeireiros (PFNMs). Estes e outros recursos naturais, como os taninos, são de grande interesse também para o setor industrial, com o fornecimento de matéria-prima (CHEROBINI, 2006).

Pesquisas têm sido realizadas visando gerar e aprimorar as informações nas áreas de estudos florísticos, anatômicos, ecológicos e fisiológicos, que possam dar subsídios para a recuperação, a conservação e a exploração do grande potencial do bioma Cerrado (MONTEFUSCO, 2005). Entretanto, considerando a grande biodiversidade deste bioma, existem relativamente poucos trabalhos voltados para a sua correta identificação e utilização.

São vários os fatores que influenciam as características anatômicas foliares das plantas, como a intensidade e a quantidade de luminosidade. Os estudos de anatomia foliar entre plantas de uma mesma espécie são de suma importância, pois visam determinar caracteres que possam auxiliar na taxonomia do gênero.

Dentre as espécies nativas do Cerrado, destaca-se *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecida popularmente como barbatimão, cuja principal utilização de valor econômico, é a extração de tanino, encontrado em cascas e folhas. Suas folhas apresentam em torno de 27% a 32%, com base em massa seca de material de tanino, nos meses de maio e setembro, meses de maior

produção (ALMEIDA et al., 2008). Os taninos são compostos fenólicos biossintetizados a partir da rota do ácido chiquímico (TAIZ; ZEIGER, 2006), sendo classificados como metabólitos secundários, importantes no mecanismo de defesa do vegetal contra a radiação solar e herbivoria.

Em seu hábitat, as plantas estão expostas à intensa radiação solar, dessa forma, degradando moléculas de extrema importância nos processos fotossintéticos, como as clorofilas e outros pigmentos, pelo processo de foto-oxidação. No intuito de se protegerem desta radiação, as plantas sintetizam compostos de origem fenólica que atuam na absorção da radiação nas camadas epidérmicas dos tecidos, regulando o sistema antioxidante nas células. A concentração desses compostos no vegetal pode ser influenciada por diversos fatores, como condições edafoclimáticas, ritmo circadiano e desenvolvimento do vegetal (GOBBO NETO; LOPES, 2007).

O barbatimão é utilizado para diversos fins, como na medicina popular, nas indústrias de curtume, petrolífera, plástica e de resinas, como fixador para tintas e corantes, na clarificação de vinhos e, ainda como agente dispersante para controlar a viscosidade de argilas na perfuração de poços (DOAT, 1978; PANSHIN et al., 1962) e no tratamento de água de abastecimento e residuárias (SILVA, 1999).

Mesmo tendo grande utilização popular e, potencialmente, grande importância econômica, o manejo do barbatimão necessita de estudos, devido às poucas informações existentes sobre a espécie e seu cultivo. Isso porque esta espécie apresenta grande possibilidade de extração dos taninos de suas folhas, de forma sustentável, sem causar danos à espécie e, conseqüentemente, ao bioma.

Dentre os estudos voltados para o conhecimento da espécie, aqueles referentes à variação dos teores de taninos nos diferentes estratos da copa são importantes para determinar em qual posição os taninos são produzidos de forma mais intensa, facilitando, dessa forma, a compreensão a respeito das adaptações

ecofisiológicas, das melhores formas de extração para fins industriais, como, por exemplo, a utilização desses taninos vegetais na produção de adesivos naturais para a indústria madeireira.

Neste trabalho objetivou-se conhecer melhor a espécie, visando à sua aplicação para o desenvolvimento de adesivos alternativos para a madeira. Os objetivos específicos foram: comparar os teores de fenóis totais, fenóis residuais, taninos, flavonoides e clorofilas a, b, razão a/b, entre os diferentes estratos da copa e diferentes épocas de coleta, considerando os meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro; comparar os teores de taninos pelos métodos de Folin-Ciocalteu e difusão radial e pelas características biométricas (altura, diâmetro da copa e IAF) e verificar possíveis modificações anatômicas nos foliólulos de *Stryphnodendron adstringens*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O cerrado brasileiro

O Cerrado brasileiro é o segundo maior bioma do país, superado apenas pela Floresta Amazônica; aproximadamente 25% do território brasileiro está coberto por esta vegetação. Ocupa uma área de cerca de 2 milhões de km², dos quais 90% encontram-se situados na região Central do Brasil, abrangendo os estados de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso, Goiás e Bahia (RIBEIRO; WALTER, 1998; RODRIGUES, 1998).

De acordo com Adâmoli et al. (1986), o clima do Cerrado caracteriza-se como tropical chuvoso, com duas estações bem definidas: seca (de abril a setembro) e chuvosa (de outubro a março), com precipitação anual média de 1.500 mm, variando de 700 a 2.000 mm. A temperatura média anual situa-se na faixa de 20° a 26°C, e a média do mês mais frio superior a 18°C (RIBEIRO; WALTER, 1998).

Rodrigues e Carvalho (2001) relatam que o Cerrado é um tipo de cobertura vegetal bastante característica por apresentar uma vegetação rasteira, constituída, principalmente, por gramíneas, coexistindo com arbustos e árvores esparsas, baixas, tortuosas, de casca grossa, folhas largas e sistema radicular profundo.

Segundo Ker e Resende (1996), as principais unidades de solos que ocorrem nas regiões de Cerrado são os Latossolos, ocupando 46,06% do total. O solo do Cerrado se caracteriza por possuir baixa fertilidade, pH ácido e elevada saturação de alumínio. O alumínio se caracteriza por um elemento tóxico para a grande maioria das espécies cultivadas, promovendo a paralisação do sistema radicular e, conseqüentemente, prejudicando o desenvolvimento das plantas. Estima-se que o Cerrado brasileiro contribua com 10.000 espécies de plantas,

das 60.000 fanerógamas distribuídas pelo país (RODRIGUES, 1998). Destas, várias se destacam pelo seu potencial econômico, sendo utilizadas na alimentação, na produção de madeira, como espécies ornamentais e na medicina popular. Quanto às suas propriedades medicinais, muitas delas já foram confirmadas em ensaios químicos e biológicos (ALMEIDA et al., 1998).

Das espécies úteis de cerrado, algumas se destacam quanto ao seu valor econômico, como aroeira (madeira), barbatimão (medicinal e tanante), buriti (alimentícia), copaíba (resina), chuveirinho (ornamental), faveira (medicinal), mangaba (frutífera), piaçava (têxtil) e pequi (óleo), entre outras. Estas espécies já possuem um mercado consumidor consolidado, sendo capazes de gerar renda em curto prazo. Entretanto, poucos estudos ligados ao manejo dessas espécies têm sido realizados, o potencial extrativista vem decrescendo e, conseqüentemente, sendo substituído por outras atividades (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

2.2 Considerações sobre a espécie *Stryphnodendron adstringens*

O barbatimão apresenta ampla distribuição geográfica no país; no estado de Minas Gerais, encontra-se presente em várias regiões, conforme o mapa a seguir (Figura 1).

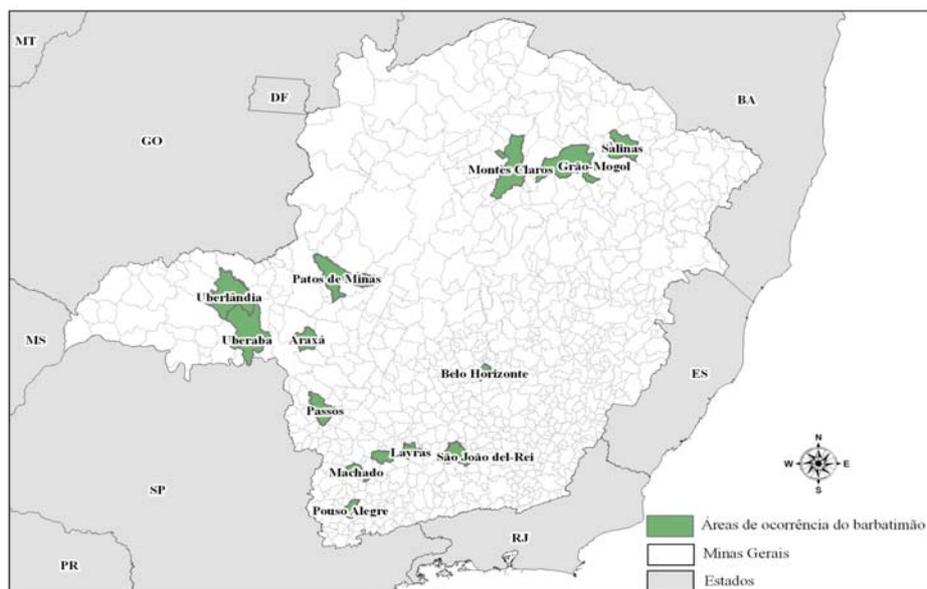


Figura 1 Mapa de ocorrência de *Stryphnodendron adstringens* em Minas Gerais

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville pertence à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae, também conhecida como barbatimão-verdadeiro, barba-de-timão, charãozinho-roxo e casca-da-virgindade (ALMEIDA et al., 1998). De acordo com Paniza et al. (1998), o nome *Stryphnodendron* provém das palavras gregas *stryphnos* e *dendron* que significam, respectivamente, duro e árvore, devido à dureza do lenho das espécies de barbatimão (Figura 2A).

A espécie é de hábito arbóreo; apresenta ramos curtos, grossos, tortuosos, com casca marrom-tomentosa-ferrugínea rugosa e copa arredondada. As cascas são espessas, sendo as do tronco (12 mm) mais grossas do que as dos ramos (4 mm), encurvadas, de forma e dimensões variáveis; superfície externa rugosa, fendilhada, castanho-esverdeada, ocasionalmente coberta por líquens esbranquiçados; superfície interna estriada no sentido longitudinal, por vezes enrugada transversalmente, de cor vermelho-escurecida (Figura 2B). São

inodoras e de sabor pouco amargo (adstringente) (COSTA, 1994). Segundo Almeida et al. (1998), as sementes são castanho-avermelhadas, elipsoides e oblogoides.

As folhas são pinadas, alternas, recompostas (10 foliólulos), com foliólulos ovalados (Figura 2C), que variam de 30 a 60 mm, do tipo concolor (mesma cor em ambos os lados do foliólulo); a nervura primária é reta, apresentando tricomas tectores unicelulares e unisseriados (SANCHES et al., 2007).

Em relação à anatomia interna de *S. adstringens*, Oliveira e Figueiredo (2007) relatam que as folhas são anfiestomáticas, apresentando estômatos anomocíticos, paracíticos e anisocíticos. Apresenta epiderme unisseriada, com cutícula espessa, mesofilo isobilateral formado por duas camadas de parênquima paliçádico, feixe vascular colateral envolto por bainha esclerenquimática e o colênquima apresenta tendência para forma angular.

As flores são esbranquiçadas, pequenas, numerosas, dispostas em espigas cilíndricas densas, axilares (Figura 2 D). O fruto (Figura 2 E) é do tipo legume, séssil, grosso, carnosos, linear-oblongo e comprido, as sementes achatadas e oblongas (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

Sua madeira tem o cerne avermelhado, duro, com fibras muito reversas, próprias para a construção civil, obras expostas e marcenaria. A casca é importante fonte de taninos, utilizada para o curtimento de couro e a obtenção de tintas; na indústria petrolífera pode ser utilizada mais propriamente no trabalho de sondagem, indústria de plásticos ou resinas, como mordentes para tintas ou corantes, preservativos e na clarificação de vinhos. O ácido gálico extraído do tanino é usado nas artes gráficas, na revelação de fotografias e para fins medicinais (RIZZINI; MORS, 1976).



Figura 2 Aspectos morfológicos de *S. adstringens*; A – Planta inteira; B – casca; C - foliólulos; D – flores; E – frutos e sementes

A espécie é conhecida pela sua rusticidade e elevados teores de taninos, sendo indicada na utilização em plantações industriais de essências tanantes. A produção média de material tanante da casca é de 20% a 28%, tendo sido encontrados rendimentos de 35,5% a até 50% em relação à massa seca de material (ALMEIDA et al., 1998; CORRÊA, 1984).

Borges Filho e Felfilli (2003) alertam para o fato de que a coleta da casca de barbatimão está sendo feita de modo desordenado e prejudicial à manutenção das populações, sem critério de escolha dos indivíduos, o que coloca a espécie sob risco de extinção, caso a expansão agrícola e urbana se intensifique.

Em um estudo realizado por Macedo et al. (2007) foi demonstrado que as folhas de barbatimão apresentam maiores teores de compostos fenólicos, seguidas da casca e caule, podendo ser utilizadas como matéria-prima para a extração de compostos fenólicos, principalmente no que se refere aos flavonoides e taninos. Logo, a folha poderia ser utilizada devido à capacidade regenerativa da copa, principalmente no período próximo à deciduidade, fase em que provavelmente não causaria prejuízos ao processo fotossintético da planta.

Oliveira e Figueiredo (2007) constataram a presença de altas concentrações de taninos e flavonoides, além de saponinas e cumarinas, nas folhas de *S. adstringens*. Todavia, os autores ressaltaram que, mesmo que os metabólitos secundários encontrados nas folhas sejam de interesse farmacológico, é necessária a continuação de pesquisas para verificar a viabilidade da substituição do uso das cascas pelas folhas.

O barbatimão, apesar da grande quantidade de vagens e sementes produzidas, apresenta germinação muito irregular, em consequência da dormência tegumentar que a espécie apresenta (BARRADAS; HANDRO, 1974). Além disso, o ataque de pragas em suas sementes diminui significativamente sua propagação natural.

Sua atividade farmacológica deve-se à riqueza de taninos; recomenda-se o uso em diarreias, enterorragias, metrorragias, leucorreias, úlceras e ferimentos, como cicatrizante. Na medicina popular, emprega-se ainda como depurativo, hipoglicemiante e como tônico nas anemias (COSTA, 1994).

2.3 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos biossintetizados a partir da rota do ácido chiquímico, o qual converte precursores de carboidratos derivados da glicólise e da rota da pentose fosfato, tendo como um dos intermediários o ácido chiquímico. (Figura 3). A maioria dos compostos secundários em plantas, a exemplo os flavonoides, provém da fenilalanina que, numa reação de desaminação, vai dar origem ao ácido cinâmico. Esta reação é catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), cuja expressão é fortemente regulada e aumenta consideravelmente em resposta a estresse (TAIZ; ZEIGER, 2006).

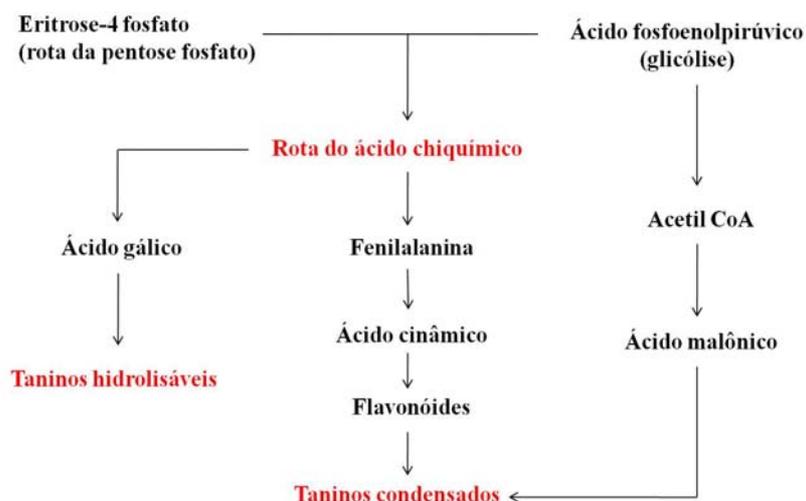


Figura 3 Esquema representativo da biossíntese de taninos. Adaptado de Taiz e Zeiger (2006)

Taninos são metabólitos secundários de natureza polifenólica, com peso molecular variando de 500 a 3.000 dáltons (MELLO; SANTOS, 2001) que se dividem em dois grupos químicos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados, também chamados de proantocianidina, que são polímeros de flavan 3-ol e/ou de

flavan 3,4-diol. Já os taninos hidrolisáveis consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, cujos grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos, sendo os taninos elágicos muito mais frequentes que os gálicos (MONTEIRO et al., 2005).

Em uma pesquisa realizada por Santos et al. (2002), sobre o grau de polimerização dos taninos, constatou-se que este fenol é um importante fator de atividade biológica, devido à afinidade de ligação por proteínas ricas em prolina, responsáveis pelos efeitos antirradical e antiviral dos taninos. Além disso, os autores observaram alto grau de polimerização nos taninos do gênero *Stryphnodendron* e que os mesmos são formados por unidades de prodelfinidinas, ocorrendo também a liberação de ácido gálico após hidrólise.

Segundo Panizza et al. (1998) e Rizzini e Mors (1976), a casca contém de 20% a 30% de matéria tanante. Teixeira, Soares e Scolforo (1990) coletaram cascas de *S. adstringens* em dez municípios de Minas Gerais e verificaram que o diâmetro das árvores não interfere na produção de taninos; o teor na casca variou de 10,5% a 27,4%, entre as localidades. Os locais de origem foram responsáveis por 50% da variação total. Ardisson et al. (2002) constataram 30,8% e 29,9% de polifenóis totais e taninos em *S. adstringens*, respectivamente.

Vários fatores, como composição do solo, estresse hídrico, temperatura e umidade, podem influenciar os níveis de compostos fenólicos presentes nas plantas (KOUKI; MANETAS, 2002; MONTEIRO et al., 2006). Assim, a quantidade de tanino é alterada durante o desenvolvimento da planta e igualmente como uma resposta às mudanças ambientais (HATANO; KIRA; YOSHIZAKI, 1986; SALMINEN et al., 2001).

Os taninos estão associados ao mecanismo de defesa dos vegetais. Estes compostos são amplamente distribuídos nos vegetais (cascas, madeiras, raízes, folhas, flores e frutos), sendo comuns nas espécies gimnospermas (coníferas) e angiospermas (folhosas). Entre as famílias que apresentam taninos destacam-se

Anacardiaceae, Fabaceae, Combretaceae, Pinaceae, Rhizophoraceae, Myrtaceae e Polinaceae (SIMÕES; FALKENBERG; SANTOS, 2003).

Segundo Browning (1963), os taninos ocorrem predominantemente na casca e no cerne de espécies florestais; no lenho, são encontrados em menor quantidade. Nas cascas de algumas espécies os taninos podem alcançar concentração acima de 40%. É o caso das espécies *Eucalyptus astringens* e *Acacia mearnsii* que apresentam altos teores de taninos, sendo consideradas importantes fontes desses compostos. Além disso, Santana, Baumann e Conner (1995) ressaltam que a casca de acácia-negra (*Acacia mearnsii*) é a fonte de taninos mais utilizada na produção de adesivos no mundo e que muitos países já utilizam esses adesivos em escala comercial. Esses mesmos autores relatam que várias espécies de pinus (*P. radiata*, *P. patula*, *P. elliottii* e *P. taeda*) também apresentam grande potencial para a extração de taninos para a produção de adesivos.

As indústrias utilizam adesivos sintéticos devido à sua excelente qualidade, mas, no início da década de 1970, com a crise do petróleo e o aumento dos custos dos recursos de origem petrolífera, surgiu o interesse em substituir o constituinte sintético fenol, das resinas FF (fenol-formaldeído), por polifenóis naturais. Os adesivos são de grande importância na qualidade final das diferentes chapas de madeira, porém, o elevado preço dos adesivos sintéticos no mercado atual faz com que a sua utilização chegue a representar de 55% a 65% do custo final das chapas produzidas (PIZZI; MITTAL, 2003).

2.3.1 Utilização dos taninos

Em relação à sua utilização na produção de adesivos alternativos para a madeira, estudos com taninos têm obtido bons resultados (GOULART et al., 2008). Grande parte dos produtos gerados pela atividade florestal é colada com

algum tipo de aglutinante denominado adesivo, sendo este de grande importância no setor florestal. A utilização dos adesivos permite o crescimento das indústrias florestais, ocasionando, assim, um uso mais racional do material madeira e, conseqüentemente, melhor utilização das florestas (PIZZI; MITTAL, 2003).

Além dessa aplicação, os taninos têm propriedade biocida; sua presença e quantidade estão correlacionadas com a durabilidade natural da madeira (FARMER, 1967) e eles podem ser utilizados na indústria de curtimento de couro, no tratamento de água potável (floculante), como agente antioxidante em águas e caldeiras, como dispersante no tratamento de lamas de perfuração, no desenvolvimento de sabor adstringente na fabricação de bebidas, na produção de produtos farmacêuticos e em adesivos para artefatos de madeira (PIZZI, 1994; SIMÕES; FALKENBERG; SANTOS, 2003).

2.3.2 Quantificação de taninos

Quanto aos métodos de quantificação, os compostos fenólicos (fenóis totais e taninos vegetais) têm sido determinados por diversos tipos de ensaios, como precipitação de metais ou proteínas e por métodos colorimétricos, sendo esses últimos mais comuns.

O método mais apropriado para a determinação de taninos é o de ensaios com precipitação de proteínas, o qual se baseia apenas na reação de complexação de proteínas (HAGERMAN, 1987). Neste ensaio, o tanino difunde por um gel contendo proteína e o precipitado desenvolve uma forma de disco visível, à medida que o tanino interage com a proteína. O método é simples, sensível e específico, e deve ser especialmente aplicado para estudos nos quais um grande número de amostras será analisado. Uma grande vantagem é que fenóis não tânicos, como flavonoides, ácidos benzoicos ou ácidos hidroxicinâmicos, não interferem com o ensaio (HAGERMAN, 1987).

Entre os métodos colorimétricos, o de Folin-Denis, utilizado na determinação de fenóis totais, é bem reconhecido e largamente empregado, mas não faz distinção entre compostos fenólicos e outros materiais redutores ou antioxidantes, como o ácido ascórbico, formando precipitados que interferem na leitura espectrofotométrica (SCHOFIELD; PELL; MBUGUA, 2001).

O método Folin-Denis foi aperfeiçoado e modificado para o Folin-Ciocalteu, amplamente utilizado na atualidade (FOLIN; CIOCALTEU, 1927). Neste método, a reação colorimétrica ocorre com o grupamento fenol de qualquer composto fenólico. Para a quantificação dos taninos, realiza-se a determinação dos fenóis totais, seguida da retirada dos taninos do extrato por meio de precipitação com proteína, sendo realizada, posteriormente, a quantificação dos fenóis residuais. O valor do teor de taninos é a diferença entre o teor de fenóis totais e fenóis residuais (AMORIM et al., 2008).

O método Folin-Ciocalteu tem sido apontado como eficiente para várias espécies arbóreas (LOPES; SANCHES; NAKAMURA, 2005; MONTEIRO et al., 2005). Trugilho et al. (2003), ao avaliarem dois métodos para a quantificação de taninos na casca de 25 espécies de *Eucalyptus*, relataram que este método foi o mais eficiente.

2.4 Clorofila nas plantas

A intensidade de luz afeta o crescimento vegetativo por exercer efeitos diretos sobre a fotossíntese, a abertura estomática e a síntese de clorofila (KOZLOWSKI; KRAMER; PALLARDY, 1991).

Há três grupos principais de pigmentos associados às fotorrespostas fundamentais das plantas: (a) as clorofilas, envolvidas na fotossíntese; (b) o fitocromo, relacionado com mudanças morfogênicas, com a percepção do fotoperíodo e, provavelmente, também com os ritmos diários que afetam alguns movimentos da planta e (c) beta-caroteno ou flavinas, envolvidos com o fototropismo (WHATLEY; WHATLEY, 1982).

Somente a luz absorvida pode ser quimicamente ativa. Em todos os organismos fotoautótrofos, a clorofila é o pigmento absorvente fundamental. Dentre as diversas clorofilas existentes, a clorofila *b* desempenha o papel principal em todos os organismos que produzem oxigênio na fotossíntese. Segundo Strasburger et al. (1994), em angiospermas há mais clorofila *a* (cerca de 1/3 da concentração de clorofila *b*). Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e, conseqüentemente, ao crescimento e à adaptabilidade aos diversos ambientes é a clorofila, presente em todos os vegetais verdes (CARVALHO, 1996).

A quantidade de clorofila em condições naturais não é um fator limitante para a intensidade da fotossíntese (STRASBURGER et al., 1994). De acordo com Carvalho (1996), sob baixas intensidades de luz e baixa concentração de clorofila (menos do que 5 mg dm^{-2}), a taxa fotossintética é dependente do nível de pigmentos das folhas. Para que a fotossíntese ocorra é essencial a absorção de radiação pelos cloroplastos. O grau em que a radiação é utilizada depende da concentração de clorofila, ou seja, da concentração de pigmentos fotossinteticamente ativos. Sob luz intensa, pode ser este o fator limitante do processo fotoquímico. A deficiência em clorofila, evidente na aparência de uma planta através da clorose, sempre reduz a taxa de fotossíntese. São diversos os fatores que contribuem para este estado clorótico. Entre eles, a estação do outono, a perturbação do equilíbrio mineral, os meses de seca, as doenças e a exposição a gases nocivos, entre outros (LARCHER, 2006).

O mesmo autor relata, ainda, que dois sistemas de pigmentos estão envolvidos nas reações provocadas pela luz. O fotossistema I consiste em grupos de pigmentos com uma organização estrutural particular; seu componente predominante é a clorofila *a* (a proporção de clorofila *a* para clorofila *b* é de aproximadamente 6:1 a >10:1). O centro de reação de cada um é um complexo clorofila-*a*-proteína, com um pico de absorção a 700 nm. Esse complexo se chama Pigmento 700. A proporção da clorofila total para o pigmento 700 é de cerca de 300:1 nas plantas herbáceas, cerca de 450:1 em árvores latifoliadas e de 600-1500:1 em coníferas. Nas folhas jovens, a proporção de P-700 é, tipicamente, bastante elevada. O fotossistema II contém uma proporção maior de clorofila *b* (proporção *a/b* 1,2:1 a 2:1) e um complexo clorofila *a*-proteína, com absorção máxima a 680 nm (LARCHER, 2006).

2.5 Anatomia foliar

Os estudos de anatomia foliar entre plantas de uma mesma espécie são de suma importância, pois visam levantar caracteres que possam auxiliar na taxonomia do gênero, facilitando a distinção entre espécies semelhantes ou próximas, que são difíceis de serem diferenciadas pela morfologia externa.

De acordo com Carlquist (1961), a comparação anatômica tem provado ser útil em alguns dos mais difíceis estudos taxonômicos, porém, é necessário entender a variação dos caracteres dentro de um indivíduo, espécie ou grupo de táxons relacionados, que podem ser qualitativos ou quantitativos. As folhas são órgãos altamente variáveis e a variação pode ser específica para espécies, gênero ou famílias. Numerosos caracteres anatômicos dentro da folha, como características da epiderme, inclusões minerais e estruturas secretoras, têm provado ser de valor sistemático em diferentes linhagens (DICKISON, 2000).

São vários os fatores que influenciam as características anatômicas foliares das plantas, nos diferentes tipos de ambiente e, principalmente, em se tratando do ambiente Cerrado, como a intensidade e a quantidade de luminosidade (LEWIS, 1972) e temperaturas altas, que provocam o aumento da transpiração. Sendo assim, a posição estratégica dos estômatos na superfície abaxial evita a excessiva perda de água (CINTRON, 1970). Outros fatores, como altitude em função das mudanças de temperatura e umidade (DUDLEY, 1978), tipos de solos como os arenosos e bem drenados, disponibilidade de água no solo (TAIZ; ZEIGER, 2006), pH, fertilidade do solo e topografia do relevo interferem nas características anatômicas (BOTREL et al., 2002).

Como consequência, as folhas desses ambientes apresentam menor área foliar, aumento da espessura da lâmina e da parede externa da epiderme, maior ocorrência de hipoderme nas espécies e grande quantidade de estômatos e tricomas (TANNER; KAPOS, 1982; TURNER; ONG; TAN, 1995).

As plantas que se desenvolvem sob condições de solos precários, ou seja, solos deficientes em água e grande quantidade de luminosidade, apresentam alta concentração de compostos fenólicos nos tecidos foliares. A presença destes compostos é entendida como uma estratégia para a retenção de nutrientes nas folhas e um mecanismo de proteção contra a herbivoria e agentes patogênicos (MCKEY; WATERMAN; MBI, 1978; TURNER, 2001).

Devido aos fatores citados, estudos que tratam sobre a anatomia de folhas de espécies de Cerrado vêm sendo objeto de vários trabalhos (FERRI, 1981; MORRETES, 1969) que descrevem que as folhas de muitas espécies do Cerrado apresentam estruturas xeromorfas, como cutícula espessa, estômatos em depressões, numerosos tricomas, parênquima incolor e esclerênquima bem desenvolvido.

Para a espécie *S. adstringens*, são encontrados alguns trabalhos referentes à anatomia da folha. Sanches et al. (2007) realizaram estudo morfológico das cascas e das folhas de *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* e *S. obovatum*, para a identificação correta das três espécies de barbatimão. Oliveira e Figueiredo (2007) investigaram a anatomia foliar em plantas adultas de *Stryphnodendron adstringens*, para a investigação de estruturas anatômicas que possam ter tanto importância ecológica e evolutiva como, ainda, fornecer subsídios para o controle de identidade deste vegetal, que é frequentemente confundido com outras espécies medicinais popularmente conhecidas como barbatimão (SANTOS et al., 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de coleta

O estudo foi conduzido no período de fevereiro a dezembro de 2009, em uma área de fragmento de Cerrado, localizada no município de Lavras, sul de Minas Gerais, a 919 m de altitude, 21°15'56,97" S de latitude e longitude 44°58'34,65" O. O clima do município é do tipo Cwb, segundo a classificação de Köppen (mesotérmico com verões brandos e suaves e estiagem de inverno). Os dados meteorológicos de temperatura, precipitação e insolação foram coletados na Estação Climatológica Principal de Lavras, durante os meses do experimento.

3.2 Coleta do material botânico

As coletas foram realizadas em campo, nos meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro, onde foram selecionadas nove árvores, de forma aleatória, com diâmetros do caule mensurados a 1,30 m do solo, variando entre 7 a 20 cm.

O material coletado dessas árvores constituiu-se de foliólulos da copa de cada indivíduo, sendo esta copa dividida em base, meio e topo, conforme a Figura 4. Os foliólulos foram utilizados para a determinação de taninos e clorofilas. Após a coleta, as amostras foram transferidas para o Laboratório de Tecnologia da Madeira da Universidade Federal de Lavras, onde foram secas ao ar livre, em temperatura ambiente (36°C), até a obtenção do peso constante de aproximadamente 10 g de material vegetal seco, por uma semana. Em seguida, foram pulverizadas em moinho tipo Wiley, armazenadas em sacos plásticos e mantidas em local escuro, a fim de se evitar a fotodegradação do material.

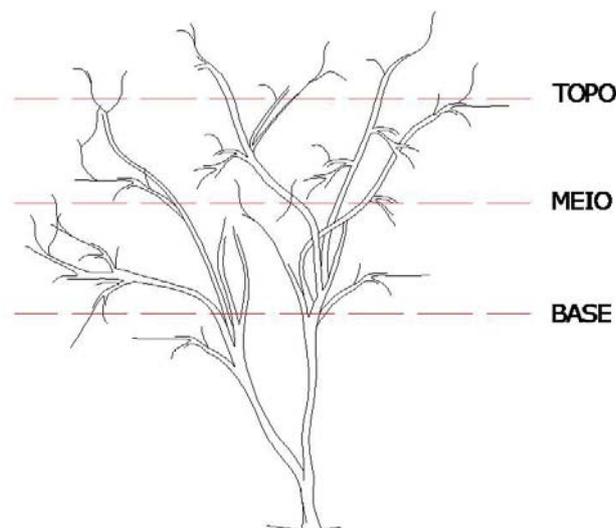


Figura 4 Representação esquemática da coleta das folhas de *S. adstringens* nos diferentes estratos da copa (base, meio e topo)

As amostras do material botânico da espécie em estudo foram herborizadas e depositadas no Herbário da ESAL e registradas sob o nº 4797, segundo técnicas descritas por Fidalgo e Bononi (1984).

3.3 Mensurações da copa

A altura total das árvores foi medida com o hipsômetro Vertex e o diâmetro da copa com uma fita métrica e hipsômetro de Suunto, do Laboratório de Estudos e Manejo Florestais (LEMAF), no Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Lavras.

Para avaliar o índice de área foliar, foi utilizado o analisador de dossel da marca LICOR modelo LAI-2000, pertencente ao Setor de Engenharia de Água e Solo do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal

de Lavras. Primeiramente, foi feita uma leitura a céu aberto, que foi usada como referência. Em seguida, foram realizadas leituras das nove árvores.

Esse procedimento foi repetido duas vezes, por mês analisado, totalizando 72 leituras, obtendo-se um valor médio para o IAF por árvore. As leituras foram realizadas pela manhã e as condições foram de céu parcialmente nublado, sem incidência de radiação direta durante as leituras.

3.4 Armazenamento de água no solo

A medição da umidade do solo foi realizada por meio da técnica de reflectometria no domínio do tempo, com o auxílio do equipamento sonda TRIME-TDR, à profundidade de 30 cm, no Setor de Engenharia de Água e Solo, Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Lavras. A técnica do TDR consiste na emissão de um pulso eletromagnético, cuja velocidade de propagação no meio é função de uma constante (k), denominada constante dielétrica. Assim, o método do TDR depende da determinação do valor do θ para o solo. A diferença significativa entre a constante dielétrica da água e a constante dielétrica dos componentes da matriz do solo permite calcular o conteúdo de água no solo. As leituras foram realizadas nos meses do experimento, em 2009.

3.5 Preparo dos extratos

Utilizaram-se 200 mg do vegetal seco e moído, o qual foi extraído em 10 mL de metanol a 50%, sob maceração a frio, com agitação constante por 4 horas, segundo metodologia descrita por Castro et al. (2009). O volume final do extrato foi completado para 10 mL. As amostras foram processadas em triplicatas.

3.5.1 Determinação de fenóis totais

Utilizou-se o protocolo padrão de Amorim et al. (2008), com algumas modificações, no qual são obtidos os teores de fenóis totais e residuais (fenóis não-tânicos). A diferença entre eles constitui os teores de taninos contidos no vegetal. Para o doseamento de fenóis totais foi transferido 0,1 mL do extrato bruto para um tubo de ensaio de 15 mL, ao qual foram adicionados 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v) e 1,0 mL de solução aquosa de carbonato de sódio a 7,5% (p/v), completando o volume com água destilada. Após 30 minutos, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro com comprimento de onda de 760 nm.

3.5.2 Determinação de fenóis residuais e taninos totais através do método de Folin-Ciocalteu

Em erlenmeyer de 25 mL foram misturados 6 mL do extrato bruto, 10 mL de água destilada e 1 g de caseína. A amostra foi mantida sob agitação durante 3 horas, para que houvesse a complexação dos taninos por meio da ligação tanino-proteína. Após este período, o conteúdo foi filtrado em papel de filtro Whataman de 9 mm, para balão volumétrico de 25 mL, adicionando ao filtrado água destilada até completar o volume. Transferiram-se 0,5 mL desta solução para um tubo de ensaio e procedeu-se da mesma maneira descrita para o doseamento de fenóis totais, obtendo-se, assim, a concentração de fenóis residuais, conforme o protocolo padrão de Amorim et al. (2008).

3.5.2.1 Determinação de taninos totais por meio do método de difusão radial

Utilizou-se o método de difusão radial segundo Hagerman (1987). Um volume de 5 mL do extrato previamente preparado foi concentrado a 37°C e, posteriormente, retomado com 0,5mL de uma mistura de metanol 50%. Utilizou-se uma alíquota de 15 µL para a determinação dos taninos totais.

3.5.3 Flavonoides totais

O doseamento de flavonoides foi feito de acordo com o procedimento descrito por Stahl e Schild (1981) modificado, empregando-se rotina como padrão, em solução de cloreto de alumínio. Um volume de 100 µL do extrato previamente preparado foi utilizado para a determinação.

3.6 Determinação de clorofilas

As análises de determinação de clorofilas foram realizadas no Laboratório de Produção Vegetal, no Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

A extração de clorofilas *a*, *b* e razão *a/b*, das folhas de *S. adstringens*, foi realizada com 15 mL de acetona 80%, macerando-se 500 mg de tecido foliar (fresco) em grau e pistilo. O extrato foi filtrado e diluído para 25 mL. Os extratos foram avaliados em espectrofotômetro nos comprimentos de ondas $\lambda=645$ e 663 nm e os teores de clorofila *a* e *b* calculados pelas diferenças nas absorbâncias segundo método adaptado de Arnon (1949) e Franco e Dillenburg (2007).

Durante todo o processo de extração da clorofila, o ambiente foi mantido escuro e o filtrado foi coletado em frascos opacos, para evitar qualquer tipo de

fotodegradação da molécula. Os respectivos cálculos (clorofila *a* e *b* e razão *a/b*) foram realizados com base nas equações seguintes:

$$Ca = 12,7(A_{663}) - 2,69(A_{645})$$

$$Cb = 22,9(A_{645}) - 4,86(A_{663})$$

$$\text{Razão } a/b = Ca/Cb$$

em que

Ca: quantidade de clorofila *a* em mg/100 mL

Cb: quantidade de clorofila *b* em mg/100 mL

(A_{648} e A_{665}): valores de absorvância no comprimento de onda indicado.

3.7 Análise anatômica e histoquímica

Para análise anatômica, foram coletados foliólulos dos ramos das nove árvores selecionadas, em três posições (base, meio e topo). Depois de coletados, foram fixados em formaldeído, álcool etílico e ácido acético (FAA), com graduação alcoólica de 70°GL, por 24 horas e armazenados em álcool etílico 70°GL (JOHANSER, 1940).

Posteriormente, foram realizadas secções à mão livre com auxílio de lâminas de barbear e micrótomo de Ranvier, no Laboratório de Anatomia Vegetal, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Em seguida, os cortes transversais foram clarificados em hipoclorito de sódio a 20%, lavados em água destilada, corados com solução de azul de astra e safranina, ambos a 1% em água, na proporção de 9:1 (BUKATSCH, 1972; RICHTER, 1981) e montados entre lâmina e lamínula com água glicerinada para a observação em microscópio. Analisaram-se as características anatômicas

qualitativas e quantitativas. Para análise quantitativa, utilizou-se o programa Sigma Scam Pro 5.

Para a realização dos testes histoquímicos para a identificação de taninos nas células, foram coletadas, das nove árvores selecionadas, foliólulos e realizadas secções transversais com material fresco, com auxílio de lâmina de barbear e micrótomo de Ranvier. Utilizaram-se vanilina ácida e ácido clorídrico a 9%, conforme Mace e Howell (1974).

3.8 Delineamento experimental

O experimento foi desenvolvido empregando-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x4, sendo o primeiro fator a posição (base, meio e topo) e o segundo fator, os meses (fevereiro, maio, setembro e dezembro).

Os dados provenientes do experimento foram analisados por meio da análise de variância e do teste de Tukey, ambos a 5% de significância. As análises foram feitas através do software SISVAR 4.2 (FERREIRA, 2003).

Para avaliar a correlação entre a altura, o diâmetro e o índice de área foliar com os teores de taninos utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Determinação de fenóis totais, fenóis residuais, taninos totais e flavonoides

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, foram observadas diferenças estatísticas nas concentrações de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu e taninos entre as diferentes posições da copa analisadas ($p > 0,05$). Os foliólulos localizados no topo (23,05% e 18,23%) e na base da copa (21,42% e 16,61%) apresentaram maiores teores, diferindo estatisticamente da posição meio da copa, para a qual obtiveram-se teores de fenóis totais (17,10%) e taninos totais (12,35%) inferiores aos do restante da copa (Gráfico 1). Em relação aos teores de fenóis residuais denominados fenóis não-tânicos, não foram observadas diferenças entre as posições da copa, ou seja, base (4,79%), meio (4,75%) e topo (4,82%), possivelmente pelo fato de que, pelo método de folin-ciocalteu, a análise é realizada para a quantificação dos taninos, em que se realiza, primeiramente, a determinação dos fenóis totais, seguida da retirada dos taninos do extrato por meio de precipitação com proteína, originando os fenóis residuais. O valor final dos teores de taninos das amostras se dá pela diferença entre os teores de fenóis totais e fenóis residuais (AMORIM et al., 2008).

Analisando-se outros fenóis não tânicos, a exemplo os flavonoides pertencentes a esta classe de compostos fenólicos, pode-se observar que o mesmo apresentou o mesmo padrão dos fenóis residuais, não tendo sido detectadas diferenças nos teores de flavonoides entre as posições da copa analisadas; a topo da copa apresentou 3,50%, a base 3,28% e o meio, a menor média, 2,70%.

Tabela 1 Média dos teores de fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, em %, entre as árvores, nas diferentes posições da copa

Posição	Fenóis totais	Fenóis residuais	Taninos totais	Flavonoides
Base	21,42 b	4,79 a	16,61 b	3,28 a
Meio	17,10 a	4,75 a	12,35 a	2,70 a
Topo	23,05 b	4,82 a	18,23 b	3,50 a
Média	20,52	4,79	15,73	3,16

Médias seguidas por mesma letra em uma mesma coluna são estatisticamente iguais, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

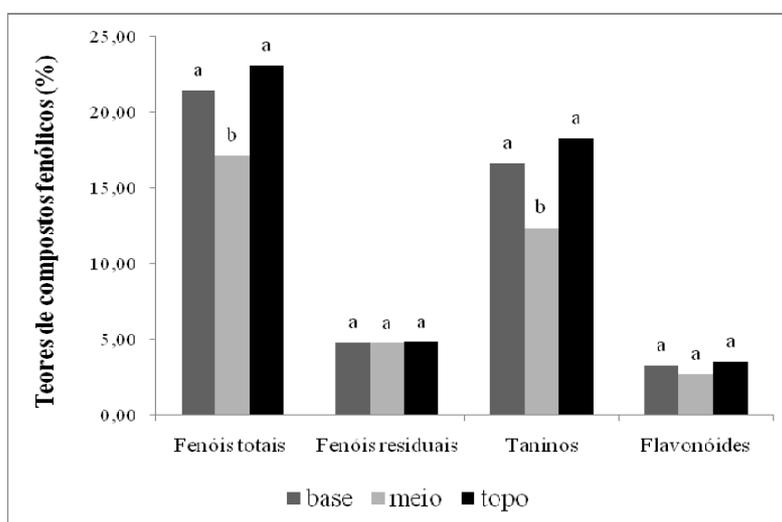


Gráfico 1 Variação dos teores de taninos, em % de fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, entre as árvores nos diferentes estratos da copa

O fato de as maiores concentrações de fenóis totais e taninos estarem localizadas no topo e na base da copa, possivelmente se trata de mecanismos de fotoproteção que os indivíduos de *S. adstringens* utilizam para se protegerem do excesso de radiação, no sentido de minimizar tal exposição, à qual as folhas presentes nestes estratos estão submetidas. Como a copa das árvores de barbatimão apresentam formato irregular, ocorre, dessa forma, maior emissão de fótons, tanto no topo quanto na base da copa. Já para o estrato meio, as

concentrações de fenóis totais e taninos foram menores, porém, estatisticamente diferentes. Tal fato pode ser justificado pela menor necessidade das folhas nesses estratos sintetizarem moléculas como taninos, visto que a intensidade luminosa é muito menor em relação às folhas que se encontram no topo e na base da copa.

De acordo com Larcher (2006), após a sua passagem pela atmosfera, a radiação solar contém radiação ultravioleta (UV) até o valor de comprimento de onda 290 nm. Essa radiação penetra nas células e é absorvida, causando injúrias agudas, devido à alta energia que possui. O comprimento de onda longo UVA atua principalmente como fóton oxidante e a radiação UVB, além desse efeito, também causa lesões nas biomembranas. No intuito de se protegerem dessa radiação, as plantas de *S. adstringens* sintetizam compostos de origem fenólica, a exemplo dos flavonoides, que têm comprimento de onda de 254 nm, que atuam na absorção da radiação nas camadas epidérmicas dos tecidos, regulando o sistema antioxidante nas células.

Jaakola et al. (2004) relatam que a hipótese da função protetora dos compostos fenólicos contra a radiação UV é suportada pelo aumento do conteúdo em flavonoides em plantas expostas à forte radiação UV.

Além de fatores abióticos, outros fatores também podem influenciar os teores de taninos, como a herbivoria. Quando os herbívoros se alimentam das folhas, os tecidos são danificados e os taninos reagem com as proteínas, tornando-os alimentos (folhas) menos acessíveis ao suco digestivo dos animais (LEWIS; STARKEY, 1968). Sendo assim, seu acúmulo nas folhas e frutos torna-os não palatáveis, inibindo a ação da herbivoria (LARCHER, 2006).

Em relação aos meses analisados (Tabela 2), verificaram-se maiores teores de fenóis totais e taninos (Gráfico 2) em foliólulos coletados nos meses de maio e setembro; no mês de maio, estes teores foram de 25,79% e 20,85% e, em setembro, 25,57% e 20,50%. Os dados climatológicos apresentados no Gráfico 3

evidenciam que os meses de maio e setembro apresentaram temperaturas de 18,7° e 21,6°C e índices pluviométricos de 19,9 mm e 127,8 mm, menores em relação aos outros meses analisados, acarretando uma maior concentração de teores de compostos fenólicos. Isso porque os teores destes compostos existentes no vegetal podem ser influenciados por vários fatores abióticos, como déficit hídrico, luz e temperatura, pois estas variáveis regulam a atividade de enzimas presentes tanto no metabolismo primário como no metabolismo secundário do vegetal, a exemplo a enzima fenilalanina amônia-liase (PAL).

Nos meses de fevereiro e dezembro foram detectadas concentrações inferiores de fenóis totais e taninos, em decorrência do alto índice pluviométrico e de temperaturas elevadas ocorridas nestes meses. No entanto, essa menor produção de fenóis e taninos está relacionada com variações anuais, mensais e diárias na temperatura, que é um dos fatores de maior influência no desenvolvimento do vegetal, afetando, portanto, a produção de metabólitos secundários, entre eles os taninos (EVANS, 1996).

Entretanto, talvez pelo fato de a temperatura ser, de modo geral, consequência de outros fatores, como altitude e sazonalidade, não existem muitos estudos sobre sua influência, isoladamente, na produção de metabólitos secundários (GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Tabela 2 Variação dos teores de fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, em %, entre as árvores nos diferentes meses de coleta

Meses	Fenóis totais	Fenóis residuais	Taninos totais	Flavonoides
Fevereiro	19,25 a	4,94 a	13,72 a	2,19 a
Maio	25,79 b	5,53 a	20,85 b	3,33 a
Setembro	25,57 b	5,07 a	20,50 b	3,22 a
Dezembro	20,22 a	5,04 a	15,18 a	2,25 a
Média	22,71	5,15	17,56	2,75

Médias seguidas por mesma letra em uma mesma coluna são estatisticamente iguais, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

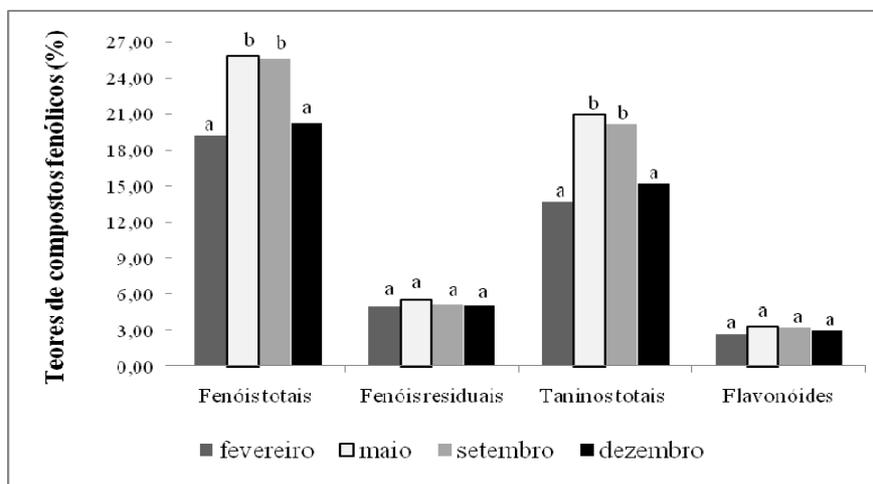


Gráfico 2 Variação dos teores de taninos, em %, entre fenóis totais, fenóis residuais, taninos e flavonoides, entre as árvores, nos diferentes meses de coleta

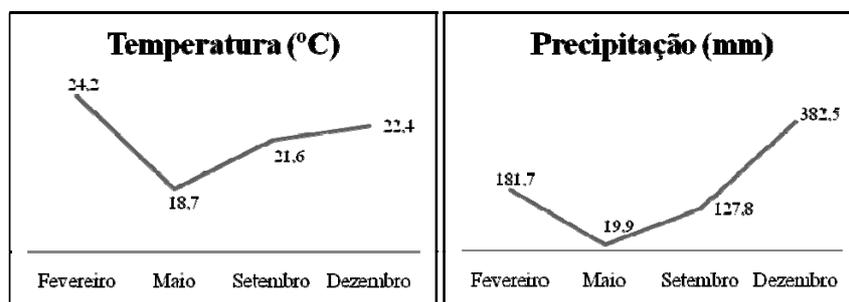


Gráfico 3 Médias dos valores de temperatura e precipitação nos meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro de 2009, em Lavras, MG. Fonte: Estação Climatológica Principal de Lavras

Em relação aos fenóis não-tânicos e flavonoides (Tabela 2), não foram observadas variações dos seus teores entre os meses analisados, tendo sido, no mês de maio, de 5,53% e 3,33%, respectivamente. Tanto os fenóis não-tânicos quanto os flavonoides não sofreram influências sazonais.

De acordo com os resultados amostrados nos Gráficos 4, observaram-se maiores valores de percentual de água no solo nos meses maio e setembro, com 25,4% e 125,3%, respectivamente. Este déficit hídrico também pode ter influenciado a concentração de taninos nestes meses, sendo inversamente proporcional (Gráfico 2). Apesar de, no mês de setembro, ter sido acumulada cerca de 5 vezes mais água no solo em relação ao mês de maio, não se observou diferença estatística na produção de tanino, 20,85% e 20,50%, respectivamente em maio e setembro, possivelmente em função de outros fatores que levaram a planta ao estresse. Todavia, além de fatores climáticos, outros fatores também podem influenciar na biossíntese de compostos fenólicos, como disponibilidade de nutrientes no solo, exposição a microrganismos, insetos, herbívoros, poluentes, entre outros (MARTINS et al., 2003).

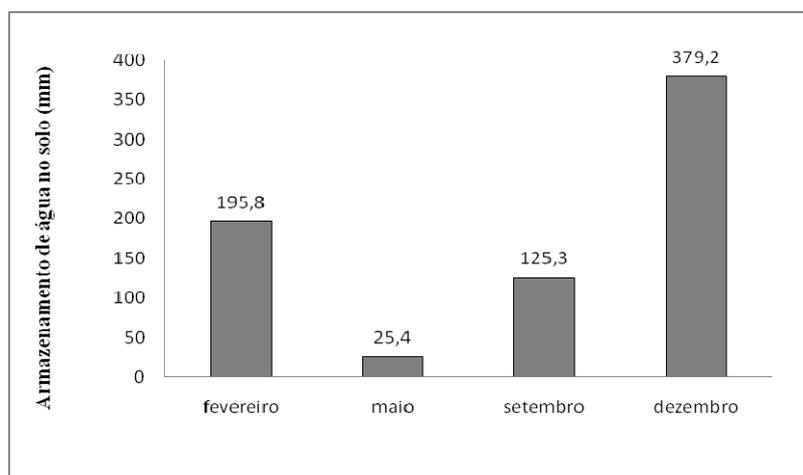


Gráfico 4 Resultado da análise de armazenamento de água no solo, em %, avaliada durante os meses do experimento (fevereiro, maio, setembro e dezembro, 2009)

Conforme mencionado, o déficit hídrico frequentemente tem consequências significativas nas concentrações de metabólitos secundários em

plantas (em especial os taninos), havendo vários relatos de que essas condições geralmente levam a um aumento na produção de vários tipos de metabólitos secundários (GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Esta variação sazonal do conteúdo em compostos fenólicos pode estar relacionada com o metabolismo e o armazenamento de carbono, sendo a quantidade total de carbono na planta potencialmente transferível entre o metabolismo primário e o secundário (HABERLE et al., 2009). Segundo a hipótese do balanço de nutrientes de carbono, as plantas translocam mais carbono para o metabolismo secundário quando há uma acumulação excessiva de carbono para além do que é necessário para o crescimento, como em situações de déficit de nutrientes, elevada intensidade luminosa e elevada concentração de CO₂, entre outras (PIMPÃO, 2009).

Pimpão (2009) ainda relata que a disponibilidade de carbono para o metabolismo secundário pode ser influenciada pelo clima e pela eficiência fotossintética das plantas em cada estação. Sendo assim, pelo fato de a espécie em estudo ser nativa do Cerrado, cujo microclima é caracterizado por elevadas temperaturas e baixa disponibilidade de água, conseqüentemente, ela tem menor eficiência fotossintética (OTIENO et al., 2007; PIMPÃO, 2009). Por outro lado, as baixas temperaturas no inverno também limitam a taxa fotossintética, confinando os meses de elevada produtividade das plantas às estações de primavera e outono, pois é nestes meses que ocorre o crescimento de novas folhas na planta, ocasionando a translocação de carbono para o metabolismo primário, o que pode explicar a diminuição do teor de taninos nos meses de fevereiro e dezembro.

No estudo realizado por Jacobson et al. (2005), com cascas de *S. adstringens*, foram obtidas maiores concentrações de fenóis totais e taninos na época chuvosa do ano. Ardisson et al. (2002) mencionam que os teores de fenóis totais foram de cerca de 30,8% e o de taninos, 29,9%. Sendo assim, grande parte

dos compostos fenólicos encontrados em *S. adstringens* é de taninos. Glasenapp (2007) encontrou valores de tanino em folhas de *S. adstringens* inferiores (12,30%) aos que foram encontrados neste trabalho.

Para Mole e Waterman (1988), a presença de fenóis totais e taninos é considerada características adaptativas às condições de alta luminosidade e falta de água, o que está de acordo com os trabalhos de Almeida et al. (2008), Campos et al. (2006), em trabalhos realizados por Goulart et al. (2008), o rendimento de taninos em folhas de *S. adstringens*, foi de 27% em setembro e 31% em maio.

4.1.1 Relação entre os métodos para determinação de taninos

O método de difusão radial e o de Folin-Ciocalteu se relacionaram de forma semelhante quanto aos teores de taninos encontrados entre os diferentes estratos da copa e entre os meses analisados, tendo os teores de taninos obtidos pelo ensaio de difusão radial sido menores do que os obtidos pelo ensaio de Folin-Ciocalteu (Figuras 5 e 6). Isso decorre do fato de que as metodologias empregadas para o presente estudo são baseadas em diferentes propriedades químicas dos taninos. No ensaio de difusão radial, os taninos contidos na amostra reagem com a proteína contida no gel, formando complexos insolúveis, estáveis e claramente visíveis a olho nu, sem necessidade de adição de corante. Esse tipo de reação pode ser comparada com a que ocorre nos testes de imunodifusão radial, em que o anticorpo contido na amostra interage com o antígeno previamente incorporado no gel, formando precipitados insolúveis que se apresentam em forma de anéis (HAGERMAN, 1987). Já no ensaio de Folin-Ciocalteu, os fenóis presentes na amostra, em meio alcalino, reagem com os ácidos fosfotungístico e fosfomolibdico contidos no reagente de Folin-Ciocalteu, formando compostos de coloração azul que são quantificados por meio de leitura espectrofotométrica (AMORIM et al., 2008).

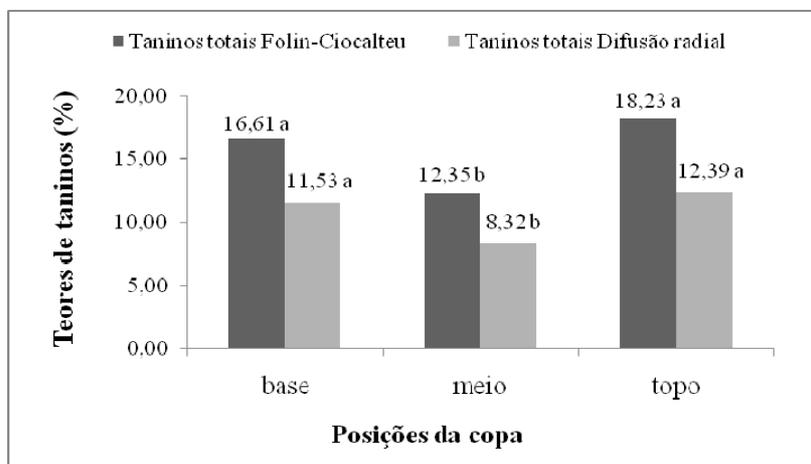


Gráfico 5 Variação dos teores de taninos, em %, obtidos pelos métodos de Folin-Ciocalteu e difusão radial, entre as árvores nos diferentes estratos da copa

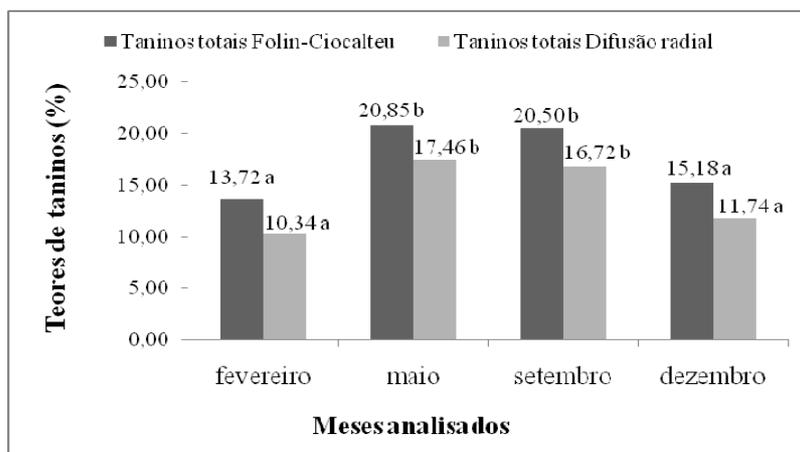


Gráfico 6 Variação dos teores de taninos, em %, obtidos pelos métodos de Folin-Ciocalteu e difusão radial, entre as árvores nos diferentes meses de coleta

4.1.2 Relação taninos e mensurações da copa

Conforme dados da Tabela 3, as nove árvores de *S. adstringens* apresentam alturas que variam de 3,97 a 5,94 m, média de 5,04 m e desvio padrão de 0,62. Em relação ao diâmetro de copa, os valores variaram entre 2,42 a 4,77 m, com média e desvio padrão de 3,26 m e 0,83, respectivamente. Quanto ao índice de área foliar, houve uma variação de 0,80% a 1,74%, com média de 1,34 e desvio padrão de 0,37. De acordo com Souza e Lorenzi (2008), o barbatimão apresenta copa média, quando comparado com outras árvores nativas.

Tabela 3 Média dos valores de altura, diâmetro de copa e índice de área foliar nos nove indivíduos de *S. adstringens*

Indivíduo	Altura (m)	Diâmetro (m)	IAF (m²)
1	4,27	2,72	0,80
2	5,60	2,42	0,89
3	5,07	2,64	0,93
4	5,15	3,03	1,45
5	3,97	2,66	1,56
6	4,88	2,93	1,35
7	5,04	4,20	1,63
8	5,45	4,77	1,69
9	5,94	3,96	1,74
Média	5,04	3,26	1,34
CV	12,28	25,57	27,58

Nos Gráficos 7, 8 e 9 estão correlacionados os teores de taninos com as variáveis altura, diâmetro de copa e índice de área foliar analisadas. Observou-se que o teor de taninos dos nove indivíduos estudados não está associado com as características biométricas altura e diâmetro de copa (Gráficos 7 e 8), apresentando resultados semelhantes aos encontrados por Teixeira, Soares e

Scolforo (1990), para a espécie *S. adstringens*. Estudos realizados por Caldeira et al. (1998) em cascas de *Acacia mearnsii* De Wild. entre diferentes classes diamétricas, essa variável não teve correlação com a produção de taninos. Contraditoriamente, Silva e Frizzo (1985) encontraram variações significativas, ao longo da altura do caule, nos teores de taninos em *A. mearnsii* De Wild.

No presente estudo, a correlação entre o índice de área foliar e a concentração de taninos (Gráfico 9) foi significativa, apresentando coeficiente de correlação de 0,748. Este resultado sugere uma possível relação da produção de tanino com a quantidade de folhas distribuída pela copa das árvores, já que o índice de área foliar indica a cobertura foliar do terreno e suas consequências na interceptação da luz, ou seja, quanto maior for a cobertura foliar, maior será a sua interceptação de luz no dossel.

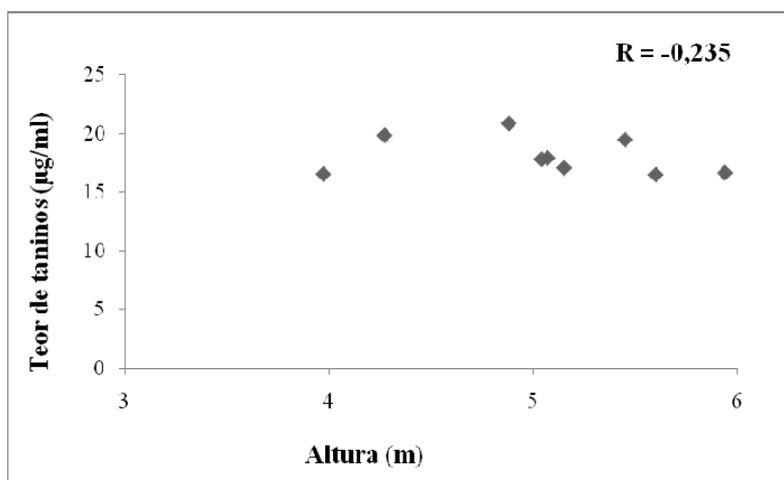


Gráfico 7 Relação entre altura da copa e o teor de taninos em folhas de *S. adstringens*

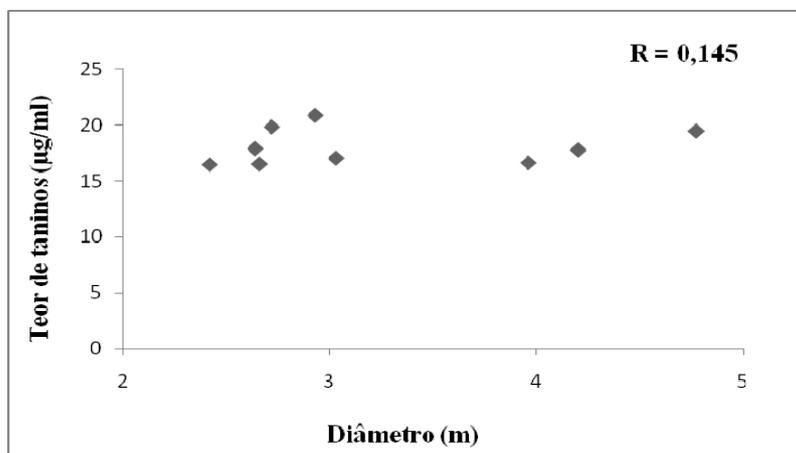


Gráfico 8 Relação entre diâmetro da copa e o teor de tanino em folhas de *S. adstringens*

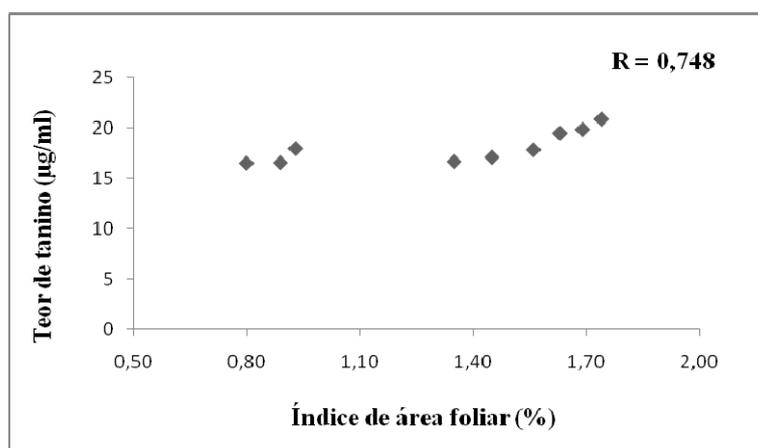


Gráfico 9 Relação entre índice de área foliar e o teor de tanino em folhas de *S. adstringens*

4.2 Determinação de clorofila

Analisando-se os dados da Tabela 4, pode-se observar que os maiores conteúdos de clorofila *a*, presentes em folhas de *S. adstringens* localizadas em diferentes estratos da copa (topo e base) 10,428 e 9,799 mg/100 mL,

respectivamente, não diferiram entre si, estatisticamente. Porém, quando analisada a posição meio 7,336 mg/100 mL, constatou-se que esta apresentou valores inferiores no conteúdo de clorofila *a*, sendo estatisticamente diferente das demais posições, apresentando redução de 11,21% em relação ao topo e 8,93% em relação à base.

Tabela 4 Resultado do teste de Tukey para clorofilas *a*, *b* e sua razão *a/b* em relação às posições da copa

Posição	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Razão <i>a/b</i>
Topo	10,428 b	2,411 a	5,505 b
Meio	7,336 a	3,472 b	2,692 a
Base	9,799 b	2,429 a	4,676 b

Médias seguidas por mesma letra em uma mesma coluna são estatisticamente iguais, a 5% de significância de probabilidade, pelo teste de Tukey

Quanto ao conteúdo de clorofila *b*, as folhas localizadas na região mediana da copa (meio) foram as que apresentaram maior concentração de clorofila *b*, 3,472 mg/100 mL, seguidas pelas da base, 2,429 mg/100 mL e do topo, 2,411 mg/100 mL, tendo o meio diferido estatisticamente das demais (Tabela 4). Sobretudo o maior valor encontrado para a clorofila *b* deve-se ao fato de que folhas de sombra têm maior conteúdo de clorofila por centro de reação e o teor clorofila *b*, quando comparado com o de clorofila *a*, é mais alto, sendo suas folhas geralmente mais finas do que as que estão diretamente expostas à radiação solar (topo).

De acordo com Taiz e Zeiger (2006), as árvores representam uma adaptação importante à interceptação da luz. A estrutura elaborada de ramificações de árvores aumenta bastante a interceptação de luz solar (principalmente folhas localizadas no topo da copa). Bem pouca radiação fotoesteticamente ativa (PAR) penetra efetivamente no dossel, atingindo o sub-bosque, pois ela é quase toda absorvida pelas folhas apicais, justificando, dessa

maneira, a maior concentração de clorofila *b* nas folhas do meio em relação às folhas no topo da copa.

Quanto à razão de clorofila *a/b*, houve diferença estatística apenas na posição meio, apresentando menor valor, 2,692 mg/100 mL. Entretanto, as demais posições não diferem entre si, tendo o topo apresentado maior razão *a/b*, 5,505 mg/100 mL, quando comparado à base, com 4,676 mg/100 mL (Tabela 4). Diferentemente dos resultados encontrados na literatura, a razão de clorofilas observada em folhas de *S. adstringens* não seguiu o padrão de proporcionalidade, que seria 3:1 para folhas das regiões mediana e base e 2:1 para folhas do topo. Dessa forma, houve uma inversão dessa proporção, pois não houve o controle nessa área, uma vez que se trata de espécie nativa do cerrado.

Conforme dados da Tabela 5, houve variação nos teores de clorofilas em *S. adstringens*, de acordo com os meses analisados. Nota-se que o mês de maior concentração de clorofila *a* foi dezembro (12,671 mg/100 mL), diferindo dos demais, sendo o teor de clorofila *b* (2,067 mg/100 mL) inversamente proporcional. De acordo com os dados climatológicos de insolação (Tabela 5), pode-se observar que as árvores de *S. adstringens* sofreram influência direta, reduzindo os teores de clorofilas *a* e *b*, bem como sua razão. Isso porque nos meses maio e setembro ocorre a emissão de novas folhas, quando o metabolismo e a atividade fotossintética são menores.

Tabela 5 Resultado do teste de Tukey para clorofilas *a*, *b*, razão *a/b* e médias dos valores de insolação nos meses de fevereiro, maio, setembro e dezembro de 2009

Meses	Insolação total (h)	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Razão <i>a/b</i>
Fevereiro	191,8	10,262 c	2,197 a	5,309 c
Maio	222,2	5,132 a	3,944 c	1,503 a
Setembro	202,6	8,684 b	2,874 b	3,218 b
Dezembro	162,2	12,671 d	2,067 a	7,132 d

Médias seguidas por mesma letra, em uma mesma coluna, são estatisticamente iguais, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Dados climatológicos de insolação Fonte: Estação Climatológica Principal de Lavras

Em outras palavras, o reajuste da maquinaria fotossintética nessas folhas recém-expandidas (folhas jovens) levará um certo tempo para atingir determinados níveis hormonais e enzimáticos, dessa forma ocorrendo a sua maturidade fisiológica.

O fato de os indivíduos de *S. adstringens* perderem parcialmente suas folhas está ligado ao seu biociclo. De acordo com Souza e Lorenzi (2008), a espécie em estudo é classificada como perenifólia, o que justifica o menor conteúdo de clorofila *a* e razão *a/b*. Posteriormente com a emissão de novas folhas, no período de maio a setembro, acarretou uma maior concentração de taninos, porém nos demais meses que foram avaliados (dezembro e fevereiro), observaram-se maior incremento da concentração de clorofila *a* e razão *a/b* e menor concentração de clorofila *b*.

Segundo Larcher (2006), a deficiência de clorofila pode ser reconhecida pela coloração pálida, causando clorose e ocasionando uma considerável redução na intensidade fotossintética. O autor ressalta que essa deficiência, muitas vezes, ocorre no começo do desenvolvimento das folhas e novamente no outono, tornando-as amareladas. Este fato também já foi relatado em trabalhos realizados por Inowe e Martins (2006).

4.3 Análise anatômica e histoquímica

Em secções paradérmicas, foi observado que os foliólulos são anfi-hipoestomáticos, apresentam estômato predominante do tipo paracítico, ocorrendo também de forma esparsa os tipos anisocítico e anomocítico, presentes tanto na face adaxial quanto na face abaxial da folha (Figuras 5A e 5B), sendo estes de formato reniforme.

Oliveira e Figueiredo (2007) também encontraram estes três tipos de estômatos nos foliólulos anfiestomáticos de *S. adstringens*, porém, observaram predominância do tipo anomocítico. Também para *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (lobeira), uma espécie de Cerrado, foram encontrados estes três tipos de estômatos (ELIAS et al., 2003). Em *Hibiscus tiliaceus* L. (algodão-da-praia) também foram observados estômatos dos tipos paracítico, anomocítico e anisocítico na epiderme adaxial (ROCHA; NEVES, 2000).

Em relação ao índice estomático (Tabela 6), este é maior na posição base da copa, seguida pelo meio e o topo, ocorrendo em maior número na face abaxial, quando comparada com a face adaxial.

Tabela 6 Índice estomático (mm²) em diferentes estratos da copa (base, meio e topo), da epiderme da face adaxial (ADA) e abaxial (ABA) de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

Posição	Adaxial	Abaxial
Base	190,75 a	256,78 a
Meio	172,88 b	233,05 b
Topo	157,63 c	207,80 c

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

De acordo com Morretes (1969), em plantas de Cerrado é muito comum a presença de estômatos nas duas faces da lâmina foliar. A característica anfiestomática representa uma adaptação que maximiza a condutância

estomática, já que as trocas gasosas serão realizadas pelas duas faces da folha e, com isso, a planta aproveita melhor o pouco tempo de alta umidade relativa que há em ambientes xéricos (MEDRI; LLERAS, 1980; MOTT; GIBSON; O'LEARY, 1982).

De acordo com Ferri (1981), entre os caracteres anatômicos xeromorfos das folhas figuram epiderme multisseriada ou hipoderme e outros tecidos de reserva de água; estômatos situados em depressões da epiderme e abundância de tricomas e de tecidos mecânicos, entre outros. A localização dos estômatos em depressões visa reduzir a perda excessiva de água, diminuindo o contato da superfície do estômato com o vento (SILVEIRA, 2004). Assim, a posição das células estomáticas normalmente está relacionada com as condições hídricas do ambiente (ALQUINI et al., 2006).

Segundo Mott, Gibson e O'Leary (1982), a presença de estômatos em ambas as epidermes representa uma adaptação que maximiza a condutância estomática, já que as trocas gasosas serão realizadas pelas duas faces da folha e, com isso, a planta aproveita melhor o pouco tempo de alta umidade relativa que há em ambientes xéricos (MEDRI; LLERAS, 1980).

Stryphnodendron adstringens apresenta epiderme unisseriada, com cutícula espessa, mesofilo isobilateral formado por duas camadas de parênquima paliçádico, sendo estes presentes em ambas as faces, sendo que na face abaxial encontra-se menos desenvolvido (Figura 5C). O feixe vascular é colateral, envolto por bainha esclerenquimática e o colênquima apresenta-se tendência para forma angular (Figura 5D). Segundo Cutter (1987), é normal que o mesofilo isolateral de algumas folhas possa apresentar as células paliçádicas menos desenvolvidas do lado abaxial da folha, como se pode observar em folhas de *S. adstringens*.

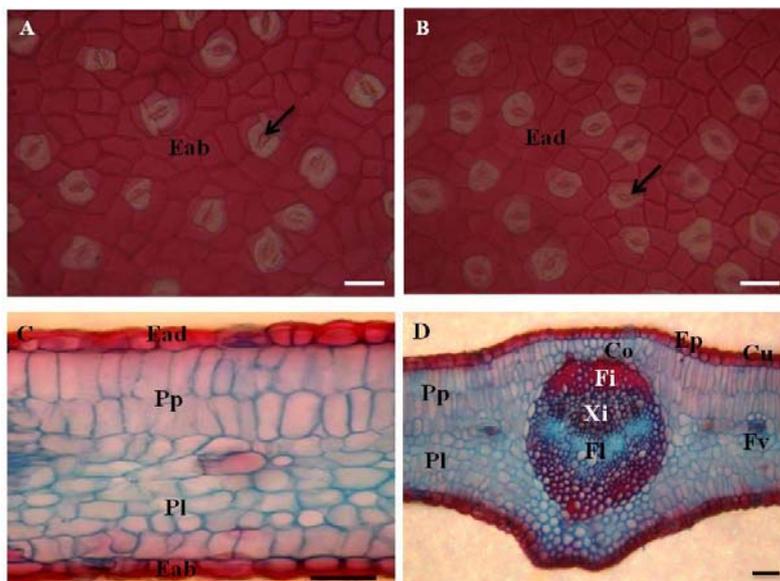


Figura 5 (A-D) Secções paradérmicas e transversais da lâmina foliar de *S. adstringens*. 50 μm . Secções paradérmicas da lâmina foliar evidenciando as faces adaxial (A) e abaxial (B), com estômatos anomocíticos (setas pretas) 50 μm . (C-D) Secções transversais com detalhes do mesofilo isobilateral, epiderme adaxial (Ead); epiderme abaxial (Eab); parênquima paliçádico (Pp); parênquima lacunoso (Pl) 50 μm . (D) Detalhes da nervura central, evidenciando a cutícula Cu; epiderme Ep; colênquima Co; fibras Fi; xilema Xi; floema Fl; feixe vascular do mesofilo Fv.

Conforme Passos e Mendonça (2006), a cutícula está relacionada com defesa da planta contra a dessecação, o que é justificável pelo fato de essa espécie crescer em ambiente sujeito a estresse hídrico. De acordo com Taiz e Zeiger (2006), em plantas que crescem em ambientes secos, a presença de cutícula mais espessa, além de diminuir a perda de água, auxilia no bloqueio de entrada de fungos e bactérias patogênicas.

A cutícula espessa atua também na defesa contra a herbivoria. Segundo Chadzon e Kaufmann (1993), Dickson (2000) e Fahn (1990), a cutícula tem a

função de aumentar a reflexão da luz incidente, minimizando os danos que o excesso de irradiação do sol pode provocar nos tecidos subjacentes.

Quanto à localização dos taninos nas células de *S. adstringens*, estes se encontram presentes nas células epidérmicas, na cutícula, no mesófilo e estão presentes nos parênquimas paliçádicos e lacunosos, e também em células de colênquima (Figuras 6A e 6B). Em espécies de ambiente de Cerrado, a presença de compostos fenólicos na epiderme é extremamente interessante, pois eles funcionam como mecanismo de defesa contra ataques de microrganismos e herbivoria, que são estratégias adaptativas às condições climáticas do bioma Cerrado (COLEY, 1983; TURNER, 2001).

Em relação à deposição de taninos nas células entre as posições da copa, observou-se (Figuras 6C-E) que os taninos encontram-se biossintetizados em maior quantidade nas células das folhas localizadas no topo da copa (6E), sendo este um mecanismo de defesa do vegetal contra a radiação solar, seguido pela base, tendo a posição mediana da copa (6D) obtido menor quantidade.

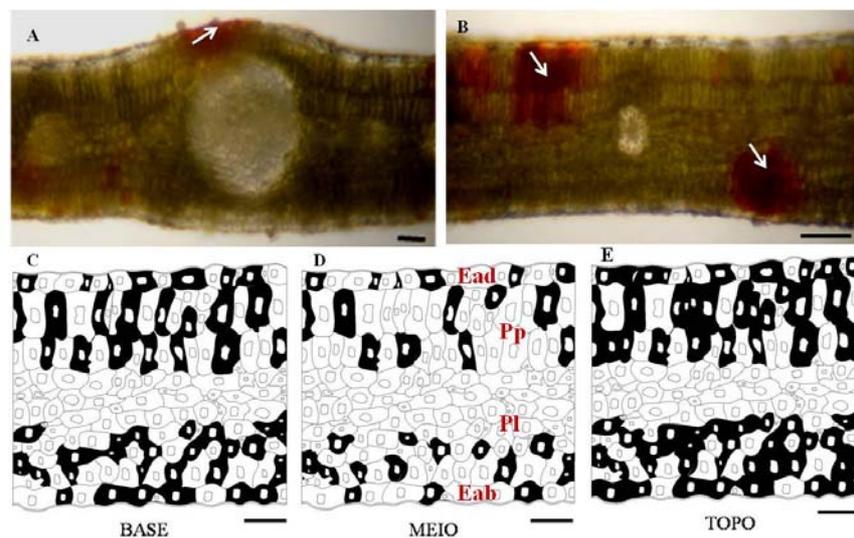


Figura 6 (A -B setas brancas) Presença de células secretoras de taninos presentes no colênquima e ambos os parênquimas, paliçádico e lacunoso. 50 μ m. (B) mesofilo isobilateral, epiderme adaxial Ead; epiderme abaxial Eab; parênquima paliçádico Pp; parênquima lacunoso Pl. 50 μ m. (C-E) representação esquemática do mesofilo das folhas de barbatimão, evidenciando a deposição de taninos nas células entre os diferentes estratos da copa. Pp parênquima paliçádico; Pl parênquima lacunoso; Ead; Epiderme adaxial; Eab epiderme abaxial

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de a casca de *Stryphnodendron adstringens* apresentar teor de tanino maior em relação às folhas, deve-se levar em consideração que a coleta de cascas do caule das árvores é bastante danosa, pois parte do sistema condutor do vegetal (floema) é removido, fazendo com que haja uma deficiência da redistribuição dos fotoassimilados, diminuindo o aporte de nutrientes e água, comprometendo o metabolismo do vegetal.

Por esta razão, já que as folhas produzem taninos em maiores concentrações na posição topo da copa e nos meses de maio e setembro, propõe-se que a coleta de taninos seja realizada neste estrato (topo) do vegetal e, nestes períodos, apesar de serem necessários estudos complementares da sua eficiência na produção de adesivos para madeira, as folhas de *S. adstringens* podem vir a ser uma alternativa viável para a indústria madeireira, tornando-se uma matéria-prima de maior valor agregado, como as cascas de *Acacia mearnsii*.

Estudos sobre manejo sustentável fornecem subsídios às comunidades acerca dos recursos vegetais locais, de modo a direcionar a indústria madeireira quanto à coleta de amostras com alto rendimento de taninos.

6 CONCLUSÕES

As folhas de *S. adstringens* produzem fenóis totais e taninos em maiores concentrações nas posições topo e base da copa e nos meses de maio e setembro.

Não houve diferenças nos teores de fenóis residuais e flavonoides entre as posições da copa e entre os meses analisados.

Os teores de taninos obtidos pelo ensaio de difusão radial foram menores do que os teores obtidos pelo ensaio de Folin-Ciocalteu.

As características biométricas, como altura e diâmetro da copa, não estão associadas à produção de taninos, sendo esta influenciada apenas em relação ao índice de área foliar (IAF).

A concentração de clorofila *a* foi maior em folhas localizadas no topo e na base da copa, e a clorofila *b* obteve maior valor no meio da copa.

Secções paradérmicas revelaram maior número de estômatos na face abaxial, sendo a espécie classificada como anfi-hipoestomática.

Os taninos se encontram presentes nas células epidérmicas, na cutícula, no mesofilo nos parênquimas paliçádico e lacunoso e em células de colênquima.

REFERÊNCIAS

- ADÂMOLI, J. et al. **Solos dos cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. São Paulo: Nobel, 1986. 74 p.
- ALMEIDA, N. F. de et al. Rendimentos em taninos das folhas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens*] em diferentes períodos de coleta visando a produção de adesivo para a madeira. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 11., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: UEL, 2008. p. 5-8.
- ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMPRAPA-CEPAC, 1998. 464 p.
- ALQUINI, Y. et al. Epiderme. In: GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, S. M. C. (Ed.). **Anatomia vegetal**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 87-107.
- AMORIM, E. L. C. et al. A simple and accurate procedure for the determination of Tannin and Flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Functional Ecosystems and Communities**, New York, v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008.
- ARDISSON, L. et al. Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 27-34, jan. 2002.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v. 24, n. 1, p. 1-15, Jan. 1949.
- BARRADAS, M. M.; HANDRO, W. Algumas observações sobre a germinação da semente do barbatimão, *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. (Leguminosae-Mimosoideade). **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 2, p. 139-150, 1974.
- BORGES FILHO, H. C.; FELFILI, J. M. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 27, n. 5, p. 735-745, set./out. 2003.

BOTREL, R. T. et al. Influência do solo e topografia sobre as variações da composição florística e estrutural da comunidade arbóreo-arbustiva de uma floresta estacional semidecidual em Ingaí, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 195-213, mar./abr. 2002.

BROWNING, B. L. **The chemistry of wood**. New York: Interscience, 1963. 60 p.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur dappelfarbung astrablau-safranin. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 255-256, 1972.

CALDEIRA, M. V. W. et al. Quantificação de taninos em três povoamentos de *Acacia mearnsii* De Wild. **Boletim de Pesquisas Florestais**, Piracicaba, n. 37, p. 81-88, set. 1998.

CAMPOS, A. C. M. et al. Extração aquosa de taninos a partir de folha de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRAS E EM ESTRUTURAS DE MADEIRAS, 10., 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo: EDUSP, 2006. p. 7-8.

CARLQUIST, S. **Comparative plant anatomy**. New York: Holt, 1961. 146 p.

CARVALHO, P. E. R. **Influência da intensidade luminosa e do substrato no crescimento, no conteúdo de clorofila e na fotossíntese de *Cabralea canjerana* (Vell) Mart. subsp. *canjerana*, *Calophyllum brasiliense* Camb. e *Centrolobium robustum* (Vell) Mart. ex Benth., na fase juvenil**. 1996. 157 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1996.

CASTRO, A. H. F. et al. Calogênese e teores de fenóis e taninos totais em barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 385-390, mar./abr. 2009.

CHAZDON, R. L.; KAUFMANN, S. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. **Functional Ecology**, Oxford, v. 7, n. 1, p. 385-394, Feb. 1993.

CHEROBINI, E. A. I. **Avaliação da qualidade de sementes de mudas de espécies florestais nativas**. 2006. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

CINTRON, G. Variation in size and frequency of stomata with altitude in the Luquillo Mountains. **Office of Information Service**, San José, v. 9, p. 133-135, 1970.

COLEY, P. D. Herbivory and defensive characteristic of tree species in a lowland tropical forest. **Ecological Monographs**, Washington, v. 53, n. 2, p. 209-233, 1983.

CORRÊA, P. C. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Nacional, 1984. 764 p.

COSTA, A. C. **Farmacognosia**. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. v. 1, 1031 p.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal: experimento e interpretação: parte II, órgãos**. São Paulo: Roca, 1987. 336 p.

DICKISON, W. C. **Integrative plant anatomy**. San Diego: Academic, 2000. 533 p.

DOAT, J. Les tanins dans les bois tropicaux. **Bois et Forêts des Tropiques**, Norgent, n. 182, p. 35-37, 1978.

DUDLEY, E. C. Adaptive radiation in the Melastomataceae along an altitudinal gradient in Peru. **Biotropica**, Lawrence, v. 10, n. 2, p. 134-143, 1978.

ELIAS, S. R. M. et al. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil. (Solanaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 169-174, mar./abr. 2003.

EVANS, W. C. **Trease and evans' pharmacognosy**. London: WB Saunders, 1996. 526 p.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Oxford: Pergamon, 1990. 544 p.

FARMER, R. H. **Chemistry in the utilization of wood**. Oxford: Pergamon, 1967. 193 p. (Pergamon Series of Monographs on Furniture and Timber, 9).

FERREIRA, D. F. **Sisvar**. Versão 4.2. Lavras: UFLA, 2003. Software.

FERRI, M. G. **Botânica: morfologia externa das plantas: organografia**. 15. ed. São Paulo: Nobel, 1981. 113 p.

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1984. 62 p. (Série Documentos).

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determination in proteins. **Journal of Biology and Chemistry**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 627-650, 1927.

FRANCO, A. M. S.; DILLENBURG, L. R. Ajustes morfológicos e fisiológicos em plantas jovens de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em resposta ao sombreamento. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 135-144, jun. 2007.

GLASENAPP, J. S. **Estrutura genética e fenóis totais de populações naturais de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*)**. 2007. 84 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr. 2007.

GOULART, S. L. et al. Obtenção de taninos a partir das folhas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em diferentes granulometrias visando a produção de adesivos. In: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 11., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: UEL, 2008. p. 7-9.

HABERLE, K. H. et al. Variation of defence-related metabolites in the foliage of adult beech and spruce: a conceptual approach to approximating traded-off carbon. **European Journal of Forest Research**, London, v. 128, n. 2, p. 99-108, Mar./Apr. 2009.

HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 13, n. 3, p. 437-449, Mar. 1987.

HATANO, T.; KIRA, R.; YOSHIZAKI, M. L. Seasonal changes in the tannins of *Liquidambar formosana* reflecting their biogenesis. **Phytochemistry**, Saint Paul, v. 25, n. 12, p. 2787-2789, Dec. 1986.

INOUE, M. T.; MARTINS, E. G. Variação sazonal da fotossíntese e clorofila em progênies de *Grevillea robusta* Cunn. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 113-124, jan./jun. 2006.

JAAKOLA, L. et al. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. **Planta**, Berlin, v. 218, n. 5, p. 721-728, Mar. 2004.

JACOBSON, T. K. B. et al. Influência de fatores edáficos na produção de fenóis totais e taninos de duas espécies de barbatimão (*Stryphnodendron* sp.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 3, p. 163-169, 2005.

JOHANSEN, D. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 112 p.

KER, J. C.; RESENDE, M. Recursos edáficos dos cerrados: ocorrência e potencial. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO: BIODIVERSIDADE E PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ALIMENTOS E FIBRAS NOS CERRADOS, 8., 1996, Brasília. **Anais...** Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1996. p. 15-19.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 707-713, Mar. 2005.

KOUKI, M.; MANETAS, Y. Resource availability affects differentially the levels of gallotannins and condensed tannins in *Ceratonia siliqua*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 30, n. 7, p. 631-639, June/July 2002.

KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. **The physiological ecology of woody plants**. San Diego: Academic, 1991. 657 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2006. 550 p.

LEWIS, J. L.; STARKEY, R. L. Vegetable tannins, their decomposition and effects on decomposition of some organic compounds. **Soil Science**, Baltimore, v. 106, n. 4, p. 241-247, 1968.

LEWIS, M. G. The physiological significance of variation in leaf structure. **Science Progress**, Northwood, v. 60, p. 25-51, 1972.

LOPES, G. C.; SANCHES, C. C. A.; NAKAMURA, C. V. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 99, n. 2, p. 265-272, Apr. 2005.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 52, p. 2423-2426, 1974.

MACEDO, F. M. de et al. Determinação de compostos fenólicos totais em barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville]. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 1164-1165, 2007. Suplemento.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 220 p.

MCKEY, D.; WATERMAN, P. G.; MBI, C. N. Phenolic content of vegetation in two African rain forest: ecological implications. **Science**, New York, v. 2002, p. 61-64, 1978.

MEDRI, M. E.; LLERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 10, n. 3, p. 463-493, set. 1980.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 527-554.

MOLE, S.; WATERMAN, P. G. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of Rain-Forests plants: II., potential significance to herbivores. **Journal Chemical Ecology**, Easton, v. 14, n. 1, p. 23-34, Dec. 1988.

MONTEFUSCO, A. R. G. **Anatomia ecológica do lenho de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae), barbatimão, no parque estadual do cerrado, Jaguariaíva, PR**. 2005. 118 p. Dissertação (Mestrado e Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MONTEIRO, J. M. M. et al. Effects of seasonal climate changes in the caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 3, p. 338-344, jul./set. 2006.

_____. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 6, p. 999-1005, nov./dez. 2005.

MORRETES, B. L. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado III. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP**, São Paulo, v. 24, p. 7-32, 1969.

MOTT, K. A.; GIBSON, A. C.; O'LEARY, J. W. The adaptive significance of amphistomatic leaves. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 5, n. 3, p. 455-460, Mar. 1982.

OLIVEIRA, A. L. S.; FIGUEIREDO, A. D. L. Anatomia foliar em plantas adultas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, p. 321-323, jul. 2007. Suplemento.

OTIENO, D. et al. Regulation of transpirational water loss in *Quercus suber* trees in a Mediterranean-type ecosystem. **Tree Physiology**, Victoria, v. 27, n. 7, p. 1179-1187, July 2007.

PANIZZA, S. et al. *Stryphnodendron barbatiman* (Velloso) Martius: teor de tanino na casca e sua propriedade cicatrizante. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 10, n. 7, p. 101-106, out./dez. 1998.

PANSHIN, A. J. et al. **Forest products: their sources, production, and utilization**. New York: McGraw-Hill, 1962. 538 p.

PASSOS, M. A. B.; MENDONÇA, M. S. Epiderme dos segmentos foliares de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em três fases de desenvolvimento. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 4, p. 431-436, 2006.

PIMPÃO, R. C. S. **Compostos fenólicos e sua actividade antioxidante em espécies de *Juniperus***: análise da produção sazonal e sob condições de stresse. 2009. 66 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

PIZZI, A. Tannin-based wood adhesives. In: _____. **Advanced wood adhesives technology**. New York: M. Dekker, 1994. p. 125-132.

PIZZI, A.; MITTAL, K. L. **Handbook of adhesive technology**. New York: M. Dekker, 2003. 720 p.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 89-168.

RICHTER, H. G. Wood and bark anatomy of Lauraceae: I., aniba aublet. **IAWA Bulletin**, Leiden, v. 2, n. 45, p. 79-87, June 1981.

RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo: EDUSP, 1976. 229 p.

ROCHA, J. F.; NEVES, L. de J. Anatomia foliar de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 78/79, p. 113-132, 2000.

RODRIGUES, V. E. G. **Levantamento florístico e etnobotânico de plantas medicinais dos cerrados na região do Alto do Rio Grande, Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 1998. 235 p.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. de. **Plantas medicinais no domínio dos Cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180 p.

SALMINEN, J. et al. Seasonal variation in the content of hydrolyzable tannins in leaves of *Betula pubescens*. **Phytochemistry**, Saint Paul, v. 57, n. 13, p. 15-22, June 2001.

SANCHES, A. C. C. et al. Estudo morfológico comparativo das cascas e folhas de *Stryphnodendron adstringens*, *Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron obovatum* - Leguminosae. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 26, n. 3, p. 362-368, 2007.

SANTANA, A. E.; BAUMANN, E. D.; CONNER, A. H. Resols resins prepared with tannin liquified in phenol. **Holzforschung**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 146-152, 1995.

SANTOS, S. C. et al. Tannin composition of barbatimão species. **Fitoterapia**, Milano, v. 73, n. 2, p. 292-299, 2002.

SCHOFIELD, P.; PELL, A. N.; MBUGUA, D. M. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, n. 7, p. 21-40, June 2001.

SILVA, M. C.; FRIZZO, S. M. Determinação de taninos na casca de *Acacia mearnsii* De Wild., em diferentes alturas do tronco. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 17, n. 1, p. 57-61, 1985.

SILVA, T. S. S. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto**. 1999. 87 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 1999.

SILVEIRA, F. A. O. **Anatomia vegetal**. Curvelo: Faculdade de Ciências de Curvelo, 2004. Disponível em: <http://www.joinville.udesc.br/sbs/professores/arlindo/materiais/Anatomia_Fernando.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2011.

SIMÕES, C. M. O.; FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 135-145.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 640 p.

STAHL, E.; SCHILD, W. Pharmazeutische biologie 4: drogenanalyse II. In: FISHER, G. (Ed.). **Innhatsstoffe und isoliennongen**. Stuttgart: Verlag, 1981. p. 126-127.

STRASBURGER, E. et al. **Tratado de botânica**. Barcelona: Omega, 1994. 296 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 715 p.

TANNER, E. V. J.; KAPOV, V. Leaf structure of Jamaican upper montane rainforest trees. **Biotropica**, Lawrence, v. 14, n. 1, p. 16-24, 1982.

TEIXEIRA, M. L.; SOARES, A. R.; SCOLFORO, J. R. S. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em 10 locais de Minas Gerais. **Ciências e Prática**, Lavras, v. 14, n. 2, p. 229-232, 1990.

TURNER, I. M. **The ecology of trees in the tropical rain forest**. Cambridge: Cambridge University, 2001. 298 p.

TURNER, I. M.; ONG, B. L.; TAN, H. T. W. Vegetation analysis, leaf structure and nutrient status of a Malaysian heath community. **Biotropica**, Lawrence, v. 27, n. 1, p. 2-12, Jan. 1995.

TRUGILHO, P. F. et al. Determinação do teor de taninos na casca de *Eucalyptus* spp. **Cerne**, Lavras, v. 9, n. 2, p. 246-254, dez. 2003.

WHATLEY, J. M.; WHATLEY, F. R. A. **Luz e a vida das plantas**. São Paulo: EPU, 1982. 101 p. (Temas de Biologia, 30).