

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

CELINE SILVA MOURA

APLICAÇÃO DE CORANTES ALTERNATIVOS EM LAMINÁRIO HISTOLÓGICO  
VEGETAL

SÃO CRISTÓVÃO/SE

2021

CELINE SILVA MOURA

APLICAÇÃO DE CORANTES ALTERNATIVOS EM LAMINÁRIO HISTOLÓGICO  
VEGETAL

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, como requisito para obtenção do título de graduação em Ciências Biológicas/ Bacharelado.

Orientador: Prof. Dr. Claudio Sergio Lisi

SÃO CRISTÓVÃO/SE

2021

## AGRADECIMENTO

Começo meus agradecimentos a Deus, que sempre esteve comigo, me sustentado, guiando e dando discernimento para que fosse possível concluir essa etapa na minha vida, toda Glória provém de Ti, pois sem a tua presença e direção meus objetivos não seriam concluídos.

Com imensa alegria, agradeço aos meus pais, Lucineide e George a conclusão desse manuscrito e através desse retribuo todo esforço, incentivo e apoio para que eu realizasse o meu sonho, e pelos ensinamentos que me levaram a buscar mais conhecimento através dos estudos.

Também agradeço a todos os meus familiares que torceram, ajudaram e me impulsionaram a concluir minha graduação.

Ao meu esposo Matheus, agradeço por todo apoio, carinho e motivação diária, me dando ânimo e coragem para que pudesse fazer um bom trabalho.

Agradeço a todos meus colegas de turma, que trilharam comigo essa caminhada, criando momentos marcantes e inesquecíveis ao longo do curso.

Agradeço pela oportunidade de ter feito amizades verdadeiras durante a graduação, que agora fazem parte da minha história. Vocês são muito especiais para mim, Marina, Bruna, Tissiane e Samilla.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Claudio Sergio Lisi por ter me dado a oportunidade de adquirir mais conhecimento através de projeto de iniciação científica e monitoria, e ter me orientado com muita paciência, competência e humildade de transferir os seus ensinamentos.

Agradeço a toda equipe do laboratório LAVD, em especial ao técnico Ítallo que sempre esteve disposto a me ajudar e ensinar e a Clayane, que muito me incentivou e se tornou para mim um referencial de determinação.

Agradeço também a toda equipe do herbário ASE que me acolheram e me deram a oportunidade de aprender e ter mais uma experiência no ramo da Botânica, referente a gestão e taxonomia.

Por fim, agradeço a todo corpo docente do curso de Ciências Biológicas que tanto me ensinaram e ajudaram a entender a complexidade da vida. Aos professores da área de Botânica, meu muito obrigada, por deixarem meus dias mais felizes a cada aula em que um novo conteúdo era ministrado, me fazendo ter a certeza do meu amor por essa ciência que estuda os vegetais, algas e fungos.

## SUMÁRIO

### RESUMO

|                                           |           |
|-------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                 | <b>7</b>  |
| <b>2. JUSTIFICATIVA -----</b>             | <b>9</b>  |
| <b>2. OBJETIVOS</b>                       |           |
| 3.1 Geral.....                            | 9         |
| 3.2 Específicos .....                     | 9         |
| <b>4. MATODOLOGIA</b>                     |           |
| 4.1 Coleta de amostras.....               | 10        |
| 4.2 Escolha das Espécies .....            | 11        |
| 4.3 Estudo anatômico .....                | 11        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>          |           |
| 5.1 Cortes obtidos .....                  | 14        |
| 5.2 Custos da coloração alternativa ..... | 24        |
| 5.3 Laminário histológico .....           | 25        |
| <b>6. CONCLUSÃO .....</b>                 | <b>27</b> |
| <b>7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO .....</b> | <b>28</b> |

## RESUMO

O uso de corantes foi iniciado no século XVII, com a descoberta do cientista Antony van Leeuwenhoek no ano de 1673. Os corantes naturais foram utilizados por longos anos, até que no ano de 1856, o químico inglês William Henry Perkin, criou o primeiro corante orgânico sintético chamado Malveína. Desde então, iniciou-se uma revolução no mundo dos colorantes; os naturais foram progressivamente substituídos pelos sintéticos, principalmente nas indústrias. Corantes são compostos químicos provenientes de processo sintético ou de origem natural, que se aderem em escala molecular a um substrato. Os corantes são muito utilizados para tingir tecidos a séculos, e o corante em pó é uma das opções acessíveis e de baixo custo que existe no mercado. Assim, este trabalho teve como objetivo montar um laminário histológico vegetal utilizando corantes têxtis de baixo custo para pigmentação dos tecidos, a fim de expandir o material anatômico vegetal no acervo do laboratório de anatomia vegetal (LAVD) para ser utilizado de modo didático. A coleta dos materiais botânicos para esse estudo foi realizada no município de São Cristóvão em dois pontos: na Universidade Federal de Sergipe, campus Prof. José Aloísio de Campos; e margens do rio Poxim, próximo a UFS. Tanto o material fresco quanto o fixado em álcool 70% foram manuseados para obtenção dos cortes histológicos, seguindo a técnica de corte a mão livre. Para coloração das amostras foram utilizados corantes em pó das marcas Tupy e Guarany, que foram diluídos em solução hidro alcóolica 50% e em sequência filtrados. Para pigmentar os tecidos vegetais os cortes histológicos foram imersos no corante em placa de Petri fechada, em um tempo médio de 40-60min, em seguida os cortes foram lavados e colocados no fixador por 1min. E por fim as lâminas foram montadas com gelatina glicerinada produzida com os seguintes produtos: gelatina incolor, glicerina, 5 botões florais de cravos da índia para substituir o fenol. Como resultado foi possível comprovar que o corante em pó tem capacidade para pigmentar os tecidos vegetais e realçar a visualização das imagens, facilitando a observação dos tecidos. Sendo assim foi possível a criação de um laminário histológico com 24 lâminas apresentando diversas partes da planta como: folha, caule e raiz.

**Palavras-chaves:** Anatomia Vegetal, Coloração, Tecido Vegetal.

## ABSTRACT

The use of dyes began in the 17th century, with the discovery of the scientist Antony van Leeuwenhoek in 1673. Natural dyes were used for many years, until in 1856, the English chemist William Henry Perkin, created the first dye. synthetic organic called Malvein. Since then, a revolution in the world of colorants began; natural ones were progressively replaced by synthetic ones, mainly in industries. Dyes are chemical compounds from a synthetic process or of natural origin, which adhere on a molecular scale to a substrate. Dyes have been used to dye fabrics for centuries, and powder dye is one of the affordable and low-cost options on the market. Thus, this work aimed to assemble a plant histological slide using low-cost textile dyes for tissue pigmentation, in order to expand the plant anatomical material in the plant anatomy laboratory (LAVD) collection to be used in a didactic way. The collection of botanical materials for this study was carried out in the municipality of São Cristóvão at two points: at the Federal University of Sergipe, Prof. José Aloísio de Campos; and banks of the Poxim River, close to UFS. Both the fresh material and the material fixed in 70% alcohol were handled to obtain the histological sections, following the freehand sectioning technique. To stain the samples, powder dyes from the brands Tupy and Guarany were used, which were diluted in a 50% hydroalcoholic solution and subsequently filtered. To stain the plant tissues, the histological sections were immersed in the dye in a closed petri dish, in an average time of 40-60min, then the sections were washed and placed in the fixative for 1min. Finally, the slides were mounted with glycerin gelatin produced with the following products: colorless gelatin, glycerin, 5 clove flower buds to replace phenol. As a result, it was possible to prove that the powder dye has the ability to pigment the plant tissues and enhance the visualization of the images, facilitating the observation of the tissues. Thus, it was possible to create a histological slide with 24 slides showing different parts of the plant such as: leaf, stem and root.

**Keywords:** Plant Anatomy, Coloring, Plant Tissue.

## 1- INTRODUÇÃO

O uso de corantes foi iniciado no século XVII, com a descoberta do cientista Antony van Leeuwenhoek no ano de 1673, quando extraiu um substrato de *Crocus sativus* L. e utilizou como pigmento para estudar seus espécimes. Até o século XVIII os corantes usados para coloração histológica tinham sua origem natural a partir de plantas (açafraão e índigo), animais (marisco roxo e cochonilha) e minerais (PECIO; PIPROEK, 2019). Séculos depois, no ano de 1856, o primeiro corante orgânico sintético, chamado de Malveína ou Malva, de coloração roxa, também chamado de roxa anilina, foi elaborado pelo químico inglês William Henry Perkin. Desde então, iniciou-se uma revolução no mundo dos colorantes; os naturais foram progressivamente substituídos pelos sintéticos, principalmente nas indústrias, sejam elas têxteis, de alimentos, de cosméticos, entre outras, o que marcou o início de uma era industrial e comercial mais moderna (OLIVEIRA, 2021).

Os corantes naturais foram muito utilizados pela humanidade para tingimento de tecidos. O corante extraído das plantas *Indigofera tinctoria* e *Isatis tinctoria*, chamado azul índigo é um dos mais antigos e utilizados pelo ser humano. Essas plantas possuem um glicosídeo do 3-hidroxiindol (sem cor) e somente quando extraído, hidrolisado, oxidado e dimerizado que o pigmento azul índigo é formado; em 1878 esse corante começou a ser produzido pela Bayer (BRAMMER; TONIAZZO; POERSCH, 2015). Um grande marco na história em relação a utilização de corantes no Brasil foi quando os europeus começaram a extrair um corante de tonalidade muito acentuada de coloração avermelhada da espécie *Paubrasilia echinata* (Lam.) Gagnon, H.C.Lima & G.P.Lewis, conhecida como Pau-Brasil, com a intenção de tingir tecidos (OLIVEIRA, 2021).

Corantes são compostos químicos provenientes de processo sintético ou de origem natural, que se aderem em escala molecular a um substrato. A principal fonte de cores está presente nas plantas, que possuem pigmentos do tipo clorofila, carotenoide e flavonoide, existem, porém, outros tipos de pigmentos oriundos das betalainas, melaninas, dos muitos flavonoides e outros são considerados insignificantes quando considerados globalmente. Todos os organismos no planeta possuem pigmentos, além das plantas, os animais, bactérias e fungos também possuem seus pigmentos. Os corantes são muito utilizados nas áreas biológicas e permitem evidenciar membrana celular, vacúolos, núcleos, dentre outras organelas citoplasmáticas e também os conhecidos tecidos vegetais (SCHIOZER, 2013; BRAMMER; TONIAZZO; POERSCH, 2015).

Atualmente, os corantes utilizados na indústria são substâncias orgânicas complexas com alta absorvidade, contendo centros cromóforos baseados em grupos funcionais diversificados, tais como azo, antraquinona, poliometino, nitro, nitroso, arilmetano, xanteno, cumarino e outros. Esses corantes também apresentam propriedades físico-químicas diversificadas essenciais para fixação nos diferentes tipos de fibras naturais (YAMANAKA; BOLDRIN, 2016).

O uso dos corantes se tornou cada vez mais acessível, a exemplo de corantes em pó que são facilmente encontrados no mercado. A empresa Guarany fabricante desses corantes começou sua história na indústria química em 1923, outra empresa muito

conhecida é a Tupy que já está no mercado a 37 anos, a finalidade desses corantes é o tingimento de diversos tipos de tecidos (GUARANY, 2021; TUPY, 2021).

Porém, o estudo feito por Silva *et al.* (2020), trouxe uma nova utilidade para o uso desses corantes, que foi pigmentar tecidos vegetais, esse estudo possibilitou uma alternativa mais barata para substituição dos corantes mais utilizados para coloração na botânica que são: azul de alcian, azul de metileno, azul de toluidina, safranina e vermelho de rutênio (CORTEZ; SILVA; CHAVE, 2016).

Os corantes Tupy e Guarany possuem o pigmento estilbeno/azo que é capaz de se associar a celulose e lignina, através das interações  $\pi$  e ligações de hidrogênio, sendo assim capaz de corar tecidos vegetais, para que o pigmento se mantenha nos tecidos, os fixadores fornecidos pelas marcas em questão realizam muito bem esse processo (SILVA *et al.*, 2020).

A anatomia vegetal está inserida dentre uma das grandes áreas da Botânica, sendo uma importante ferramenta para estudo dos tecidos vegetais, contribuindo para o entendimento de diferentes acontecimentos relacionados à estrutura interna das plantas no exato momento em que o corte histológico é realizado. Pode ser classificada como o ramo que se dedica ao estudo das estruturas internas dos vegetais, auxiliando a entender os tipos celulares e a organização e orientação das células e tecidos nos diversos órgãos e durante o seu desenvolvimento, facilitando assim o entendimento das estruturas morfológicas. Está dividida em diferentes ramos, entre eles anatomia ecológica, fisiológica, descritiva e ontogenética (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2012; EDSON-CHAVES; SANTOS-SILVA; CORTEZ, 2021).

Os avanços nesse ramo da Botânica só foram possíveis graças à invenção do microscópio, aparelho que consistia em uma combinação de lentes e foi inventado por Zacharias Jansen na Holanda, no século XVI. Ao longo dos anos, os modelos de microscópios foram aprimorados pela Europa. O primeiro avanço técnico foi a transição de um sistema de duas lentes para um sistema de três lentes, e este sistema é a configuração padrão mantida nos microscópios atuais (LANFRANCONI, 2001).

Com o avanço dessa tecnologia foi possível a descoberta das células, que é normalmente atribuída ao cientista inglês Robert Hooke. Em suas análises, ao cortar com um estilete afiado um fino pedaço da cortiça (parte da casca das árvores), e observar através do microscópio, pode identificar uma estrutura porosa semelhante a um favo de mel denominando-as de células por lembrarem as celas habitadas por monges vivendo no mosteiro. Atualmente já se sabe que as estruturas observadas por Hooke eram apenas as paredes celulares das células vazias de tecido vegetal morto, que originalmente foram produzidas por células vivas que elas cercavam (KARP, 2005).

O primeiro trabalho relacionando a anatomia vegetal foi relatado no ano de 1671 onde Nehemiah Grew lançou o livro *Vegetalium Inchoata* que descreveu os tecidos vegetais. O livro foi traduzido ao longo dos anos até criar sua versão resumida em inglês no ano de 1682 com o título *The Anatomy of Plants*. Os estudos foram avançando e no ano de 1831 Robert Brown descobriu o núcleo em células epidérmicas de uma orquídea. Anos depois, em 1838, o botânico Matthias Schleiden, a partir de suas observações,

afirmou que todos os tecidos vegetais eram formados por células (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2012).

## **2- JUSTIFICATIVA**

Para melhor identificação e visualização de tecidos vegetais é comum a utilização de corantes com substâncias e protocolos muito bem definidos pela literatura. Porém, pela escassez de recursos que algumas instituições de ensino sofrem, nem sempre é possível adquirir tais substâncias para analisar os cortes histológicos. Por isso, o presente trabalho teve intenção na produção de laminário a preço acessível e metodologia prática tornando o acesso a esse processo de coloração mais viável.

## **3- OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Montar laminário histológico vegetal utilizando corantes têxtis de baixo custo para pigmentação dos tecidos, a fim de expandir o material anatômico vegetal no acervo do laboratório de anatomia vegetal (LAVD) para ser utilizado de modo didático.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Testar a eficácia de corantes têxtis para pigmentação de tecidos vegetais;
- Obter imagens fotográficas dos tecidos de espécies presentes no campus São Cristóvão UFS;
- Produzir lâminas histológicas de qualidade;
- Descrever os tecidos corados das espécies estudadas.

## 4- METODOLOGIA

### 4.1 Coleta de amostras

As amostras foram coletadas em dois locais, na Universidade Federal de Sergipe (UFS) e as margens do rio Poxim. O material botânico foi coletado fresco, colocado em saco plástico e conservado com álcool 70% especialmente para exemplares mais frágeis.

O primeiro ponto de coleta está localizado na Universidade Federal de Sergipe, campus Prof. José Aloísio de Campos, situado no município de São Cristóvão, Sergipe, delimitada pelas coordenadas 10°55'32"S e 37°06'08"W. O clima do município é caracterizado como megatérmico úmido e subsumido, com precipitação média anual de 1.200mm, período de maior intensidade pluviométrica está entre os meses de março a agosto, umidade relativa do ar de 75% e temperatura média 25,5° e altitude de 20m. O solo local é Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico arênico Tb A moderado (BOMFIM et al., 2002; MELO et al., 2006).

O campus contém vegetação nativa remanescente, em área de reserva, com exemplares de espécie que fazem parte do bioma Mata Atlântica no qual está inserido, constituindo-se com tipo de floresta Estacional Semidecidual. Porém, seu componente arbóreo misturado a sua estrutura física, é descaracterizado devido ao elevado grau de espécies exóticas no local (GOMES et al., 2017).

Segundo ponto de coleta situou-se nas margens no rio Poxim, próximo a UFS, no local com as seguintes coordenadas: 10°55'19"S 37°05'49"W. A Bacia Hidrográfica do Rio Poxim é formada pelos rios Poxim-Mirim, Poxim-Açu e Pitanga. Possui extensão de 397,95 km<sup>2</sup> e abrange seis municípios, São Cristóvão que concentra a maior porcentagem em extensão do rio com 59,16% e os municípios de Aracaju, Nossa Senhora do Socorro, Itaporanga D'Ajuda, Areia Branca e Laranjeiras dividem os 40,84% restantes (JESUS et al., 2015).

A vegetação da mata do afluente próximo ao rio Poxim é caracterizada em médio porte na qual o componente arbóreo chega a atingir 15m de altura e apresenta caducifólia durante a maior parte do ano (SANTOS et al., 2007).

### 4.1 Escolha das Espécies

As espécies foram selecionadas de acordo com as características anatômicas apresentadas nas plantas, sendo elas: *Catharantus roseus* L., *Nerium oleander* L., *Terminalia catappa* L., *Trandescantia pallida* (rose) D.R.Hunt, *Hibiscus* sp., *Ficus elastica* Roxb., *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms., *Mussaenda erytrophylla* Shumach. & Thonn, *Turnera subulata* Sm. além de uma espécie representante da família Poaceae não identificada. As plantas escolhidas fazem parte do paisagismo da UFS, com exceção de

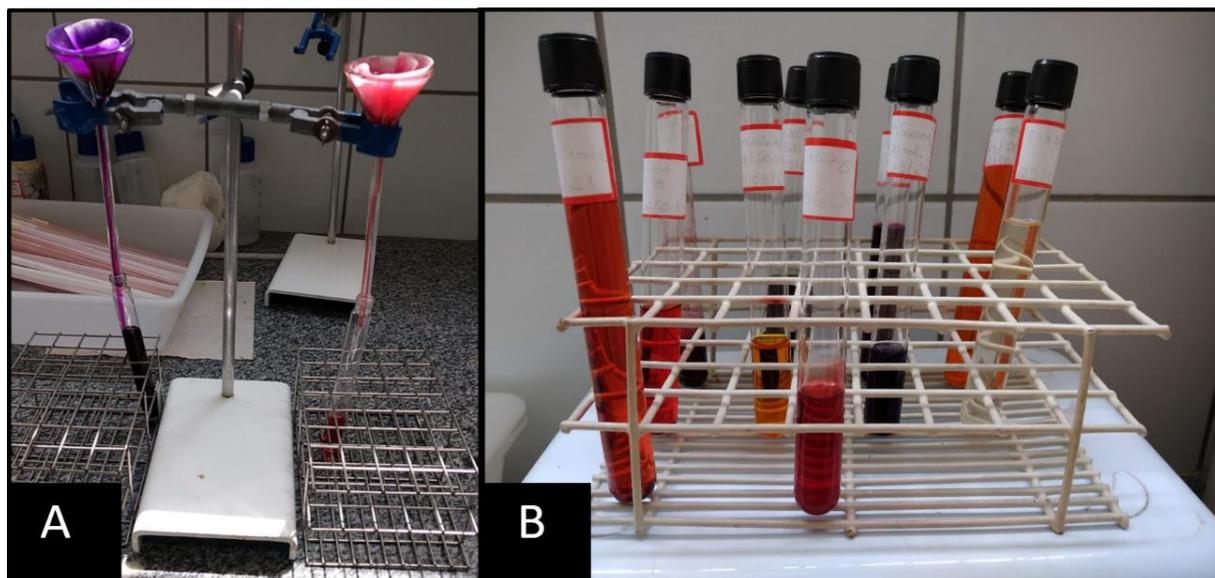
*Eichornia crassipes* (Mart.) Solms, contudo, as demais podem ser facilmente encontradas em outras regiões do país. Todo material botânico foi depositado no Herbário da Universidade Federal de Sergipe (ASE) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Espécies que foram coletadas em campo com a classificação botânica das famílias e respectiva numeração de exsicata.

| <b>Família</b> | <b>Espécie</b>                                  | <b>Nome popular</b> | <b>Nº de exsicata</b> |
|----------------|-------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Apocynaceae    | <i>Catharantus roseus</i> L.                    | Boa Noite           | 42627                 |
|                | <i>Nerium oleander</i> L.                       | Espirradeira        | 42629                 |
| Combrateceae   | <i>Terminalia catappa</i> L.                    | Amendoeira          | 42632                 |
| Commelinaceae  | <i>Trandescantia pallida</i> (rose)D.R.Hunthunt | Trandescantia       | 42628                 |
| Malvaceae      | <i>Hibiscus</i> sp.                             | Brinco de princesa  | 42630                 |
| Moraceae       | <i>Ficus elastica</i> Roxb.                     | Ficus               | 42633                 |
| Pontederiaceae | <i>Eichornia crassipes</i> (Mart.) Solms        | Aguapé              | 42626                 |
| Rubiaceae      | <i>Mussaenda erythrophylla</i> Shumach. & Thonn | Bico de papagaio    | 42631                 |
| Turneraceae    | <i>Turnera subulata</i> Sm.                     | Turnera             | 42634                 |
| Poaceae        | Indet                                           |                     | 42635                 |

- **Preparação da solução com corante**

O tipo de corante utilizado para esse estudo foram sete corantes em pó para tecido, das seguintes marcas com suas respectivas cores: Tupy (13 pink, 02 amarelo, 16 bordô e 06 laranja); Guarany (09 vermelho, 20 verde e 17 azul). Seguindo Silva *et al.* (2020), o corante foi pesado em recipiente de vidro na balança analítica e diluído em solução hidroalcoólica 50% com a proporção de 1g de corante para 20ml da solução hidroalcoólica; logo após, a solução foi filtrada com papel filtro e colocada em um recipiente de vidro fechado e devidamente identificado, armazenado em temperatura ambiente (Figura 1).



**Figura 1.** Filtração realizada para obtenção do corante (A). Corantes armazenados em tubos de vidro (B).

- **Preparação do fixador**

De acordo com as instruções dos fabricantes dos corantes têxteis, seria necessário utilizar um fixador para que a adesão da cor fosse maior. Sendo assim, foi preparada uma solução de 1:1 com diluição em solução hidroalcolica de 50%, a qual foi filtrada e armazenada em recipiente de vidro. Utilizou-se o fixador da marca Guarany.

- **Coloração dos tecidos histológicos**

Os cortes histológicos foram imersos no corante em placa de Petri fechada, em um tempo médio de 40-60min. Em seguida, os cortes foram lavados e colocados no fixador por 1min.

- **Montagem de lâminas**

Com o procedimento de coloração finalizado, os cortes histológicos foram transferidos temporariamente para lâmina com glicerina 50% embrulhada em papel alumínio e armazenada em geladeira para conservação dos cortes.

Para o preparo da lâmina semipermanente foi utilizado a técnica do Silva *et al.* (2020) com materiais facilmente encontrados no mercado convencional, sendo eles: gelatina incolor, glicerina, cinco botões florais de cravos da índia para substituir o fenol. Após 24 horas, os botões florais foram retirados da solução. Para concluir a montagem das lâminas, a solução da gelatina glicerinada foi aquecida em placa de aquecimento para se tornar líquida e assim ser utilizada para preencher a lâmina histológica (Figura 2).



**Figura 2.** Materiais utilizados para o preparo da gelatina glicerizada e os tipos de corantes utilizados para tingir os tecidos vegetais (A). Chapa aquecedora com a gelatina glicerizada pronta para montagem de lâminas histológicas (B).

- **Obtenção de fotografias**

Para aquisição das imagens microscópicas, foi utilizado a câmera fotográfica Sony Cyber-shot com adaptador para microscopia, acoplada ao microscópio marca Bioval trilocular através de um adaptador para lente. As fotos obtidas foram ampliadas por meio do zoom das lentes objetivas de 10x e 40x juntamente com o aumento proporcionado pela câmera fotográfica, as medidas das imagens foram padronizadas de acordo com a lâmina histológica para medição.

- **Dados para comparação de preço**

Foi realizado uma pesquisa de campo no comércio local para obtenção de valores dos produtos utilizados para o presente trabalho e assim ter uma estimativa do gasto necessário para executar o trabalho. Para calcular os valores, utilizou-se apenas um cálculo com regra de três em relação aos valores médios dos produtos comprados no comércio.

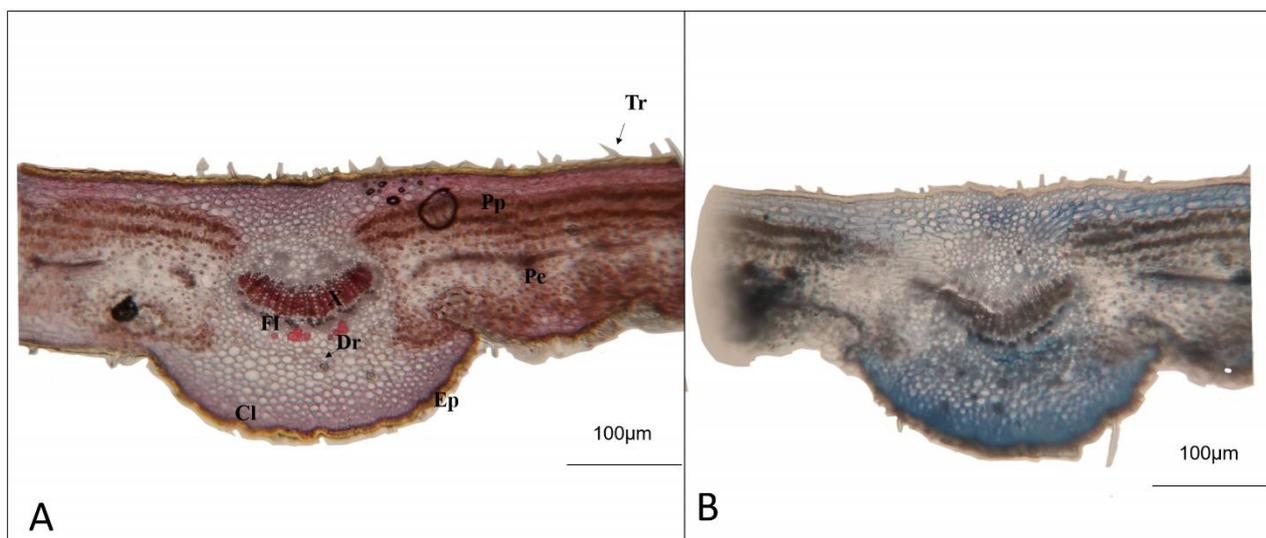
## 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Cortes obtidos

#### LÂMINA FOLIAR

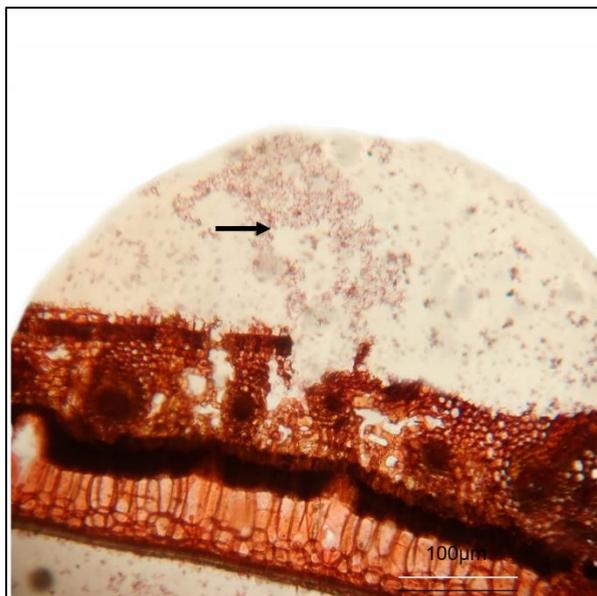
A lâmina foliar de *Nerium oleander* L. possui epiderme densa e o mesofilo constituído por duas a três camadas de parênquima paliçádico na superfície adaxial e de uma a duas camadas na superfície abaxial. Parênquima esponjoso compreende aproximadamente seis camadas de células (GUIDOTI et.,al, 2015). Em sua nervura central está presente o colênquima do tipo angular e o feixe vascular no formato de semiarco. Também se faz presente em sua estrutura cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa e esclereides (Figura 6).

A coloração do tecido foliar foi realizada com os corantes bordô 16 e azul 17. O corante bordô 16 apresentou uma contraposição de cores visualmente mais atrativa destacando melhor cada tecido da lamina foliar como também pigmentou de forma mais acentuada as células com paredes celulares secundárias de esclereides – próximo das epidermes – e do xilema primário, enquanto que o azul 17 teve afinidade com as paredes celulares primárias especialmente das células do colênquima e parênquimas (Figura 6).



**Figura 6.** Lâmina foliar e nervura central de *Nerium oleander* L. Utilização do corante bordô 16 (A), corante azul 17 (B). Cl= colênquima; Dr= drusa; Ep=epiderme; Fl= floema; Pp= parênquima clorofiliano paliçádico; Pe= parênquima clorofiliano esponjoso; Tr= tricoma.

É de suma importância que o processo de coloração seja realizado de acordo com o protocolo, pois quando a coloração foi realizada sem a cobertura na placa de Petri, como descrito na metodologia, ocorreu precipitação do corante, causando acúmulo exagerado de pigmento. Como consequência, não houve favorecimento à diferenciação dos tecidos vegetais, causando ainda o vazamento e transbordamento para a gelatina como exemplificado na figura 7.

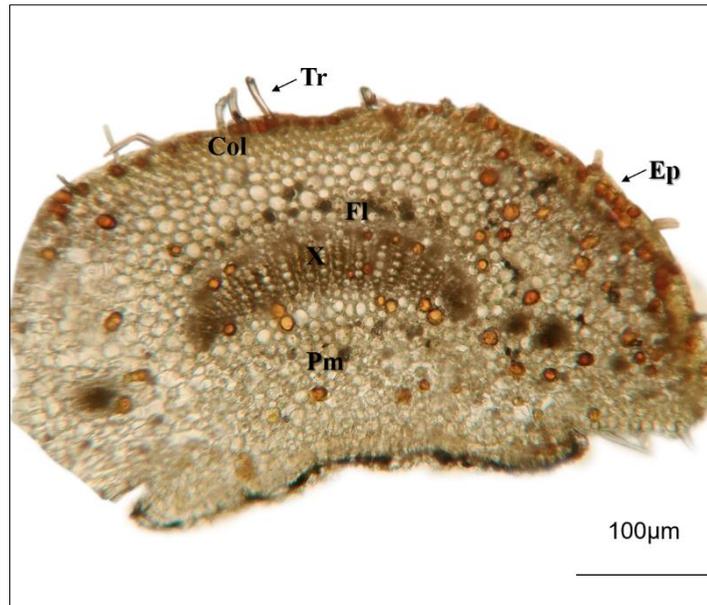


**Figura 7.** Lâmina foliar de *Ficus elastica* Roxb., a seta indica o pigmento vermelho na lâmina, mostrando o excesso de corante que ocasionou dificuldade para reconhecimento de alguns tecidos, como o clorênquima paliádico (faixa escura) ao lado do parênquima aquífero.

## PECÍOLO

O pecíolo de *Turnera subulata* Sm., possui nectários extraflorais na porção distal, com a epiderme unisseriada. Logo abaixo dessa camada de células, encontra-se o colênquima do tipo angular, e o sistema vascular é do tipo colateral, constituído de 1-3 feixes, com o central em forma de semi-arco (Figura 3). Observando em sequência o floema e xilema (BARBOSA; SILVA; AGRA, 2007).

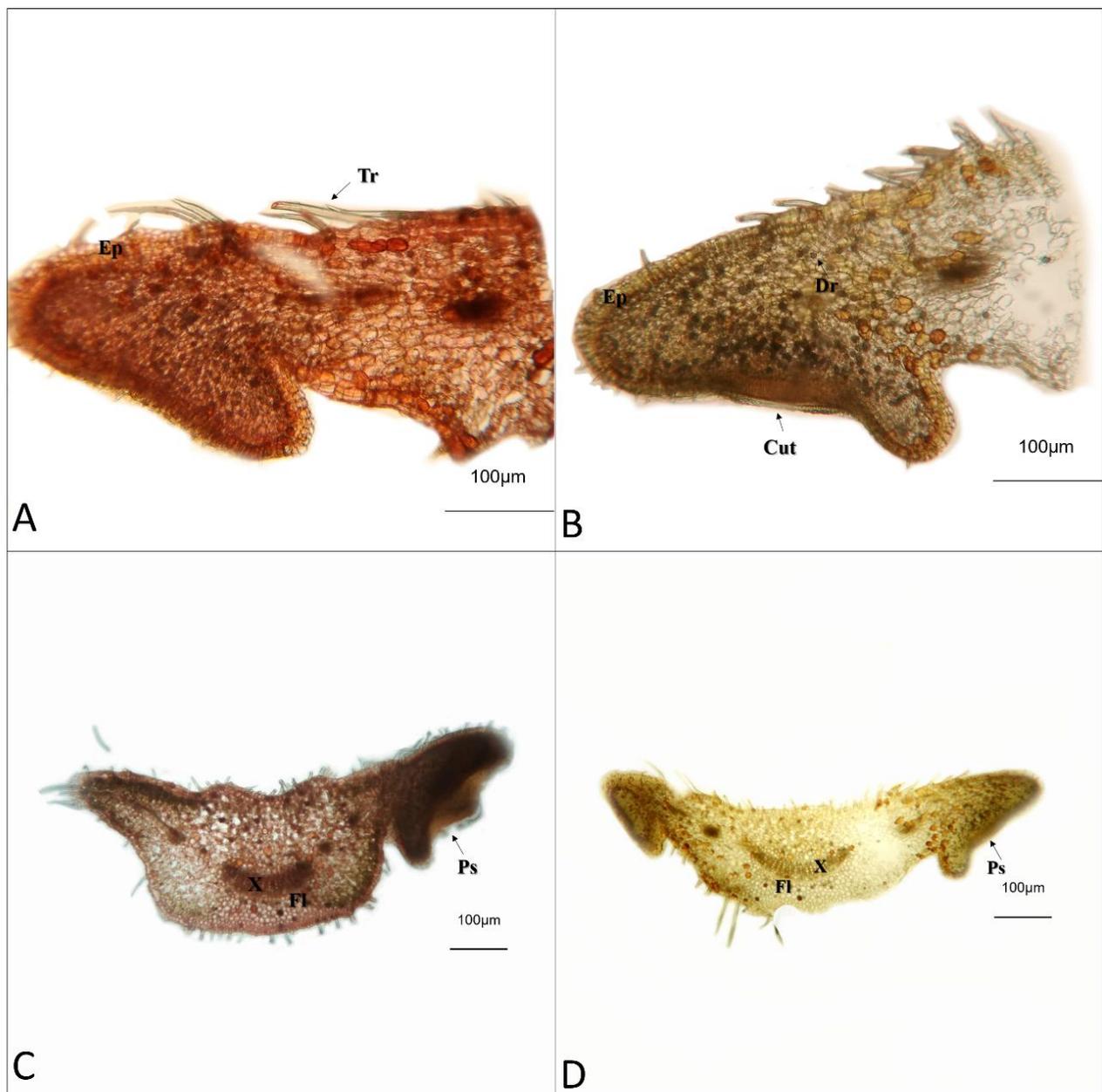
Com o corte transversal pigmentado com o corante amarelo 02 é possível visualizar que todos tecidos foram corados, mas no xilema a concentração de pigmento foi maior, mostrando provável maior afinidade deste corante com a lignina. Além disso, foram evidenciadas substâncias intracelulares, especialmente em células dos parênquimas, que adquiriram a tonalidade amarelo cintilante.



**Figura 3.** Pecíolo de *Turnera subulata* Sm. corado em amarelo 02. Col= colênquima; Ep= epiderme; Fl= floema primário; Pm= parênquima medular; Tr= tricoma; X= xilema primário.

Na figura 4A-B, os cortes transversais mostram uma ampliação dos nectários extraflorais do tipo cupuliformes, que foram observados na união da lâmina foliar com o pecíolo. As células parenquimáticas possuem cristais de oxalato de cálcio, do tipo drusa, e a epiderme é unisseriada; junto ao poro secretor a camada de células é densa.

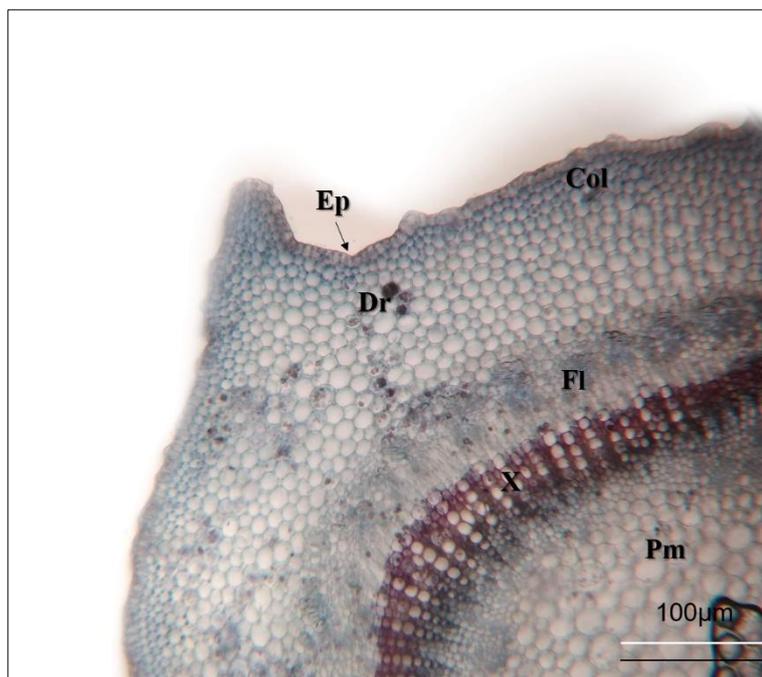
Os corantes vermelho 09 e amarelo 02, foram comparados (Figura 4), e ambos coloriram todas as células tornando a visualização dos tecidos vegetais mais fácil pela intensidade do contraste. Porém, algumas diferenças entre contraste puderam ser visualizadas, o pigmento vermelho evidenciou mais as células de parênquima, enquanto o corante amarelo intensificou os cristais de drusa.



**Figura 4.** Corte transversal do pecíolo de *Turnera subulata* Sm., comparação de pigmentação entre os corantes vermelho 09 e amarelo 02. Nectário extrafloral com pigmento vermelho e amarelo respectivamente (A) e (B). Pecíolo com a presença de nectário em sua porção distal (C) e (D). Cut= cutícula; Dr= drusa; Ep= epiderme; Fl= floema primário; Ps= poro secreto; Tr= tricoma; X= xilema primário.

O pecíolo de *Catharantus roseus* L. apresentou epiderme unisseriada seguida por colênquima do tipo angular, cristais de oxalato de cálcio, floema primário, xilema primário e parênquima medular (Figura 5). Foi utilizado o corante azul 17 no processo de coloração do pecíolo. O pigmento aderiu bem nas paredes celulares primárias deixando

as células evidenciadas. Também foi possível notar no xilema uma alteração de cor, tornando o tecido roxo, destacando-o em relação aos demais tecidos.

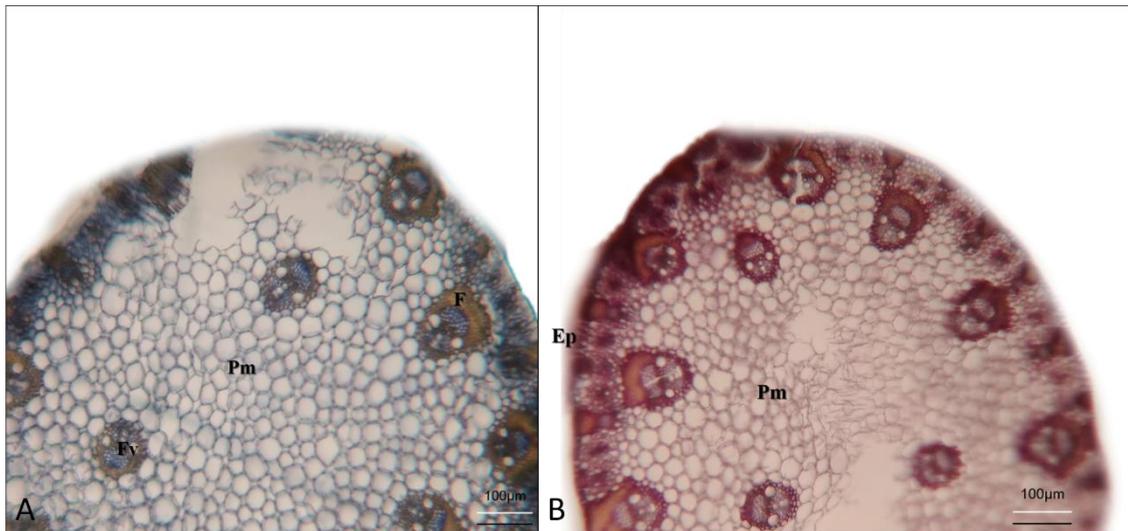


**Figura 5.** Pecíolo de *Catharantus roseus L.*, tingido com o corante azul 17. Col= colênquima; Dr= drusa; Ep= epiderme; Fl= floema primário; Pm= parênquima medular; X= xilema primário.

## CAULE

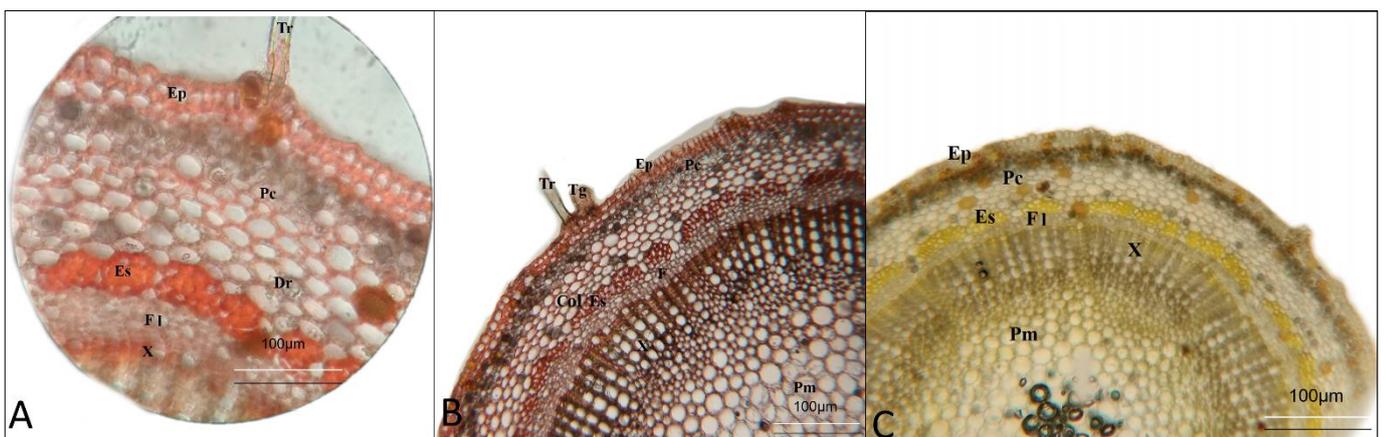
O caule da gramínea teve sua configuração anatômica bem representativa para o grupo de plantas monocotiledôneas: a união do floema e xilema forma feixes vasculares distribuídos de forma aleatória no caule; o feixe vascular envolvido por fibras, em maior concentração em torno do floema; periciclo e endoderme; parênquima medular e córtex também compoem a estrutura do caule de forma abundante. Toda estrutura se encontrou cercada pela epiderme.

Quando efetuada a coloração do caule com o corante azul 17, foi possível observar a interação do pigmento com a parede celular das células, que é composta por celulose e a cor azul foi mantida, em contraste, a não pigmentação das fibras que possuem lignina em sua composição, ocasionou a tonalidade de cor dourada, que ressaltou este tecido na imagem (Figura 11A). No entanto, ao corar o órgão vegetativo com o corante bordô 16 (Figura 11B) não foi possível notar um contraste tão significativo entre as fibras e as demais células, uma vez que teve afinidade com a lignina, não colorindo o floema e o xilema, destacando-os.



**Figura 11.** Corte transversal, caule de gramínea, comparação entre a coloração azul 17 (A); bordô 16 (B). Ep= epiderme; F= fibra; Fv= feixe vascular; Pm= parênquima medular.

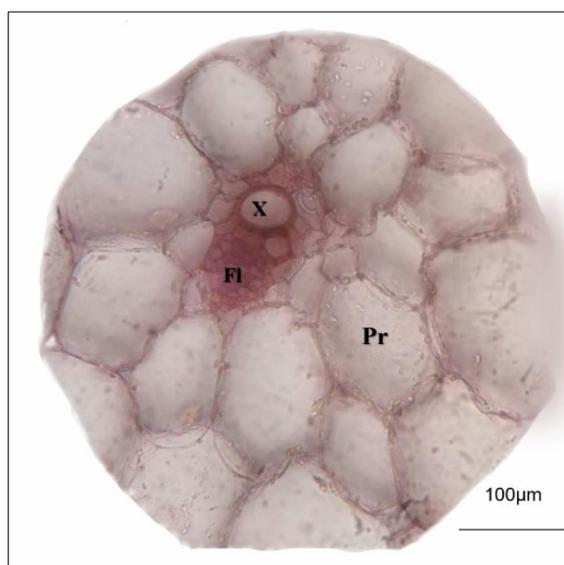
Os corantes vermelho 09 e amarelo 02 foram testados no caule de *Turnera subulata* Sm. e ambos foram eficientes na coloração deixando as células bem destacadas e facilitando a identificação dos tecidos vegetais (Figura 12). Contudo, o corante vermelho 09 exaltou mais as células de xilema, colênquima e esclerênquima (Figura 12A-B). Já o corante amarelo 02 pigmentou de forma mais expressiva substâncias intracelulares (Figura 12C).



**Figura 12.** Corte transversal, caule de *Turnera subulata* Sm. Esclerênquima evidenciado através da coloração com o pigmento vermelho (A). Tecido pigmentado com o corante vermelho (A) e amarelo (B). C= colênquima; Dr= drusa; Ep= epiderme; Es= esclerênquima; Fl= floema; Pc= parênquima cortical; Tr= tricoma; Tg= tricoma glandular; X= xilema.

Através da anatomia caulinar de *T. subulata* Sm. foi possível observar uma estrutura bem organizada e o sistema vascular em forma de cilindro, no qual o xilema e floema são separados pelo câmbio, essa estrutura anatômica apresentou o desenvolvimento de tecido secundário. A epiderme mostrou duas estratificações celulares, seguida pelo parênquima cortical, colênquima do tipo anelar e, próximo ao floema, uma camada de esclerênquima - no centro do caule o parênquima medular preenchendo a estrutura.

Além desses corantes utilizados para colorir tecidos caulinar, foi utilizado o corante pink 13 em caule de *Trandescantia pallida* (rose) D.R.Hunt., que também se mostrou eficiente para pigmentação, se aderindo as paredes celulares e evidenciando os tecidos. O feixe vascular se tornou bem aparente se destacando em meio ao parênquima (Figura 13).



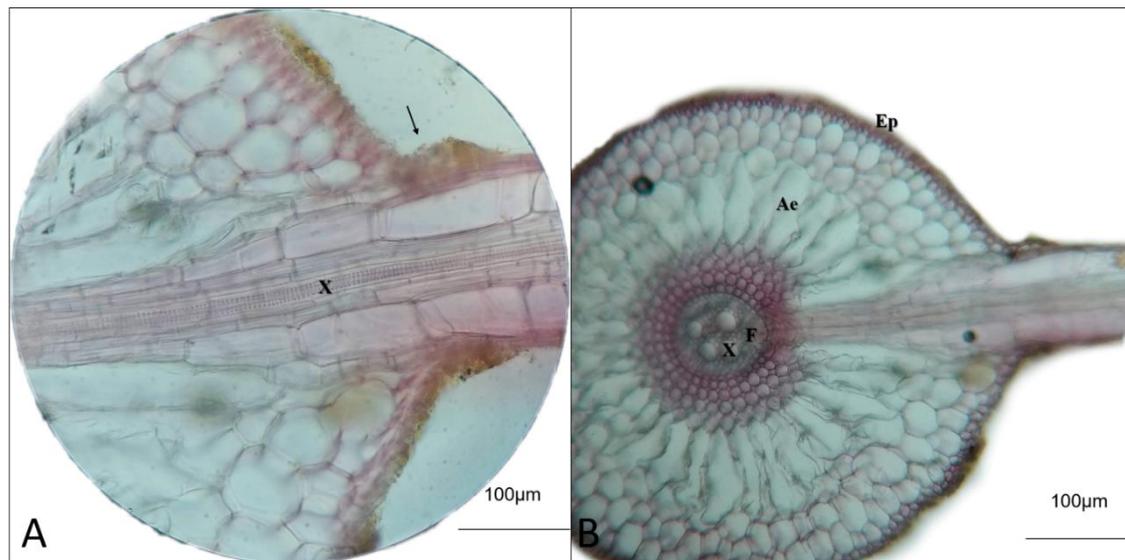
**Figura 13.** Feixe vascular presente em caule de *Trandescantia pallida* (rose) D.R.Hunt. Corado com o corante pink 13. Fl= floema; Pr= parênquima.; X= xilema.

## **RAIZ**

A espécie *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms é uma planta macrófita aquática e possui adaptações específicas para viver nesse tipo de ambiente, como a presença de um parênquima chamado aerênquima em toda sua extensão vegetal (PEREIRA et al., 2014). Na raiz, essa adaptação permite que a planta armazene oxigênio para flutuar e respirar (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2012). Para coloração desse órgão vegetativo foi selecionado o corante pink 13, que apresentou uma boa pigmentação principalmente das células com predominância de celulose. Na figura 14A ficou mais

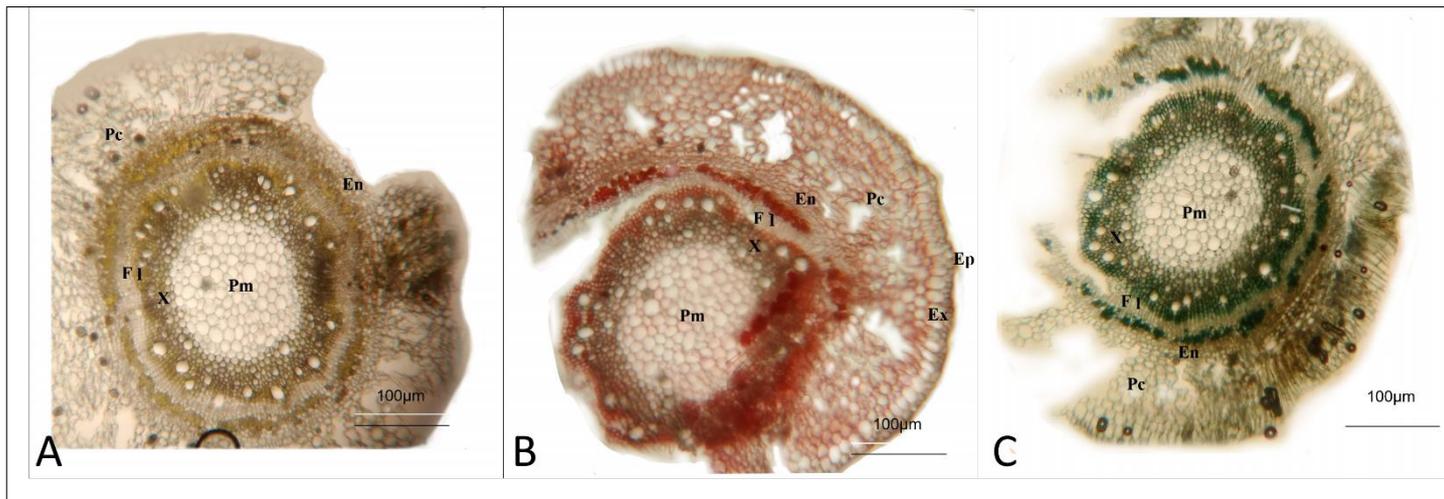
fácil visualizar a coloração nas células do sistema vascular, observando que o tom de rosa ficou mais fraco em relação as demais células.

Na figura 14B é possível compreender a estrutura anatômica da raiz com a presença de aerênquima tomando uma grande área da mesma, como também é possível visualizar o sistema vascular bem centralizado, intercalando entre xilema e floema e no entorno da raiz a presença da epiderme unisseriada. Essa imagem também mostra o desenvolvimento de uma raiz secundária a partir do periciclo.



**Figura 14.** Raiz de *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms pigmentada com o corante pink 13. A seta indica o crescimento da raiz lateral desenvolvida (A), Ae= aerênquima; Ep= epiderme; F= floema; X= xilema.

A raiz de *Terminalia catappa* L. tem epiderme unisseriada e logo em sequência a sua exoderme com células bem arredondadas e proeminentes. Possui uma espessa camada de parênquima cortical e depois apresentasse a endoderme que envolve o sistema vascular com floema e xilema respectivamente e no centro a presença de parênquima medular.

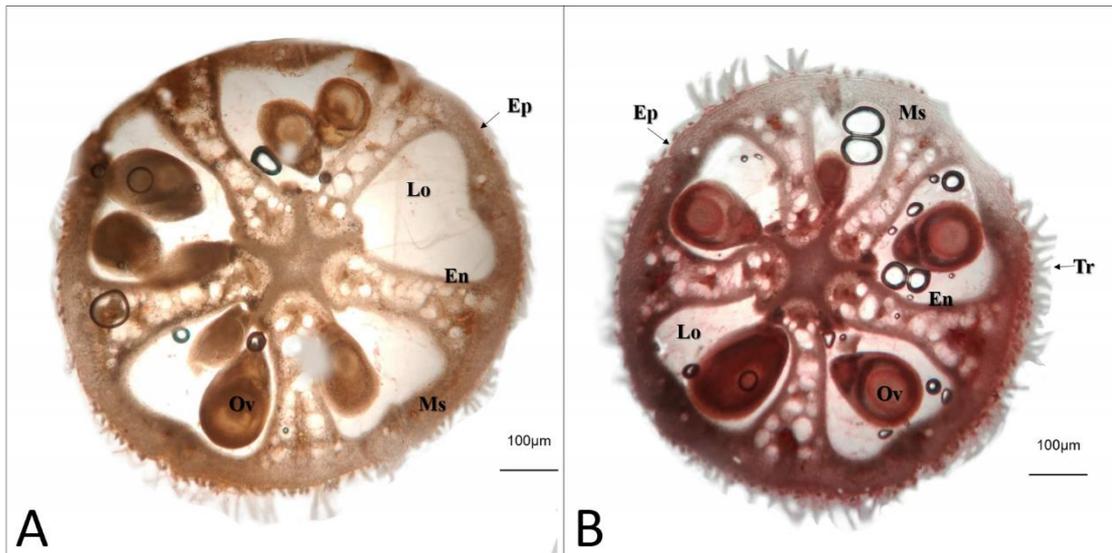


**Figura 15.** Corte transversal da raiz de *T. catappa*. Comparativo entre corantes amarelo 02 (A), vermelho 09 (B), Verde 20 (C). En= endoderme; Ep= epiderme; Ex= exoderme; Fl= floema; Pc= parênquima cortical; Pm= parênquima medular; X= xilema

Para colorir a raiz de *Terminalia catappa L.* foram utilizados três corantes (amarelo 02, vermelho 09 e verde 20) e todos tiveram afinidade para pigmentar os tecidos. Os corantes verde e vermelho contrastaram com tons mais intensos que o amarelo, deixando em evidência o xilema; enquanto que o corante amarelo 02 não realçou muito as células dos tecidos.

## OVÁRIO

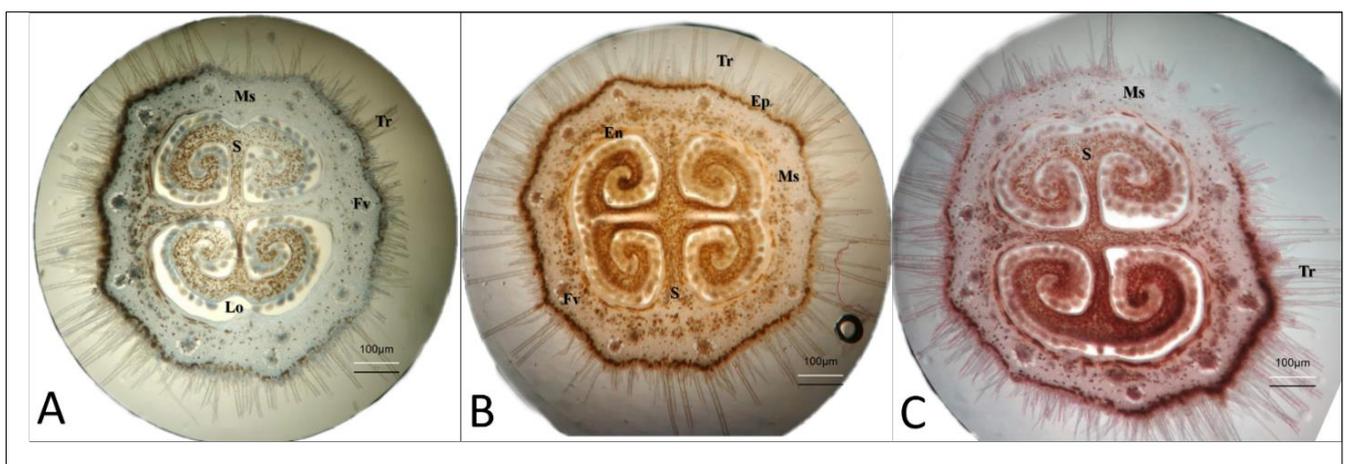
O ovário de *Hibiscus sp.*, pentacarpelar, mostrando os dois óvulos normalmente visíveis em cada lóculo, quando em corte transversal, além de tricomas tectores junto à epiderme. Os dois corantes utilizados, laranja 06 e vermelho 09, tiveram afinidades com os tecidos deste órgão (Figura 8), mas os feixes vasculares ficaram mais destacados com o corante vermelho (Figura 8B). Notou-se também o destaque da coloração vermelha nos óvulos.



**Figura 8.** Ovários de *Hibiscus* sp., coloridos em laranja 06 (A) e em vermelho 09 (B). En= endoderme, Ep= epiderme, Lo= lóculo, Ms= mesoderme, Ov= óvulo.

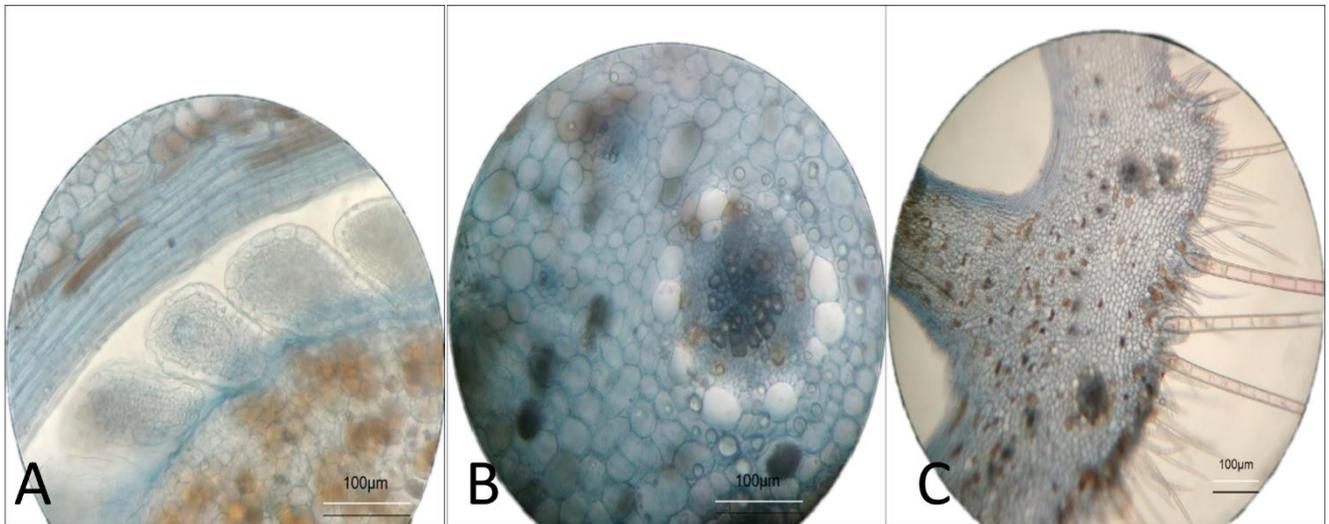
O ovário de *Mussaenda erythrophylla* Shumach. & Thonn é do tipo bicarpelar, com a presença de inúmeros óvulos quando observado em corte transversal, e feixes vasculares espalhados pela mesoderme de forma simétrica lateralizada. A superfície da epiderme se apresentou recoberta por tricomas (Figura 9).

Na coloração, os três tipos de corantes (azul 17, laranja 06 e vermelho 09) realçaram os tecidos vegetais; contudo, o corante azul apresentou maior contraste de cores, destacando algum tipo de substância armazenada pelas células situadas próximo à inserção dos óvulos.



**Figura 9.** Cortes transversais, ovários de *Mussaenda erythrophylla* Shumach. & Thonn. Demonstração da coloração realizada com as cores azul, laranja e vermelho. Ep= epiderme; Ms= mesocarpo; En= endocarpo; S= septo; Tr= tricoma; Lo= lóculo; Fv= feixe vascular.

Na figura 10 é possível identificar com mais detalhes as estruturas do ovário de *M. erytrophylla*. Como os óvulos (Figura 10A), feixe vascular rodeado pelas células da bainha do feixe (Figura 10 B) e os tricomas simples e multisseriados (Figura 10 C). Tais estruturas foram muito bem evidenciadas com o uso do corante azul 17.



**Figura 10.** Destaques dos tecidos dos ovários de *Mussaenda erytrophylla* Shumach. & Thon., utilizando o corante azul 17, para mostrar os óvulos (A), Feixe vascular (B) e epiderme com tricomas (C).

## 5.2 Custos da coloração alternativa

Como já comentado no decorrer do trabalho, os materiais utilizados para produção da gelatina glicerinada e corantes são facilmente encontrados no comércio popular, como mercearias, armarinhos, farmácias e feiras livre. Para poder mensurar os custos na produção das lâminas histológicas também foi realizado o cálculo para saber o preço da quantidade gasta para realizar receita completa da gelatina glicerinada, como demonstrado na Tabela 2.

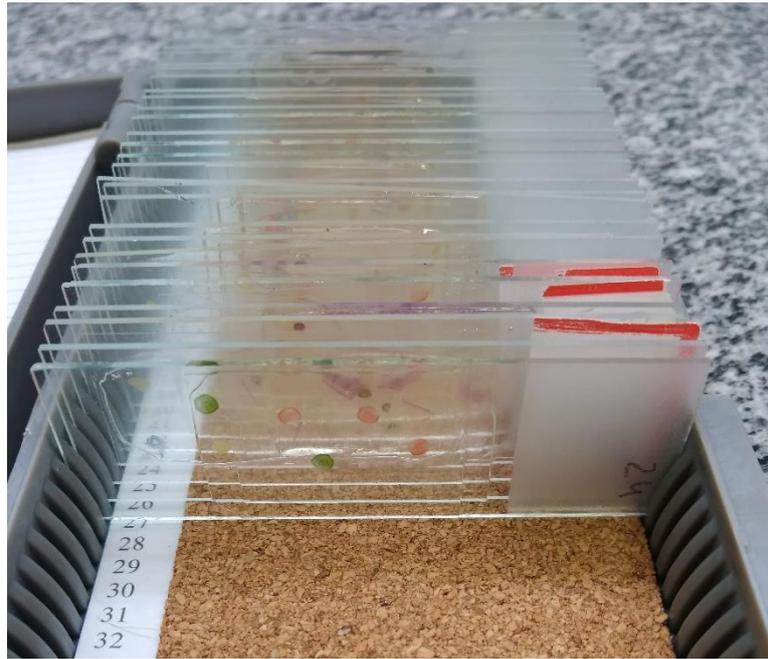
**Tabela 2.** Materiais utilizados na produção das lâminas histológicas e seus respectivos custos.

| <b>Materiais</b>             | <b>Quantidade</b> | <b>Preço</b>     | <b>Quantidade de materiais utilizados para obtenção dos cortes histológicos</b> | <b>Preço</b>    |
|------------------------------|-------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Corante                      | 40-45g            | R\$ 2,60         | 1g                                                                              | R\$ 0,06        |
| Glicerina                    | 100 ml            | R\$ 4,00         | 70 ml                                                                           | R\$ 2,80        |
| Gelatina                     | 12g               | R\$ 3,00         | 12g                                                                             | R\$ 3,00        |
| Botões de cravo              | 50 uni.           | R\$ 1,50         | 5 uni.                                                                          | R\$ 0,15        |
| Fixador                      | 40g               | R\$ 3,50         | 1g                                                                              | R\$ 0,09        |
| Lâmina de barbear            | 1 caixinha        | R\$ 2,00         | 1 caixinha                                                                      | R\$ 2,00        |
| Lâmina p/ uso microscópico   | 50 uni.           | R\$15,00         | 24 uni.                                                                         | R\$ 7,20        |
| Lamínula p/ uso microscópico | 100 uni.          | R\$14,00         | 24 uni.                                                                         | R\$ 2,80        |
| <b>Total</b>                 | -----             | <b>R\$ 45,60</b> | -----                                                                           | <b>R\$18,10</b> |

Os resultados mostraram valores estimados para realizar o presente estudo. Estes custos podem variar de acordo com a região e a localidade. Na compra de todos os materiais o valor gasto foi de R\$45,60, sendo considerado baixo. Para a produção de apenas 1 receita foi gasto apenas R\$18,10. Foi notório o baixo custo para trabalhos de anatomia vegetal com objetivo de aulas práticas e laminário semipermanente. Tal estimativa de custo levou em consideração que para realizar uma produção de um laminário histológico foi necessário o acesso a um laboratório devidamente equipado com microscópio, equipamentos diversos e vidraria.

### **5.3 Laminário histológico**

Por fim, um laminário histológico foi criado com o total de 24 lâminas no qual 6 foram de caule, cinco de lâmina foliar, seis de ovário, cinco de raiz e duas de pecíolo devidamente armazenadas e identificadas. As lâminas foram depositadas no Laboratório de Botânica: Anatomia Vegetal e Dendroecologia – LAVD/ UFS. Outro destaque se deve aos materiais deste laminário, uma vez que as espécies são facilmente encontradas no campus da universidade ou em seus arredores, agregando uma maior diversidade de amostras de tecidos vegetais em relação aos laminários comerciais disponíveis. O material servirá como instrumento facilitador em aulas práticas de anatomia vegetal.



**Figura 16.** Laminário histológico de tecidos vegetais, contendo 24 lâminas.

## **6- CONCLUSÃO**

Com os resultados obtidos nesse trabalho foi possível concluir que os corantes em pó originalmente utilizados no mercado têxtil para tingir tecido são eficientes para colorir tecidos vegetais, aderindo-se à celulose e lignina presentes nas células, deixando a visualização dos diferentes tecidos nos órgãos vegetais mais atrativa. Em relação às duas marcas de corantes utilizadas (Tupy e Guarany), foi possível notar que não existe distinção para pigmentação, sendo ambas eficientes. Além disso, os corantes são uma ótima alternativa de baixo custo para colorir as células e produzir um laminário histológico.

## 7- REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, Beatriz; CARMELLO-GUERREIRO, Sandra Maria. 2012. **Anatomia Vegetal**. 3. ed. Viçosa: Editora Ufv. 404 p.

BARBOSA, Danila de Araújo; SILVA, Kiriaki Nurit; AGRA, Maria de Fátima. 2007. Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Turnera chamaedrifolia* Cambess. e *Turnera subulata* Sm.(Turneraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 396-413.

BRAMMER, Sandra Patussi; TONIAZZO, Claudia; POERSCH, Liane Balvedi. 2015. Corantes comumente empregados na citogenética vegetal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82.

BOMFIM, Luiz Fernando Costa; COSTA, Ivanaldo Vieira Gomes da; BENVENUTI, Sara Maria Pinotti. 2002. Projeto cadastro da infra-estrutura hídrica do Nordeste. Estado de Sergipe. Diagnóstico do município de São Cristóvão.

CORTEZ, Priscila Andressa; SILVA, Delmira da Costa; CHAVE, Alba Lucilvânia Fonseca. 2016. **Manual prático de morfologia e anatomia vegetal**. Ilhéus: Editus - Editora da Uesc, 95 p.

EDSON-CHAVES, Bruno; SANTOS-SILVA, Leyde Nayane Nunes dos; CORTEZ, Priscila Andressa. 2021. Atuação e potencialidades da Anatomia Vegetal. **X Botânica no Inverno**. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Cap. 11. p. 1-234.

GUARANY (org.). **Nossa História**. 2021. Disponível em: <https://www.guaranyind.com.br/nossa-historia>. Acesso em: 10 dez. 2021.

GUIDOTI, D. G. G. et al. 2015. Morphoanatomic characterization of the stem and the leaf of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC (Apocynaceae) and antimutagenic activity of its leaves. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 667-678.

GOMES, Silvio Henrique Menezes et al. 2017. A vegetação do campus da Universidade Federal de Sergipe: florística e fitossociologia. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**.

JESUS, Edilma Nunes de et al. 2015. Estrutura dos fragmentos florestais da bacia hidrográfica do rio Poxim-SE, como subsídio à restauração ecológica. **Revista Árvore**, v. 39, p. 467-474.

JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. Mc Graw Hill Book, New York, 523p

KARP, Gerald. 2005. **Biologia celular e molecular**. Editora Manole Ltda.

LANFRANCONI, Mariana. 2001. Historia de la Microscopía. **Introducción a la Biología**. Fac. de Ciencias Exactas y Naturales.

MELO, Alberto Soares de et al. 2006. Desenvolvimento vegetativo, rendimento da fruta e otimização do abacaxizeiro cv. Pérola em diferentes níveis de irrigação. **Ciência Rural**, v. 36, p. 93-98.

OLIVEIRA, Nathasha Fernandes de et al. 2021. Efeitos de fatores físico-químicos na produção de biomassa, colorantes e antibióticos por fungos *Trichoderma* spp.

PECIO, Anna; PIPREK, Rafal P. 2019. Introduction to Histological Techniques. **The Histology of Fishes**, p.4.

PEREIRA, Fabricio J. et al. 2014. Lead tolerance of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart.-Pontederiaceae) as defined by anatomical and physiological traits. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p. 1423-1433.

SCHIOZER, Adriana Lopes et al. 2013. Estabilidade de corantes e pigmentos de origem vegetal.

SILVA, Cleber José da et al. 2020. An inexpensive and environmentally friendly staining method for semi-permanent slides from plant material probed using anatomical and computational chemistry analyses. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 71, e01662018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2175-78602020000100221&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2175-78602020000100221&lng=en&nrm=iso)>. access on 10 May 2021. Epub Apr 17, 2020. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071024>.

TUPY (org.). 2021. **Indústria e Comércio de Corantes Tupy**. Disponível em: <http://www.corantestupy.com.br/empresa.html>. Acesso em: 10 dez. 2021.

YAMANAKA, Hideko; BOLDRIN, M. V. 2016. Corantes: Caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento. **Editora Cultura Acadêmica, São Paulo**.