

## Estudo morfoanatômico preliminar do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae)

Lúcia R. Rocha Martins<sup>1</sup>, Káthia S. Mathias Mourão<sup>2</sup>, Adriana L. Meyer Albiero<sup>3</sup>, Diógenes A. Garcia Cortez<sup>1,3\*</sup>, Benedito P. Dias-Filho<sup>1,4</sup>, Celso V. Nakamura<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

<sup>3</sup>Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil,

<sup>4</sup>Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil

**RESUMO:** Descrições morfoanatômicas preliminares do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze foram realizadas a partir de material vegetal fresco e fixado. Secções transversais e paradérmicas, coradas com safranina/azul de astra e azul de toluidina foram analisadas ao microscópio. As superfícies do caule e da folha foram observadas através de microscopia eletrônica de varredura. *A. australe* apresenta, tanto no caule quanto na folha, tricomas tectores pluricelulares, unisseriados e de extremidades afiladas, e glandulares discóides, com pedúnculo curto unicelular, no qual se prendem cinco séries de células. A folha é anfiestomática e os estômatos são do tipo anomocítico, levemente proeminentes em relação ao nível das demais células epidérmicas. O caule apresenta crescimento secundário inicial, destacando-se os ductos secretores no parênquima cortical e medular.

**Unitermos:** *Acanthospermum australe*, aspectos estruturais, órgãos vegetativos, diagnose.

**ABSTRACT:** "A preliminary morphological and anatomical study of the stem and leaf of *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae)". Preliminary morphological and anatomical descriptions of stem and leaf of *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze were made in fresh and fixed material. Cross and superficial sections, stained with safranin/astra blue and Toluidine blue were analyzed at the light microscopic and the images were acquired by means the program Image Pro-Plus, version 4.0 (Media Cybernetics). The surface of the stem and leaf were observed through scanning electronic microscopy. The species presents in the stem and leaf surface multicellular nonglandular trichome, uniseriate with a pointed edge and multicellular glandular trichome like a disk with a unicellular peduncle, in which is attached a series of five cells. The leaf presents anomocytic stomata in both surfaces a little prominent in relation to the level of the epidermal cells. The stem presents an initial secondary growth with evident secretory ducts in the cortex and pith.

**Keywords:** *Acanthospermum australe*, structural aspects, vegetative organs, diagnose.

### INTRODUÇÃO

O Brasil tem grande diversidade de plantas com potenciais medicinais, ainda não pesquisados, e que são promissoras fontes de inovações terapêuticas e farmacológicas para as mais diversas áreas da saúde humana. A importância medicinal, econômica e ecológica de espécies nativas brasileiras, bem como o risco de sua extinção pela ação predatória do homem, tem motivado os estudos destas plantas, visando sua preservação e aproveitamento racional (Souza et al., 2003).

Um dos aspectos mais delicados da fitoterapia é a diversidade de nomes vernaculares que são atribuídos às plantas, que podem variar para cada região do Brasil (Lorenzi; Matos, 2002). Assim, um trabalho com fitoterápico se inicia com a correta identificação da espécie estudada. Dentre as evidências utilizadas para esse fim, as características morfológicas e anatômicas estão entre as mais baratas e acessíveis. Considerando que os fitoterápicos são comercializados, em grande parte, sob a forma de pó, ou seja, bastante fragmentados, as descrições morfoanatômicas estão entre os primeiros

parâmetros para o controle de qualidade.

A família Asteraceae é cosmopolita, contando com aproximadamente 1.100 gêneros e aproximadamente 25.000 espécies, encontradas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas montanhosas, sendo mais abundantes nas regiões abertas e áridas do que nas florestas tropicais úmidas (Barroso, 1991; Judd et al., 1999). No Brasil, está representada por cerca de 180 gêneros, que em sua grande maioria, são constituídos de plantas herbáceas, anuais ou perenes, subarborescentes ou arbustivas e raramente arbóreas (Barroso, 1991).

De acordo com a literatura (Singh, 1973; Lorenzi; Matos, 2002), *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze, é planta herbácea da família Asteraceae, tribo Heliantheae e subtribo Melampodinae, comumente conhecida no Brasil como: carrapichinho, carrapicho-de-carneiro, carrapicho-rasteiro, amor-de-negro, mata-pasto, picão-da-praia, maroto, dentre outros. Está amplamente dispersa no Brasil, onde cresce vigorosamente em solos agrícolas, principalmente os originados de campos e cerrados de textura mais arenosa, em pastagens e terrenos baldios, sendo considerada uma planta daninha pelos agricultores.

Segundo Rodrigues e Carvalho (2001) e Lorenzi e Matos (2002), os ramos de *A. australe* são amplamente empregados na medicina tradicional brasileira, na forma de chás por infusão ou decocção, sendo utilizada como tônica, diaforética, eupéptica, vermífuga, antidiarréica, antimalárica, aromática, antiblenorrágica, febrífuga e antianêmica. Em uso externo, na forma de banho, é indicado contra dores lombares, reus ou nos membros, úlceras, feridas e micoses. Shimizu et al. (1987), relata o uso de *A. australe* no tratamento de reumatismos e artrites por via oral, além do uso externo em inchaços e hemorragias. Uma outra espécie comum no nordeste do Brasil, *A. hispidum*, é usada como broncodilatador e comercializada com o nome de asmaflora (Tôrres et al., 2005).

Considerando que *A. australe* apresenta potencial terapêutico para tornar-se um medicamento fitoterápico, este trabalho teve o objetivo de realizar uma descrição morfoanatômica do caule, da folha e do pó desta espécie, contribuindo com dados para análise de seu perfil farmacognóstico.

## MATERIAL E MÉTODOS

Caules e folhas de *Acanthospermum australe* foram coletados de dois espécimes em abril de 2003, em uma área de cerrado, na periferia da cidade de Campo Grande/MS. Material testemunho foi depositado no Herbário da Universidade Estadual de Maringá, Paraná sob número de registro HUM 10.508.

As análises morfológicas e anatômicas foram feitas com material vegetal fresco e fixado em solução de FAA 50 e conservado em etanol 70% (v/v), segundo técnica descrita por Johansen (1940).

Foram realizadas secções transversais e paradérmicas à mão livre de folhas do terceiro nó (ápice, meio e base) e transversais no primeiro e terceiro entrenó do caule, dos dois espécimes coletados. Com este material, foram preparadas lâminas semipermanentes com os cortes descorados em solução de hipoclorito de sódio a 20%, lavados em água destilada e corados com safranina 1% e solução de azul de Astra a 1% (Gerlach, 1969), montados entre lâmina e lamínula com gelatina glicerina.

Devido à textura frágil, a folha foi fixada, posteriormente desidratada em série etílica e incluída em "Historesin" da marca Leica, seguindo-se as recomendações do fabricante. As secções foram coradas com solução aquosa de azul de toluidina 1% (O'Brien; Feder; McCully, 1964) e montadas em Permount.

Na obtenção do pó, partes aéreas vegetativas coletadas para este fim foram secas em estufa de ar circulante à temperatura média de 45°C, durante 72 horas, e posteriormente moídas em moinho de facas, e tamizadas, resultando em pós tamanho 20# (20 mesh). Para as preparações semi-permanentes o pó foi clarificado com solução de hipoclorito de sódio a 20%, durante 3 minutos, lavado sucessivas vezes com água destilada e corado com safranina e azul de Astra. Após nova lavagem, foi centrifugado (1000 rpm por 2 minutos) e montado entre lâmina e lamínula com gelatina glicerina (Albiero et al., 2001).

O padrão de venação da lâmina foliar foi realizado seguindo as técnicas descritas por Handro (1964) e Felipe e Alencastro (1966), com algumas modificações, e a terminologia para descrição adotou critérios propostos por Hickey (1973).

As análises das superfícies do caule e da folha foram realizadas utilizando-se Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), sendo que o material fixado em FAA 50 foi desidratado, submetido ao ponto crítico em aparelho BALZERS CPD 030, e após montagem em suporte metálico foi metalizado em ouro (Robbards, 1978). Na visualização e captura de imagens utilizou-se microscópio SHIMADZU SS-550 com tensão de aceleração de 10 kV.

Os desenhos foram elaborados com auxílio de microscópio estereoscópico LEICA M3Z com câmara clara acoplada. Os aspectos anatômicos da folha e do caule foram observados, descritos e ilustrados em microscópio óptico OLYMPUS BX 50 com sistema de captura de imagem acoplado, utilizando-se o programa Image Pro Express, versão 4.5.1.3 (Media Cybernetics). As escalas referentes às ilustrações foram obtidas utilizando-se régua milimetrada e lâmina micrométrica, nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

## RESULTADOS

### Aspectos morfológicos gerais da espécie

*Acanthospermum australe* apresenta hábito herbáceo, com os ramos prostrados e bastante ramificados, de aproximadamente 20 cm de comprimento. As folhas são opostas, curtíssimo-pecioladas, inteiras, com margens serreadas e comprimento médio de três centímetros (Figuras 1-3). As inflorescências são levemente amareladas e envoltas externamente por brácteas membranáceas.

### Anatomia do caule

O caule é cilíndrico em secção transversal e em estrutura primária apresenta epiderme com células tabulares, de maior comprimento no sentido longitudinal do órgão (Figuras 5, 20). Entre estas células ocorrem tricomas tectores pluricelulares, de tamanhos variados, unisseriados e agudos no ápice, além de tricomas glandulares, sésseis, de formato ovóide em secção longitudinal, pluricelulares, constituídos por cerca de cinco séries de células secretoras, apresentando cutícula distendida no ápice por acúmulo de material secretado (Figuras 13-15, 19-21).

No caule em estrutura primária, o córtex é constituído por quatro camadas de colênquima subepidérmico contínuo, com espessamento angular-lamelar; abaixo do colênquima encontram-se cerca de três camadas de parênquima clorofiliano, onde ocorrem ductos secretores dispostos alternadamente aos feixes vasculares (Figura 6, 8). A endoderme está constituída por bainha amilífera.

No cilindro vascular ou central encontram-se feixes colaterais separados por parênquima interfascicular largo. A medula é parenquimática e, nas proximidades dos feixes vasculares, encontram-se também ductos secretores de diâmetro variável, com epitélio secretor de quatro a cinco células, apresentando aspecto rosulado (Figuras 6, 7).

O caule apresenta apenas crescimento secundário inicial, observando-se na epiderme que os tricomas tornam-se mais esparsos. No colênquima, o espessamento lamelar se acentua e calotas de fibras encontram-se bem diferenciadas sobre o floema. O parênquima interfascicular ao nível do xilema e a bainha perimedular esclerificam-se (Figura 7).

### Morfologia da folha

O pecíolo de *Acanthospermum australe* é muito curto e apresenta expansões laminares laterais e estreitas, constituindo as alas. A lâmina foliar é simétrica, formato ovado, ápice obtuso e base aguda. As margens são serreadas, côncavo-retas e a textura é cartácea (Figura 3).

O padrão de venação é acródromo-basal do tipo imperfeito. A nervura primária apresenta calibre pequeno e curso reto. As nervuras secundárias apresentam ângulo de divergência agudo, com curso sinuoso. As nervuras

terciárias, com padrão ortogonal reticulado, sendo as aréolas do tipo quadrangular, com vênulas terminais bifurcadas uma vez (Figuras 3, 4).

### Anatomia da folha

O pecíolo, em secção transversal, é achatado dorsiventralmente. A epiderme unisseriada, de células pequenas e isodiamétricas, é revestida por cutícula fina e apresenta tricomas tectores e glandulares semelhantes aos do caule. Os cinco feixes vasculares colaterais abertos, estão envolvidos por parênquima. Abaixo da epiderme observam-se poucas camadas de colênquima subepidérmico (Figura 12).

Da base da folha em direção ao ápice, observa-se que na região das nervuras de maior calibre a estrutura assemelha-se à descrita para o pecíolo, havendo divisão dos feixes vasculares para as três nervuras. Tanto no pecíolo quanto nestas nervuras há interrupção dos parênquimas clorofilianos. Cerca de duas a três camadas de colênquima subepidérmico são observadas tanto na face adaxial quanto abaxial. No ápice pouco colênquima subepidérmico é observado em ambas as faces (Figuras 9-11).

Até um pouco acima da região mediana da lâmina foliar, são observadas três nervuras de grande calibre, sendo a central a maior delas. Na base as de menor porte são constituídas por um único feixe colateral aberto e a central por três. Na região mediana da lâmina foliar, na nervura de maior calibre, o feixe restringe-se a apenas um, que se torna reduzido em direção ao ápice. Os feixes são circundados por parênquima (Figuras 10, 11), no qual ocorrem ductos secretores.

Na lâmina foliar, as células epidérmicas, de formato tabular sobre as nervuras e de contorno sinuoso no restante do limbo, estão revestidas por cutícula fina e são maiores na face adaxial (Figuras 16-18, 23, 24).

A folha é anfiestomática, com estômatos anomocíticos levemente elevados em relação às demais células epidérmicas (Figuras 16-18, 24). Apresenta tricomas tectores pluricelulares unisseriados iguais aos do caule, os quais estão esparsos pela superfície do limbo e aglomerados sobre as nervuras, acompanhando os feixes vasculares. Tricomas glandulares pluricelulares sésseis, estruturalmente como os do caule, estão esparsos por toda a lâmina foliar (Figuras 22-24).

O mesofilo na lâmina foliar e nas expansões laterais do pecíolo é dorsiventral e apresenta parênquima paliádico constituído por uma única camada compacta de células colunares, exceto quando limitam as câmaras subestomáticas. O parênquima esponjoso é constituído por quatro a cinco camadas de células, variando de isodiamétricas a levemente braciiformes, de disposição frouxa. Ductos secretores são observados também acompanhando as nervuras de menor calibre (Figura 16).

## Caracterização microscópica do pó das partes aéreas vegetativas

No pó do caule e da folha de *Acanthospermum australe*, os elementos marcantes observados, que facilitam a identificação da espécie e avaliação da qualidade para comercialização foram fragmentos: da epiderme com estômatos anomocíticos (Figuras 25, 26) e das nervuras em vista frontal (Figura 27), de tricomas tectores e glandulares (Figuras 25, 27, 28-30) e da lâmina foliar em secção transversal (Figura 31).

## DISCUSSÃO

As descrições morfoanatômicas vegetativas atribuídas à tribo Heliantheae, relatadas por Barroso (1991), assemelham-se às encontradas em *Acanthospermum australe*, destacando-se: presença de folhas opostas, com lâmina foliar simples, às vezes expandida na base. Indumento contendo tricomas simples, uni ou plurisseriados e ocorrência de tricomas glandulares distribuídos ao longo dos órgãos aéreos do vegetal.

Estudos de anatomia foliar foram utilizados por vários autores na caracterização de tribos e em alguns gêneros de Asteraceae conforme destacaram Melo-de-Pinna e Menezes (2002). Apesar das espécies da tribo Heliantheae apresentarem ampla distribuição, poucos trabalhos de descrição anatômica são encontrados na literatura, sendo aqui discutidas algumas características encontradas em espécies de outras tribos da família Asteraceae.

Melo-de-Pinna e Menezes (2002) relataram, na descrição anatômica vegetativa de *Ianthopappus corimbosus* Roque & Hind (tribo Mutisieae), algumas características semelhantes à espécie aqui estudada, tais como: colênquima lamelar no caule; padrão de vascularização do pecíolo constituído por cinco unidades vasculares e epiderme foliar também com células maiores na face adaxial do limbo.

Segundo Fahn (1979), é comum encontrar tricomas glandulares em espécies de Asteraceae, sendo-lhes atribuída função secretora de óleo essencial, que se acumula entre a cutícula superior e a parede celulósica da superfície celular. Metcalfe e Chalk (1950) relataram a presença de tricomas unisseriados não glandulares e tricomas glandulares de morfologias diversas entre os gêneros da família Asteraceae. Melo-de-Pinna (2004) destacou, em seu estudo de anatomia foliar de 11 espécies de *Richterago* Kuntze (Mutisieae), a importância do tipo de tricoma na diagnose de algumas espécies deste gênero, por ser o único caráter que se manteve constante nos indivíduos analisados. Em *Acanthospermum australe* a ocorrência e a distribuição dos tricomas tectores e glandulares no caule são importantes subsídios para a diagnose. Entretanto, tornam-se necessários estudos comparativos com outras espécies do gênero.

De acordo com Filizola et al. (2003), as espécies da família Asteraceae apresentam uma ampla variação estrutural, o que ocorre em resposta às condições ambientais. Dessa forma, os tricomas poderiam ser utilizados como caráter diagnóstico, tal como apontado para *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce, na qual os autores atribuem as atividades medicinais à presença de grande quantidade de tricomas, uma vez que essas estruturas constituem reservatórios de diversas substâncias produzidas pelas plantas, tais como terpenóides, derivados de floroglucinol, dentre outros. Entretanto, na espécie estudada não foram realizados testes histoquímicos que poderiam demonstrar se as substâncias com atividade medicinal estariam presentes nos tricomas ou nos ductos secretores.

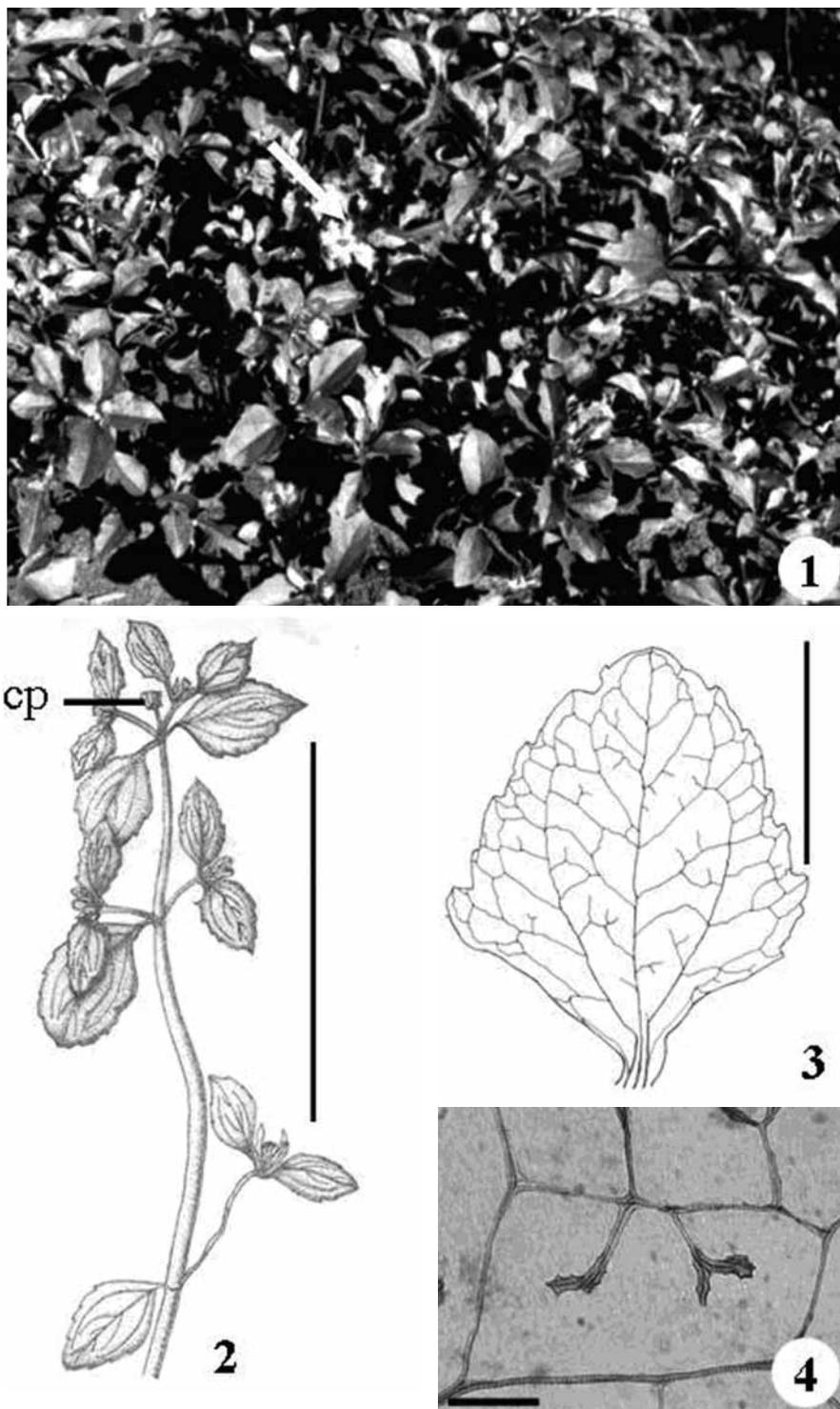
Como em *Acanthospermum australe*, a presença de folhas anfiestomáticas com estômatos anomocíticos foi descrita por Breitwieser e Ward (1998) e por Nikolakaki e Christodoulakis (2004) para várias espécies de Asteraceae.

Alguns trabalhos sobre Asteraceae descrevem a presença de endoderme no caule, com tal camada celular diferenciada com estrias de Caspary ou como bainha amilífera (Melo-de-Pinna, 2000), esta última também observada em *Acanthospermum australe*.

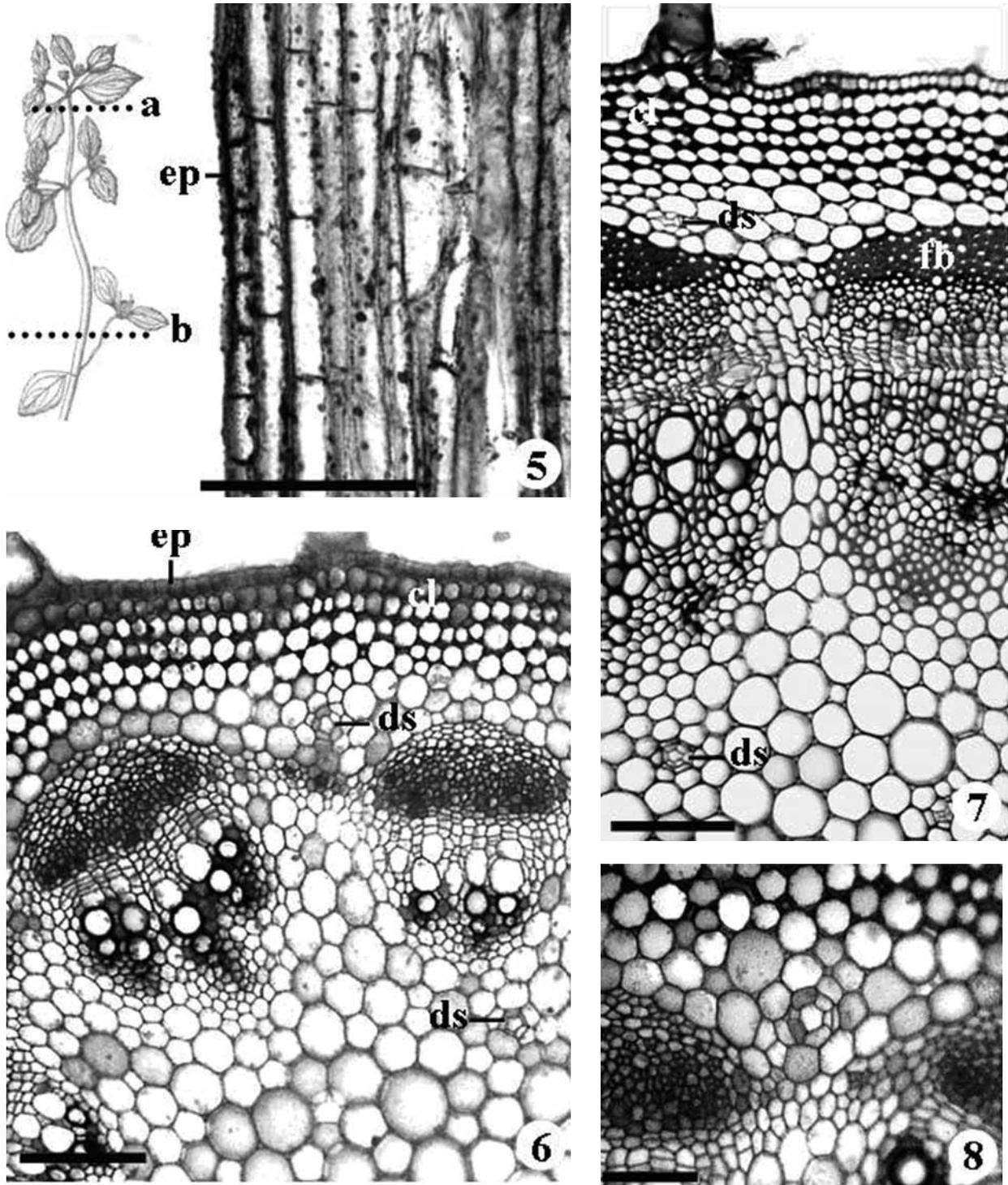
De acordo com Melo-de-Pinna e Menezes (2002) vários autores apontam as Asteraceae como uma das principais famílias onde são encontrados ductos secretores nas folhas, no córtex e na medula do caule, e sugerem que estes ductos sejam originados da endoderme. Esses ductos secretores geralmente contêm substâncias lipofílicas de origem terpênica, além de outros componentes. Talvez os ductos secretores do córtex caulinar e os situados sobre os feixes das nervuras de maior calibre da folha de *Acanthospermum australe* tenham esta origem, diferentemente dos ductos secretores medulares. Entretanto, somente estudos ontogênicos podem comprovar este aspecto.

## AGRADECIMENTOS

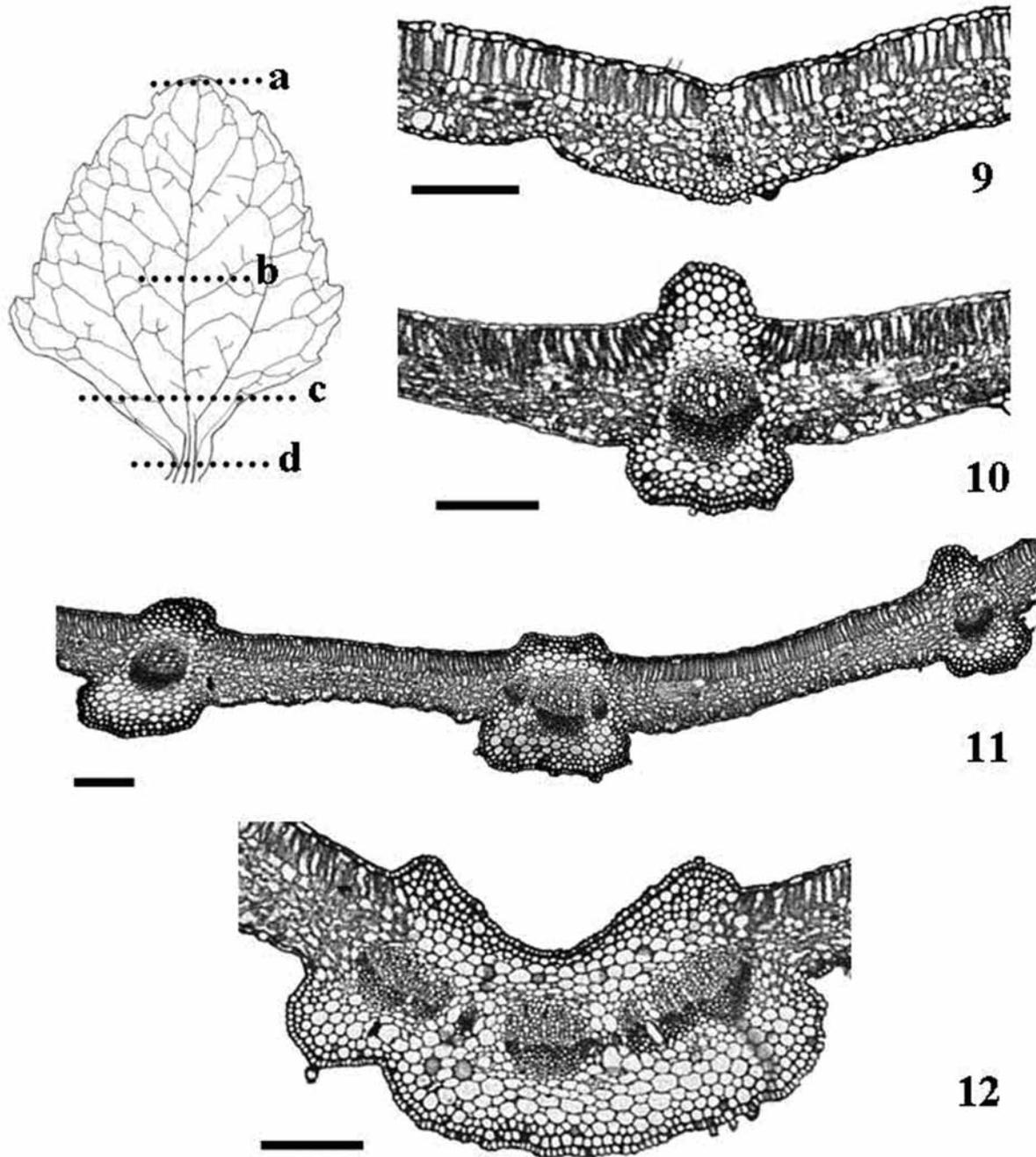
Os autores agradecem à taxonomista Dr<sup>a</sup> Ubirazilda Maria Resende, pela identificação da espécie e aos órgãos de financiamento: CAPES e FINEP.



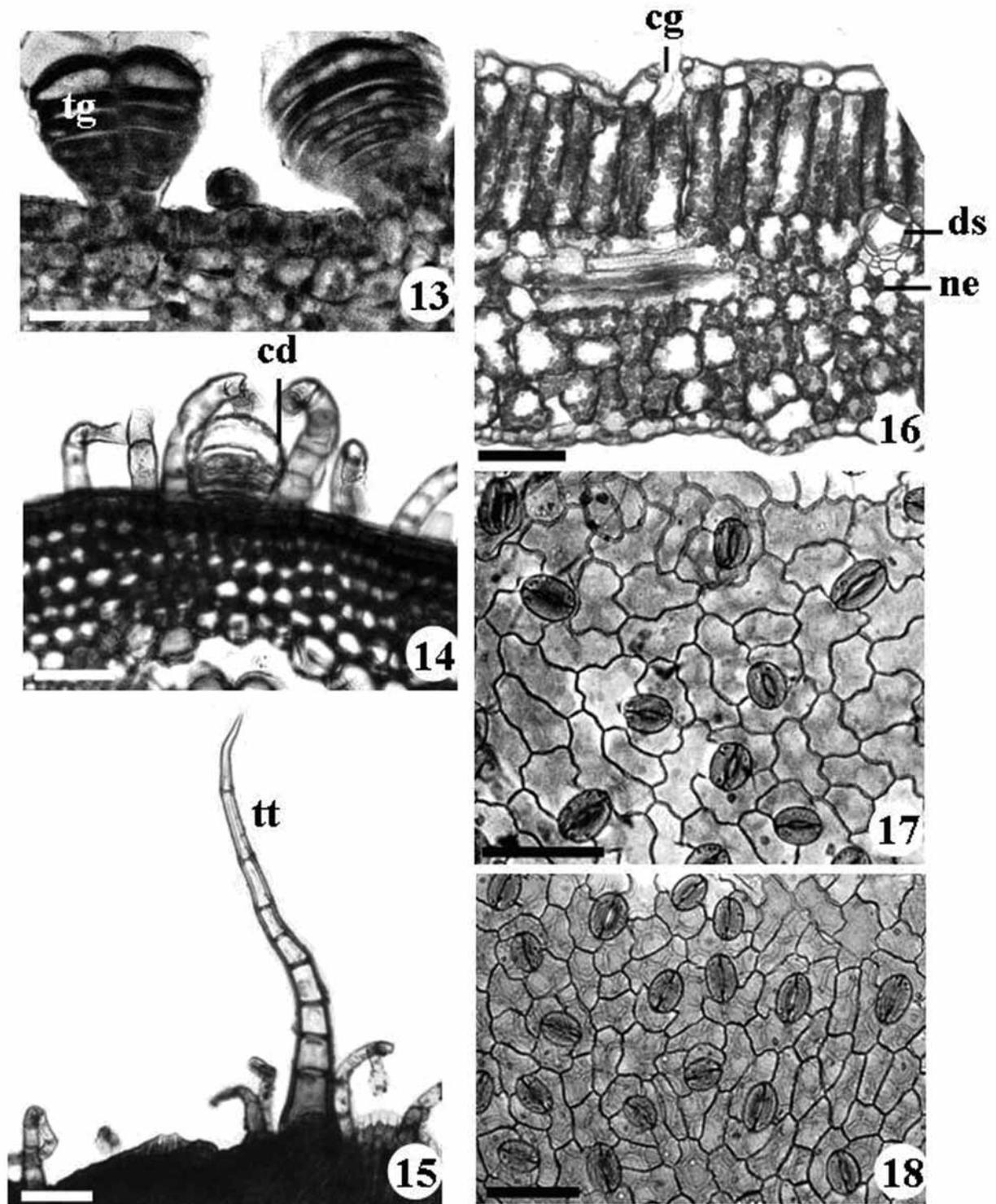
**Figuras 1-4.** Aspecto geral de *Acanthospermum australe*. Fig. 1 Espécimes crescendo em seu habitat natural (seta – frutos maduros). Fig. 2 Parte de um ramo, evidenciando capítulos terminais (barra = 8,5 cm). Fig. 3. Padrão geral de venação (barra = 1,5 cm). Fig. 4 Detalhe de uma aréola, evidenciando vênulas (barra = 100  $\mu$ m). (cp-capítulo)



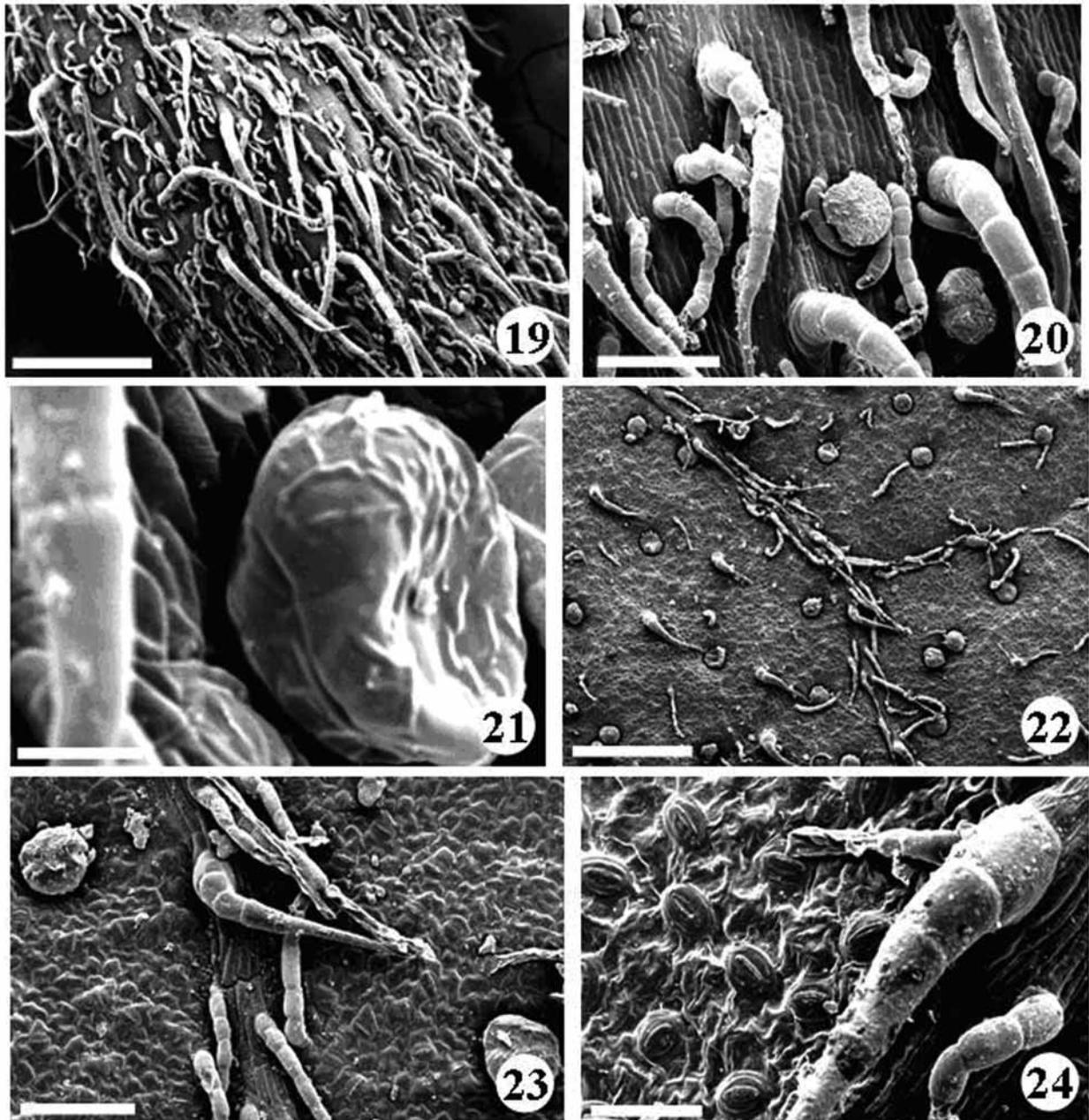
**Figuras 5-8.** Caule de *Acanthospermum australe*. Fig. 5 Secção longitudinal evidenciando epiderme com células de formato tabular (barra = 100  $\mu$ m). Figs. 6-7 Secções transversais nas regiões indicadas no desenho pelas letras a (Estrutura primária) e b (Estrutura secundária inicial), respectivamente (barra = 100  $\mu$ m). Fig. 8 Detalhe de ducto secretor no parênquima cortical situado entre dois feixes vasculares (barra = 50  $\mu$ m). (cl-colênquima, ds-ducto secretor. ep-epiderme, fb-fibras)



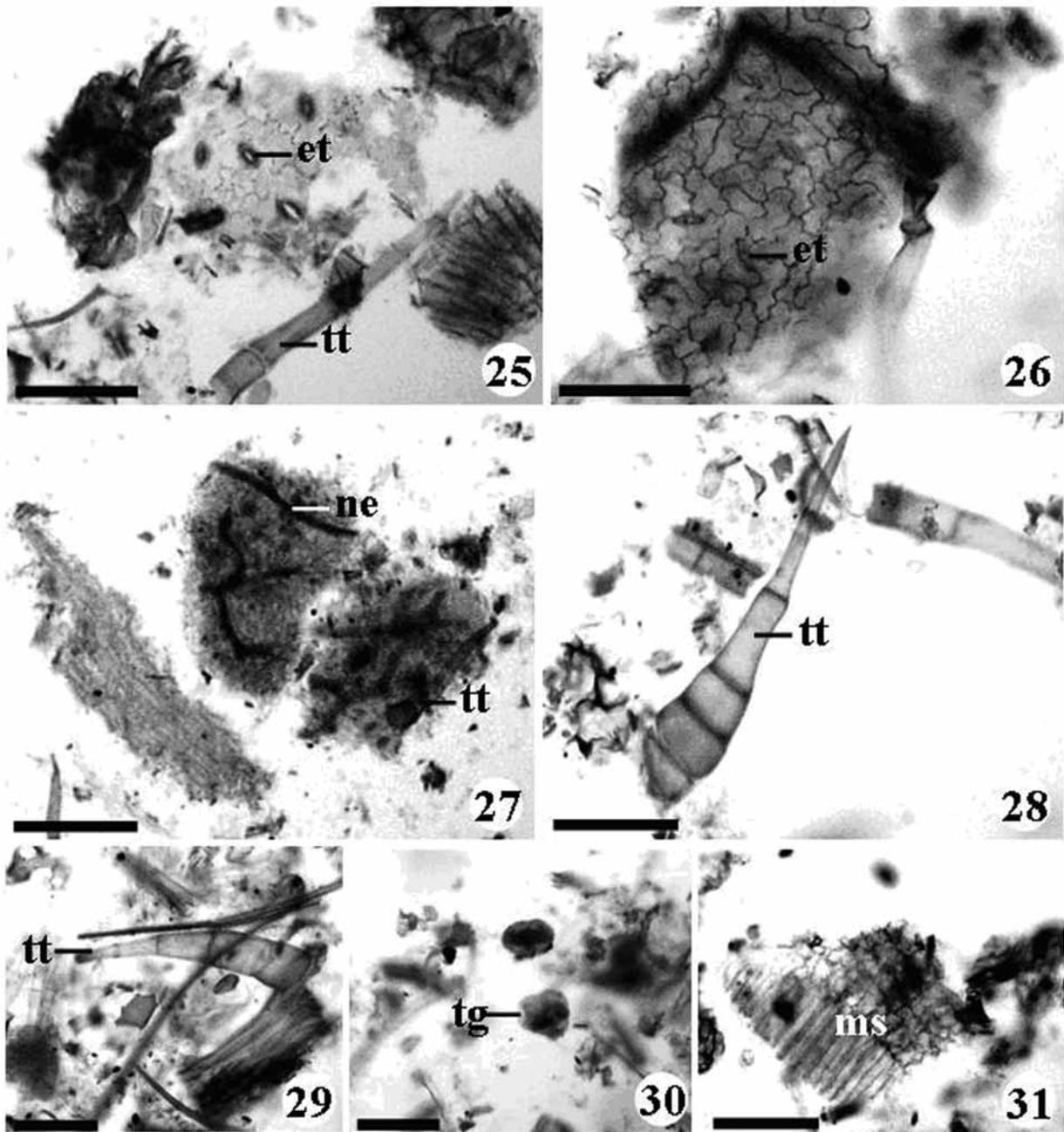
**Figuras 9-12.** Folhas de *Acanthospermum australe*. Em secções transversais nas regiões indicadas no desenho pelas letras de a-d, respectivamente (barra = 200  $\mu$ m). Fig. 9 Ápice. Fig. 10 Meio. Fig. 11 Base. Fig. 12 Pecíolo.



**Figuras 13-18.** Detalhes do caule e da folha de *Acanthospermum australe*. Figs. 13-15 Epiderme caulinar em secção transversal evidenciando tricomas glandulares com a cutícula distendida e tricoma tector longo (barras = 30  $\mu$ m, 50  $\mu$ m e 50  $\mu$ m). Fig. 16 Lâmina foliar em secção transversal, evidenciando mesofilo dorsiventral, estômatos levemente elevadas em ambas as faces e ducto secretor acompanhando uma nervura de pequeno calibre (barra = 50  $\mu$ m). Figs. 17-18 Epiderme nas faces adaxial e abaxial da folha, evidenciando os estômatos anomocíticos (barra = 50  $\mu$ m). (cd-cutícula distendida, cg-célula-guarda, ne-nervura, tg-tricoma glandular, tt-tricoma tector)



**Figuras 19-24.** Superfície do caule e da folha de *Acanthospermum australe* observada em MEV. Fig 19 Panorâmica do caule evidenciando numerosos tricomas tectores curtos e longos e tricomas glandulares (barra = 500  $\mu\text{m}$ ). Fig. 20 Detalhes de tricomas tectores e glandulares e das células epidérmicas tabulares no caule (barra = 100  $\mu\text{m}$ ). Fig. 21 Tricoma glandular com a cutícula distendida (barra = 20  $\mu\text{m}$ ). Figs. 22-23 Panorâmicas da epiderme na face adaxial da folha, evidenciando a distribuição dos tricomas: tectores aglomerados sobre as nervuras e tectores e glandulares aleatórios entre elas (barras = 400  $\mu\text{m}$  e 100  $\mu\text{m}$ ). Fig. 24 Epiderme na face abaxial da folha, evidenciando tricomas tectores sobre a nervura e os estômatos levemente elevados (barra = 40  $\mu\text{m}$ ).



**Figuras 25-31.** Fragmentos encontrados no pó (20 mesh) do caule e da folha de *Acanthospermum australe*. Figs. 25-26 Epiderme na lâmina foliar em vista frontal, evidenciando os estômatos anomocíticos; tricoma tector isolado (barra = 100 µm). Fig. 27 Detalhe de nervuras em vista superficial e de tricoma tector (barra = 200 µm). Figs. 28-29 Tricomas tectores isolados (barra = 100 µm). Fig. 30 Tricomas glandulares isolados (barra = 100 µm). Fig. 31 Detalhe de parte do mesofilo dorsiventral em secção transversal (barra = 100 µm). (et-estômato, ms-mesofilo, ne-nervura, tg-tricoma glandular, tt-tricoma tector).

## REFERÊNCIAS

- Albiero ALM, Bacchi EM, Mourão KSM 2001. Caracterização anatômica das folhas, frutos e sementes de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). *Acta Sci* 23: 549-560.
- Barroso GM 1991. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. 3.ed. Viçosa: UFV, Vol. 3, p.237-274.
- Breitwieser I 1993. Comparative leaf anatomy of New Zealand and Tasmanian Inuleae (Compositae). *Bot J Linn Soc* 111: 183-209.
- Breitwieser I, Ward JM 1998. Leaf anatomy of *Raoulia* Hook. f. (Compositae, Gnaphalieae). *Bot J Linn Soc* 126: 217-235.
- Fahn A 1979. *Secretory Tissues in Plants*. London: Academic Press.
- Felipe GM, Alencastro FMMR 1966. Contribuição ao estudo da nervação foliar das compostas de cerrado. I - Tribos Helinieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisieae e Senecioneae. *An Acad Bras Cienc* 38(Suppl.): 125-158.
- Filizola LRS, Pimentel RMM, Randau KP, Xavier HS 2003. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Vernonia brasiliana* (L.) Druce. *Acta Farm Bonaerense* 22: 299-303.
- Gerlach G 1969. *Botanische microtechnikeine einföhrung*. Georg. Thiem Verlag, Stuttgart .
- Handro W 1964. Contribuição ao estudo de venação e anatomia foliar das Amarantáceas dos cerrados. *An Acad Bras Cienc* 36: 479-499.
- Hickey LJ 1973. Classification of the architecture of dicotyledons leaves. *Amer J Bot* 60: 17-33.
- Johansen DA 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF 1999. *Plant Systematics: A phylogenetic approach*. Massachusetts: Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Lorenzi H, Matos FJA 2002. *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas*. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum.
- Melo-de-Pinna GFA 2000. *Anatomia dos órgãos vegetativos dos gêneros Richterago Kuntze e Ianthopappus Roque & D.J.N. Hind (Mutisieae – Asteraceae)*. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Melo-de-Pinna GFA, Menezes NL 2002. Vegetative organ anatomy of *Ianthopappus corymbosus* Roque & Hind (Asteraceae-Mutisieae). *Rev Bras Bot* 25: 505-514.
- Melo-de-Pinna GFA 2004. Anatomia foliar de *Richterago Kuntze* (Mutisieae, Asteraceae). *Acta Bot Bras* 18: 591-600.
- Metcalfe CR, Chalk L 1950. *Anatomy of the Dicotylendons*. Londres: Clarendon Press, Vol. 2.
- Nikolakaki A, Christodoulakis NS 2004. Leaf structure and cytochemical investigation of secretory tissues in *Inula viscosa*. *Bot J Linn Soc* 144: 437-448.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Robbards, AW 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells pp. 343-444. In: *Electron microscopy and cytochemistry of plant cells*. New York: Elsevier.
- Rodrigues VEG, Carvalho DA 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais do domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. *Cienc Agrotec* 25: 102-123.
- Shimizu M, Horie S, Arisawa M, Hayashi T, Suzuki S, Yoshizaki M, Kawasaki M, Terashima S, Tsuji H, Wada S, Ueno H, Morita N, Berganza LH, Ferro E, Basualdo I 1987. Chemical and pharmaceutical studies on medicinal plants in Paraguay. I. Isolation and identification of lens aldose reductase inhibitor from "Tapecué", *Acanthospermum australe* O.K. *Chem Pharm Bull* 35: 1234-1237.
- Singh V 1973. A new distributional record for *Acanthospermum australe* (Loefl.) Ktze. *Curr Sci* 42: 68-69.
- Souza LA, Mourão KSM, Moscheta IS, Rosa SM 2003. Morfologia e anatomia da flor de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). *Rev Bras Bot* 26: 175-184.
- Tôrres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Araújo EC 2005. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn* 15: 373-380.