

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E  
PASTAGENS**

**PADRÃO MORFO-ANATÔMICO DE VARIEDADES DE PALMA  
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA*  
CULTIVADAS NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

**Autora: Claudia Tenório de Noronha  
Orientador: Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade**

**Garanhuns  
Estado de Pernambuco  
Fevereiro - 2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E  
PASTAGENS**

**PADRÃO MORFO-ANATÔMICO DE VARIEDADES DE PALMA  
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA*  
CULTIVADAS NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

**Autora: Claudia Tenório de Noronha  
Orientador: Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Área de Concentração: Produção Animal.

**Garanhuns  
Estado de Pernambuco  
Fevereiro – 2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E  
PASTAGENS**

**PADRÃO MORFO-ANATÔMICO DE VARIEDADES DE PALMA  
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA*  
CULTIVADAS NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

**Autora: Claudia Tenório de Noronha**

**Comitê de Orientação:**

**Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade  
Profa. Dra. Emília Cristina Pereira Arruda  
Prof. Dr. André Luiz Rodrigues de Magalhães**

**Garanhuns  
Estado de Pernambuco  
Fevereiro - 2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Setorial - UAG, Garanhuns-PE, Brasil

N852p Noronha, Claudia Tenório de  
Padrão morfo-anatômico de variedades de palma forrageira  
dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido  
pernambucano/ Claudia Tenório de Noronha. – 2017.

98 f. : il.

Orientador: Alberício Pereira de Andrade  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e  
Pastagem, Garanhuns, BR-PE, 2017.  
Inclui Anexo e Bibliografia.

CDD: 633.2

1. *Opuntia*
  2. *Nopalea*
  3. Armazenamento de água
  4. Compostos fenólicos
  5. Morfologia vegetal
- I. Andrade, Alberício Pereira de  
II Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E  
PASTAGENS**

**PADRÃO MORFO-ANATÔMICO DE VARIEDADES DE PALMA  
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA*  
CULTIVADAS NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

**Autora: Claudia Tenório de Noronha  
Orientador: Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade**

**Titulação:** Mestre em Ciência Animal e Pastagens  
**Área de Concentração:** Produção Animal

**APROVADA EM:** 23 / 02 /2017.

**Comissão Julgadora**

---

Prof. Dr. Ariosvaldo Nunes de Medeiros - PDIZ/DZ/UFPB  
(Examinador)

---

Prof. Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno - PPGA/DFCA/UFPB  
(Examinador)

---

Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade - PPGCAP/UAG/UFRPE  
(Orientador)

*Epígrafe*

*Sei que os que confiam no Senhor  
Revigoram suas forças, suas forças se renovam  
Posso até cair ou vacilar, mas consigo levantar*

*Pois recebo dele asas  
E como águia, me preparo pra voar*

*Eu posso ir muito além de onde estou*

*Vou nas asas do Senhor  
O Teu amor é o que me conduz  
Posso voar e subir sem me cansar  
Ir pra frente sem me fatigar  
Vou com asas, como águia  
Pois confio no Senhor!*

*Que me dá forças pra ser um vencedor.*

*(Pe. Fábio de Melo)*

*“Tema a Deus com toda tua alma, ama-o com todas as tuas  
forças, e verás o quão maravilhosas são tuas obras”*

*Ao meu pai eterno Deus,*

*Aos meus pais deste plano, Josefa Célia e José Lourenço, pelo amor incondicional.*

*Aos meus irmãos Claudemir, Claudyjone, Claudycea, por todo apoio.*

*E ao meu amado filho Marcus Henrique, razão do meu existir.*

*Nos momentos difíceis, de desânimo, de cansaço, o sorriso, a compreensão e o amor me fizeram continuar.*

,

***DEDICO***

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai eterno, Deus, por revelar nas horas mais difíceis que eu não estou só, guiando-me fielmente em suas promessas, concedendo-me tantas vitórias e bênçãos.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, em especial a Unidade Acadêmica de Garanhuns - UAG pela oportunidade concedida e por ser veículo para o desenvolvimento da nossa região.

Ao meu orientador, Prof. Alberício Pereira de Andrade, pelo seu caráter, pela amizade, confiança e paciência. Ser humano fantástico o qual tenho enorme carinho, respeito e admiração.

Ao meu Co-orientador, Prof. André Luiz Rodrigues Magalhães, excelente pessoa e profissional, sempre prestativo e confiante, o qual tenho enorme respeito e admiração. Pelas orientações e amizade

À minha Co-orientadora, Prof<sup>a</sup>. Emília Cristina Pereira de Arruda, a qual, são inúmeros os adjetivos, ser humano extraordinário, que acolheu uma estanha com total atenção, dedicação e sinceridade. Pela amizade, pela preocupação. Mulher guerreira, que tenho grande admiração e carinho.

Ao Prof. Renato José Reis Mônica, pela oportunidade em realizar parte deste trabalho no laboratório de Microscopia do CENLAG/UAG.

Aos professores da banca examinadora, pelas preciosas contribuições a esta pesquisa.

Aos coordenadores do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal e Pastagens (PPGCAP), pelo comprometimento e preocupação com o programa.

À secretária do programa Carolina Accioly, pela dedicação e disponibilidade, ajudando no que está ao seu alcance.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens (PPGCAP), em especial às professoras Karla Andrade e Geane Dias, por terem acreditado e lutado para a instalação do programa.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo financiamento desta pesquisa e pela credibilidade.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela bolsa de estudo concedida, sem a qual não seria possível a realização deste curso.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) de Arcoverde – PE, em especial ao Mestre Djalma Cordeiro dos Santos, pelo fornecimento das espécies forrageiras, e aos funcionários pelo apoio.

A toda equipe do laboratório de anatomia vegetal da UFPE (Maryana Dias; Silvia Santos; Fillype Pereira; Pedro Queiroz; Rozângela Melo e Rafaella Dutra), pela receptividade e cooperação.

Aos meus amigos Cícero e Carlos por acolher-me em sua residência durante o processamento das análises, pela a grande ajuda e amizade conquistada.

À minha querida amiga Marise Marques, pela sua grande ajuda na condução do trabalho, e acima de tudo, pela amizade sincera construída. Tenha certeza que sem você, tudo teria sido mais difícil.

Aos companheiros de Pós-Graduação Juliana Pimentel, Ítalo, Filipe, Lívia, Jorge, Moises, Cláudio, Diana, Cristianne, Deygnon, Edilma, Gabriela, Sánara, Edmário, Paulo Godoi. Uns mais próximos outros menos, porém presentes nesta caminhada.

A coordenação de transportes da Unidade acadêmica de Garanhuns, por possibilitar a locomoção, disponibilizando motoristas e transportes para que fosse possível a realização das coletas do material para pesquisa. Visto que, em algumas universidades não tem esse suporte.

A todos os funcionários da UAG, em especial ao seu Ivanildo (jardineiro), pela alegria e, o Senhor Cláudio (repcionista do CENLAG), sempre prestativo.

Aos meus irmãos, Claudemir, Claudycea, Claudyjone, pelo apoio, carinho e força nos momentos difíceis.

À minha mãe Célia, e meu pai Zeca, pelo apoio e cumplicidade durante toda a minha jornada, cuidando de tudo ao meu redor para que eu pudesse me dedicar a este trabalho.

Por fim, a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para a consumação deste trabalho e torceram pela minha vitória.

*A todos, minha gratidão e que Deus os abençoe sempre!*

## **BIOGRAFIA**

Claudia Tenório de Noronha, filha de José Lourenço de Noronha Neto e Josefa Célia Tenório de Noronha, nascida no município de Garanhuns, Pernambuco, no dia 16 de janeiro de 1982.

Em Março de 2009, ingressou na Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns, onde desenvolveu atividades de monitoria, extensão e iniciação científica, sendo bolsista PIBIC de julho de 2011 a agosto de 2014, ano em que obteve o título de Bacharel em Zootecnia.

Em março de 2015, ingressou no programa de pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns, concentrando seus estudos na área de Produção Animal.

Em fevereiro de 2017, submeteu-se a banca de defesa da dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Pastagens.

## SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIV
TABELAS DO APÊNDICE.....	XIV
FIGURAS DO APÊNDICE.....	XVII
RESUMO GERAL.....	XVIII
GENERAL ABSTRACT.....	XIX
<b>CAPÍTULO I - Contextualização.....</b>	<b>XX</b>
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	21
1.2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
1.2.1. Importância Socioeconômica da Palma no Semiárido Brasileiro.....	24
1.2.2. Valor Nutritivo da Palma.....	25
1.2.3. Aspectos gerais da palma.....	26
1.2.4. Fisiológico da Palma.....	27
1.2.5. Propriedades bioquímica da Palma.....	27
1.2.6. Particularidades Anatômicas da Palma.....	28
1.2.7. Defesa da planta aos ataques bióticos.....	31
1.2.8. Cochonilha-do-Carmim limita produção Semiárido brasileiro.....	31
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
OBJETIVOS.....	44
<b>CAPÍTULO II - Padrão morfo-anatômico de variedades de palma forrageira dos gêneros <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> cultivadas no Semiárido Pernambucano.....</b>	<b>45</b>
RESUMO.....	46
ABSTRACT.....	47
2.1. INTRODUÇÃO.....	48
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
2.4. CONCLUSÃO.....	72
2.5. AGRADECIMENTOS.....	73
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82

APÊNDICE I.....	84
APÊNDICE II.....	86
ANEXO.....	93

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
<b>Tabela 1.</b> Variedades de palma forrageira, avaliadas e caracterizadas quanto ao ataque da <i>Dactylopius opuntiae</i> (cochonilha-do-carmim), no estado de Pernambuco-Brasil.....	49
<b>Tabela 2.</b> Reagentes utilizados para os testes histoquímicos e as respectivas classes de substâncias identificadas.....	52
<b>Tabela 3.</b> Análise biométrica.....	57
<b>Tabela.4.</b> Presença e localização dos compostos fenólicos nas variedades estudadas.....	64
<b>Tabela 5.</b> Presença e localização de lipídios nas variedades estudadas.....	65
<b>Tabela 6.</b> Análise biométrica do amido presentes no sistema fundamental do seguimento caulinar em <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> .....	67
<b>Tabela 7.</b> Presença e localização do amido nas variedades estudadas.....	68

**LISTA DE FIGURAS**

	Páginas
<b>Figura 1.</b> Fotomicrografia em microscopia eletrônica de varredura em vista frontal no segmento caulinar.....	69
<b>Figura 2.</b> Fotomicrografia em microscopia eletrônica de varredura .....	70
<b>Figura 3.</b> Testes histoquímicos em seção transversal (microscopia ótica).....	71

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AC** – Área do córtex
- AD** – Área da drusa do córtex
- AM** – Amido medular
- ASV** – Amido do sistema vascular
- Ca** – Cálcio
- CAM** - Metabolismo ácido das crassuláceas
- CPAr** – Área da célula do parênquima armazenador
- CPP** – Área da célula do parênquima paliçádico
- CV** – Coeficiente de variação
- DH** – Drusa hipoderme
- EC** – Espessura cutícula
- ECH** – Espessura célula da epiderme
- EE** – Extrato etéreo
- EH** – Espessura hipoderme
- EP** – Espessura da epiderme
- FB** – Fibra bruta
- FE** – Ferro
- IPA** - Instituto Agronômico de Pernambuco
- K** – Potássio
- MEV** - Microscopia eletrônico de varredura
- MF** – Matéria fresca
- Mg** – Magnésio
- MM** – Matéria mineral
- MN** – Manganês
- MO** - Microscopia ótica
- MS** - Matéria seca
- Nº ACSV** – Número de amido na célula do sistema vascular
- P** – Fósforo
- S** – Enxofre
- Zn** – Zinco

**TABELAS DO APÊNDICE**

Páginas

<b>Tabela 8.</b> Resumo das principais características morfo-anatômicas observadas no seguimento caulinar em variedades do gênero <i>Opuntia</i> e <i>Nopalea</i> .....	84
<b>Tabela 9.</b> Resumo das principais estruturas anatômicas relacionadas ao mecanismo de defesa das variedades de palma forrageira à <i>Dactylopius opuntiae</i> (cochi-nilha-do-carmim).....	85

## FIGURAS DO APÊNDICE

	Páginas
<b>Figura 4.</b> Material para coleta.....	86
<b>Figura 5.</b> Variedades trabalhadas.....	86
<b>Figura 6.</b> Estruturas anatômicas do segmento caulinar em seções transversais.....	87
<b>Figura 7.</b> Material de dissociação.....	88
<b>Figura 8.</b> Estruturas anatômica do sistema fundamental em <i>Opuntia fícus-indica</i> Mill IPA-100003.....	89
<b>Figura 9.</b> Biometria em seção transversal.....	90
<b>Figura 10.</b> Espessura de Cutícula.....	91
<b>Figura 11.</b> Espessura da epiderme.....	91
<b>Figura 12.</b> Número de estômato na epiderme.....	91
<b>Figura 13.</b> Espessura da hipoderme.....	91
<b>Figura 14.</b> Espessura das células da hipoderme.....	91
<b>Figura 15.</b> Diâmetro das drusas da hipoderme.....	91
<b>Figura 16.</b> Diâmetro das drusas no córtex.....	92
<b>Figura 17.</b> Diâmetro das células do parênquima paliçádico.....	92
<b>Figura 18.</b> Diâmetro das células do parênquima armazenador.....	92
<b>Figura 19.</b> Número de amido nas células do sistema vascular.....	92
<b>Figura 20.</b> Diâmetro do amido medula.....	92
<b>Figura 21.</b> Diâmetro do amido sistema vascular.....	92

## ANEXO

	Página
Normas para submissão do artigo científicos na revista <i>Nature Plants</i> .....	93

## RESUMO GERAL

NORONHA, Claudia Tenório. **Padrão morfo-anatômico de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido Pernambucano.** 2017. 98p. Defesa de Mestrado em Ciência Animal e Pastagens pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, PE<sup>1</sup>.

**Resumo:** A palma forrageira por ser uma espécie adaptada às condições edafoclimática do Semiárido vem sendo amplamente utilizada na alimentação animal. Neste contexto, por a palma apresentar uma grande diversidade genética dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, e algumas são susceptíveis ao ataque da praga cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*) e, como consequência limita a sua produção, surge assim a necessidade de pesquisas que possibilite elucidar porque alguns acessos são susceptíveis e outros são resistentes. Portanto, objetivou-se com esse estudo distinguir padrões morfo-anatômicos relacionando a susceptibilidade ou resistência a cochonilha-do-carmim em variedades de palma forrageira cultivadas no Semiárido Pernambucano. Foram analisados seguimentos caulinares de sete variedades (IPA-100003; IPA-100004; IPA-200008; IPA-200016; IPA-200021; IPA-200149 e IPA-200205), através de testes histoquímicos e produção de lâminas histológicas permanentes e semipermanentes, observadas em microscopia eletrônica de varredura e microscópio óptico. Todas as variedades estudadas apresentaram peculiaridades morfo-anatômicas, a IPA-100003 possui epiderme plana com estômatos localizados acima do nível das demais células. A IPA-200008 possui estômatos abaixo do nível das demais células. Porém, tais variedades foram únicas que apresentam tricomas não glandulares na epiderme. A IPA-200021 apresenta dois tipos de estômatos (tetracítico e hexacítico). Outras características também foram registradas como a biometria das células do parênquima paliçádico e armazenador, diâmetro do amido e das drusas na hipoderme e colênquima. Essas informações ajudarão na tomada de decisão em futuros programas de melhoramento genético, frente às condições ambientais, e permitirão novos registros para a definição dos padrões da palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido Pernambucano.

**Palavras chaves:** compostos fenólicos, lipídios, morfologia vegetal

<sup>1</sup>Comitê Orientador: Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade – PPGCAP/UAG/UFRPE ( orientador); Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Emília Cristina Pereira de Arruda - PPGBV/UFPE (co-orientador); Prof. Dr. André Luiz Rodrigues de Magalhães –UAG/UFRPE (co-orientador).

## GENERAL ABSTRACT

NORONHA, Claudia Tenório. **Morpho-anatomical pattern of forage cactus pear varieties of the genres *Opuntia* and *Nopalea* grown in the Pernambucano Semi-arid.** 2017. 98p. Defense of Mester of Animal Science and Pastures through the Rural Federal University of Pernambuco, Academic Unit of Garanhuns, PE.<sup>2</sup>

**Abstract:** The cactus pear because it is a species adapted to the edaphoclimatic conditions of Semi-arid has been widely used in animal feed. In this context, of cactus pear To present a great genetic diversity of the genus *Opuntia* e *Nopalea*, Some varieties are susceptible to pest attack *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) and, as a consequence limits its production, thus the need for research that makes it possible to elucidate because some accesses are susceptible and others are resistant. Therefore, The objective of this study was to distinguish morpho-anatomical patterns related to susceptibility or resistance to carmine cochineal in forage cactus pear varieties cultivated in the semi-arid Brazil. Caulinary traits of seven varieties were analyzed (IPA-100003; IPA-100004; IPA-200008; IPA-200016; IPA-200021; IPA-200149 e IPA-200205), hrough histochemical tests and the production of permanent and semipermanent histological slides, observed in scanning electron microscopy and optical microscope. All varieties studied presented morpho-anatomical, the IPA-100003 has flat epidermis with stomata located above the level of the remaining cells. The IPA-200008 has stomata below the level of the remaining cells. However, both presented non-glandular trichomes in the epidermis, while the others did not. The IPA-200021 presents two types of stomata (tetracytic and hexacytic). Other characteristics were also recorded as the biometry of palisade parenchyma and storage cells, starch and drusen diameter in the hypodermis and colenchyma. This information will help in decision making in future genetic breeding programs in the face of environmental conditions and will allow new records for the definition of forage cactus pear standards of the genres *Opuntia* and *Nopalea* grown in the semi-arid Brazil.

**Key words:** lipids, phenolic compounds, plant morphology

<sup>2</sup>Committee Advisor: Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade – PPGCAP/UAG/UFRPE (advisor); Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Emília Cristina Pereira de Arruda – PPGBV/UFPE (co-advisor); Prof. Dr. André Luiz Rodrigues de Magalhães –UAG/UFRPE (co-advisor).



***CAPÍTULO 1***

---

CONTEXTUALIZAÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

No mundo as regiões Áridas e Semiáridas ocupam aproximadamente 48 milhões de km<sup>2</sup> caracterizadas pela baixa umidade do ar, alta variabilidade temporal e espacial das chuvas, que são infrequentes, com baixa previsibilidade e aleatórias. As zonas áridas são classificadas quanto à precipitação anual como: árido extremo (60-100 mm), árido (150-250 mm) e semiárido (250-500 mm) (Noy-meir *et al.*, 1973).

O Semiárido brasileiro tem uma extensão total de 982.563,3 km<sup>2</sup>, representando 11,39% do território nacional (IBGE, 2005), composto por uma rica e vasta diversidade vegetal, que foge dos padrões comparados a outras regiões do mundo, se diferenciando na dinâmica intensa entre água-solo-plantas-atmosfera (Andrade *et al.*, 2006). Formando ecossistemas que compõem o bioma Caatinga, exclusivo do Brasil, que reúne grande diversidade espacial de paisagens no país.

O crescimento e desenvolvimento da vegetação na região Semiárida resultam das estratégias de adaptações das plantas ao ambiente, como por exemplo, a família das Cactaceae, que possuem modificações anatômicas, metabolismo CAM, como forma de retardar a desidratação, e conseqüentemente manter o turgor e volume celular (Andrade *et al.*, 2006). Também, possui sistema radicular fasciculado que absorve água mesmo em pouco volume de chuva, concomitante, redução na transpiração mediante a abertura e fechamento dos estômatos presentes no seguimento caulinar e nas folhas, as quais são reduzidas, evitando substancialmente a perda da água, armazenando-a, para suportar longos períodos de estiagem (Dubeux-Júnior *et al.*, 2013).

Outra estratégia é à produção de metabólitos primários e secundários, vinculados a defesa da planta contra pragas, pouco estudados, mas com grande potencial na elaboração de fármacos para medicina humana (Alves *et al.*, 2016).

A palma forrageira compreende as plantas de gênero *Opuntia* e *Nopalea*, ambas da família Cactaceae, que constituem ampla distribuição no Brasil apesar de serem plantas introduzidas (Silva *et al.*, 2008), com variações em tamanho, espessura e formato.

No período seco do ano, no Nordeste brasileiro, a palma forrageira é um importante suplemento alimentar para os animais ruminantes, por fornecer energia e água, além de vitaminas e minerais, colaborando com o crescimento da produção e sustentabilidade da pecuária regional (Melo *et al.*, 2011).

O cultivo de algumas variedades da palma forrageira utilizadas pelos produtores na alimentação animal, ainda é ameaça pela praga conhecida vulgarmente como cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*), inseto que se alimenta da seiva da planta, levando-a a morte (Santos *et al.*, 2006); conseqüentemente, destruindo e limitando as plantações, principalmente nos estados de Pernambuco e Paraíba (Lopes *et al.*, 2009). Diante do exposto, uma alternativa para evitar o ataque da *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) é o plantio de clones resistentes, visto que, não provoca danos ambientais, não acarreta ônus adicionais ao produtor, e nem compromete a saúde do consumidor dos produtos derivados da pecuária regional (Andrade *et al.*, 2006).

São notórias as diferenças fenotípicas entre as variedades dentro da mesma espécie da palma forrageira. Apesar de serem plantas da mesma família e gênero (táxon). Suas diferenças morfo-anatômicas podem contribuir na resposta da planta a ser resistente ou susceptível a pragas. Portanto, objetivou-se caracterizar o padrão morfo-anatômico de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido Pernambucano.

## 1.2. REVISÃO DE LITERATURA

A família Cactaceae encontra-se distribuída nos mais variados ambientes no mundo, com ampla forma e diferentes hábitos de crescimento (arbóreo e rasteiro), compondo cerca de 1500 espécies (Anderson *et al.*, 2001).

Existem Cactáceas na África Tropical, Madagascar, Ilha do Oceano Índico e Sri Lanka (Anderson *et al.*, 2001). Além dos três grandes centros de diversidade. O primeiro centro localizado no Norte do México e Oeste dos Estados Unidos. O segundo centro de diversidade, engloba a região Andina, parte do Peru, Bolívia, Chile e Argentina. E o terceiro centro, encontra-se na região Sul da América, onde o Brasil é representado pela Caatinga (Bartholott e Hunt, 1993).

As Cactáceas podem ser classificadas de acordo com seu habitat, dividindo-se em cinco grupos:

- I) **Silvícolas:** que habitam florestas pluviais (Amazônica e Atlântica), com predominância de espécies epífitas;
- II) **Savanícolas:** presentes no Cerrado;
- III) **Campestres:** vivem em campos rupestres de Minas Gerais;
- IV) **Litorâneas:** presentes no litoral;
- V) **Xerófitas:** que habitam o bioma caatinga (semiárido), a qual engloba os estados: Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio grande do Norte, Maranhão, Ceará, Piauí, Bahia (região Nordeste do Brasil) e parte do Norte de Minas Gerais (região Sudeste do Brasil), compreendendo assim, o maior número de espécie (Arruda *et al.*, 2005).

Apesar da vasta diversidade de cactáceas no Brasil, a palma forrageira foi introduzida no Rio de Janeiro pelos portugueses, na intenção de quebrar o monopólio Espanhol sob a produção do vermelho carmim, originado no México (Simões *et al.*, 2005). Embora, essa tentativa comercial não tenha adquirido sucesso no segmento, a palma adaptou-se bem as condições edafoclimáticas locais, sendo disseminada para outras Regiões do Brasil (Santos *et al.*, 2006). Atualmente é uma importante reserva forrageira para os pecuaristas do Nordeste, e estimando-se seu cultivo em torno de aproximadamente 600.000 ha<sup>1</sup>, com variedades dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* destinadas, exclusivamente, a alimentação animal (Dubeux-Júnior *et al.*, 2013).

### 1.2.1. **Importância Socioeconômica da Palma no Semiárido Pernambucano**

Na Chapada Diamantina, Canudos, Rio de Contas, Valente, São Domingos e no estado da Bahia, os brotos da palma são empacotados e comercializados nas feiras livres, como verduras para diversos pratos da culinária apreciados pelos moradores e turistas da região. Além do consumo *In natura*, os brotos são processados em salmoura ou vinagre (Guedes *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2011; Cunha *et al.*, 2012; Gurjão *et al.*, 2013).

Outras opções para utilização da palma, já testadas no México, é a fabricação de adesivos, borracha sintética, papel, cola para etiquetas, selos, corantes, anticorrosivos, e artigos medicinais, contribuindo com a agroindustrialização no Semiárido Pernambucano (Lopes *et al.*, 2007).

Estudos comprovam (Shedbalkar *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2011; El- Mostafa *et al.*, 2014), que a palma possui propriedades benéficas para a saúde com efeitos cicatrizantes, antiinflamatórios, antiulcerogênicos, anticancerígenos, hipoglicemiante, diuréticos, antigástricos, antiaterosclerose. A mesma pode ser usada na prevenção contra diabetes, hipertrofia prostática, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, desordens alérgicas, fragilidade capilar. Além de melhorar a agregação plaquetária do sistema imune humana, e atuar contra infecções de bactérias, fungos e vírus.

Atualmente, a procura por alimentos nutritivos e orgânicos que possam trazer benefícios à saúde humana e animal está em alta no mercado e no mundo. No entanto, a palma possui grande potencial ainda a ser explorado na região (Alves *et al.*, 2016).

Como reserva forrageira, a palma, tem importância na sustentabilidade da pecuária regional, segmento fortemente atingido pela escassez de alimentos (Farias *et al.*, 2005). Destacando-se como volumoso succulento para os períodos de secas prolongadas, a qual não precisa ser armazenada como silagem ou feno, mantendo sua água e valor nutritivo (Santos *et al.*, 2006).

A palma forrageira também colabora com a conservação e proteção do solo (Hills *et al.*, 2001), devido seu sistema radicular fasciculado, medindo aproximadamente de 4 a 8m de comprimento, com 30 cm de profundidade, evitando perda da camada superficial do solo pelos ventos e/ou pela lixiviação das chuvas intensas (Nefzaoui e Salem, 2001), reduzindo assim os efeitos da desertificação (Scheinvar *et al.*, 2012).

### 1.2.2. *Valor Nutritivo da Palma*

No período seco do ano, a palma forrageira é um complemento alimentar para a dieta dos animais, colaborando com a sustentabilidade da pecuária regional. Por ser um alimento rico em água, nutrientes, com fácil digestibilidade e boa palatabilidade. Fornecida aos animais associada a uma fonte de fibra e proteína no intuito mantê-los bem nutridos durante todo o ano (Melo *et al.*, 2011).

A composição química da palma forrageira pode variar de acordo com a espécie, idade do cladódio, condições edafoclimáticas e adubações. Sendo assim, seus cladódios são constituídos principalmente por mucilagem, mistura de água (85,6 a 95 % na matéria fresca), carboidratos, fibras, minerais, proteínas, lipídeos, além de vitaminas (B<sub>1</sub>; B<sub>2</sub>; B<sub>3</sub>; C e E) e compostos bioativos (carotenoides, ácidos graxos, compostos fenólicos, alcaloides), segundo Batista *et al.*, 2003; Bensadón *et al.*, 2010; Dubeux-Júnior *et al.*, 2010.

Os carboidratos são formados por pectina, polissacarídeos e açúcares redutores. Os principais polissacarídeos presentes nos cladódios são: amido e celulose. E os açúcares são: glicose, frutose, oligossacarídeo e sacarose (Stintzing e Carle, 2005; Ginestra *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2010; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013).

Os minerais presentes são: potássio, cálcio, magnésio, sódio, fósforo, ferro, manganês, zinco, cobre e enxofre (Batista *et al.*, 2003; Stintzing e Carle, 2005; Bensadón *et al.*, 2010; Guevara-Figueroa *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2012; Chahdoura *et al.*, 2015).

As proteínas são compostas pelos aminoácidos alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutâmico, glutamina, cistina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, tirosina, triptofano, valina, prolina, ácido aminobutírico, carnosina, citrulina, ornitina e taurina (Stintzing e Carle, 2005; López-Cervantes *et al.*, 2011; El-Mostafa *et al.*, 2014).

Os lipídeos são compostos pelos ácidos graxos, láurico, mirístico, pentadecanóico, pentadecenóico, palmitoléico, palmítico, margarico, heptadecanóico, linoléico, linolênico, linoelaidico, gadoelico, oléico, cis-octadecenóico, vacênico, esteárico, araquidônico, gondoico e beénico (Abidi *et al.*, 2009; López-Cervantes *et al.*, 2011; Carreira *et al.*, 2014;).

As vitaminas presentes são: ácido ascórbico, tiamina, riboflavina e niacina. As glicoproteínas: ácidos orgânicos (málico, oxálico, cítrico, malônico, tartárico,

succínico, piscídico, 2-E feruloilpiscídico, fórbico, eucomico, n-butileucomato e metileucomato).

Os compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides e taninos), terpenos (carotenoides, esteróis e saponinas). E por fim os compostos nitrogenados não proteicos (alcaloides e poliaminas) (Stintzing e Carle, 2005; Corral-Aguayo *et al.*, 2008; Bensadón *et al.*, 2010; Bari *et al.*, 2012; Ramírez-Moreno *et al.*, 2013; El-Mostafa *et al.*, 2014).

### 1.2.3. *Aspectos gerais da palma*

Os cladódios da palma forrageira exibem forma de raquete ovoide ou alongada (espatulada), podendo atingir 60-70 cm de comprimento e, vários tons de coloração (verde clara, verde escura, verde brilhante (verniz), verde azulada acinzentada e verde com tons de marrom). Após longo tempo os cladódios lignificam, tornando-se caules lenhosos, rachados, de coloração ocre-branca a acinzentada (Sáenz *et al.*, 2006b). Em ambos os lados dos cladódios estão presentes às aréolas (gemas), espaçadas entre si, com número e formato diferentes. Em *Opuntia e Nopalea*, estão distribuídas numa forma helicoidal, e são capazes de originar outros cladódios, flores, raízes, tricomas, gloquídeos e espinhos (folhas modificadas) (Gibson e Nobel 1986).

Os espinhos possui superfície áspera (lignificada), podendo apresentar variações no tamanho e quantidade, de acordo com a espécie. Normalmente, são brancos ou marrons, cada espinho é acompanhado por dois outros pequenos os gloquídeos, que são curtos e multicelulares, decíduos e se separam com facilidade quando são tocados ou voam com o vento (Hills *et al.*, 2001). Isso por que os espinhos são fortemente aderidos à superfície areolar enquanto que os gloquídeos apresentam uma base parenquimática permitindo fácil liberação (Arruda *et al.*, 2010).

As flores são hermafroditas, se desenvolvem normalmente na parte superior dos cladódios. Sua coloração é variável, vermelha, amarela, branca, entre outras cores (Sáenz *et al.*, 2006b). No entanto, palmas do gênero *Opuntia*, suas flores quando fecundadas mudam a cor de amarela para vermelha, como no caso da *Opuntia ficus-indica* Mill. Já as do gênero *Nopalea* suas flores permanecem vermelhas mesmo depois de fecundadas.

O fruto varia na forma e no tamanho (ovoides, redondos, elípticos e oblongos), com as extremidades achatadas, côncavas ou convexas. As cores dos frutos são diversas: vermelha, alaranjada, roxa, amarela e verde, mantendo as mesmas cores na polpa. A epiderme que envolve o fruto é igual a dos cladódios, com inúmeras aréolas, compostas por gloquídeos e espinhos persistentes mesmo após o amadurecimento do fruto. A parte interna do fruto apresenta muitas sementes viáveis e/ou abortadas. (Sáenz *et al.*, 2006b).

#### 1.2.4. *Fisiologia da Palma*

A principal característica fisiológica da palma é o processo fotossintético, o Metabolismo Ácido das Crassuláceas (CAM), onde as plantas abrem seus estômatos a noite para fixação do CO<sub>2</sub> realizada pela enzima PEPC, modificando em fosfoenolpiruvato para formar o oxaloacetato que é armazenando no vacúolo da célula sob a forma do ácido málico (malato), no período diurno a temperatura estimula o transporte do malato para o citosol, onde é reduzido liberando CO<sub>2</sub> que é captado pela enzima rubisco, e no ciclo de Calvin-Benson passa por reações (carboxilação, redução; síntese e regeneração) segundo Hans *et al.*(2008).

Porém a grande vantagem do metabolismo CAM é a menor perda de H<sub>2</sub>O pelos estômatos, uma vez que, são abertos no período noturno onde a temperatura encontra-se amena, pois na mesma cavidade que o CO<sub>2</sub> é absorvido acontece a transpiração da planta (Nobel *et al.*, 2001).

#### 1.2.5. *Propriedades Bioquímicas da Palma*

Na palma ocorre o acúmulo de metabólitos primários e secundários em resposta ao estresse hídrico ou possivelmente a herbivoria. Os metabólitos primários são: os aminoácidos (prolina, triptófano, fenilalanina, histidina), os carboidratos (sacarose, rafinose, frutose, maltose, trealoses, manitol, sorbitol, ribitol, inositol), e o composto de amônio quaternário (glicina betaína), que estão associados ao ajustamento osmótico das células expostas ao déficit hídrico (Bartwal *et al.*, 2013; Ramakrishna e Ravishankar, 2011; Rodziewicz *et al.*, 2014).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grandes grupos quimicamente divergentes: Os compostos fenólicos (fenilpropanóides, flavonóides, isoflavonóides, antocianinas, cumarinas, ligninas, taninos), os compostos nitrogenados não proteicos (alcalóides, glucosinolatos, ácido  $\gamma$ -amino butírico-

GABA), e os terpenos (tocoferol, saponinas, ácido betulínico, carotenóides) que contribuem no crescimento da planta por estarem ligados aos hormônios, na defesa contra a herbivoria, apresentando gosto amargo aos animais superiores e atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos, vírus e protozoários. Logo, colabora também no equilíbrio redox por eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs) (moléculas que prejudicam as células), mantém o turgor, e estabiliza proteínas e membranas celulares de plantas expostas ao déficit hídrico, salinidade e temperaturas elevadas, fatores de estresse a que as plantas das regiões Semiáridas estão sujeitas (Ramakrishna e Ravishankar, 2011; Bartwal *et al.*, 2013; Rodziewicz *et al.*, 2014).

#### 1.2.6. *Particularidades Anatômicas da Palma*

Um dos pioneiros a estudar o meristema apical caulinar, descrevendo sua organização similar á zona apical presente nas angiospermas foi Boke *et al.* (1941), onde, a túnica origina a protoderme, à zona central é responsável pela formação do restante do corpo, a zona periférica forma os primórdios e demais estruturas foliares, feixes corticais, feixes vasculares centrais do estelo, e a zona medular origina a medula e os feixes medulares, mesmo assim, dependendo da espécie não são encontradas todas estas zonas.

As aréolas iniciam a formação dos espinhos em diferentes quantidades a partir do meristema basal. Os espinhos longos e centrais crescem durante mais tempo que os outros, e são grossos porque são produzidos primeiro (Gibson e Nobel, 1986). As aréolas são determinadas quando o meristema areolar se transforma em uma estrutura (espinho, tricomas, flor etc.) encerrando sua atividade. E indeterminadas quando não origina nada (Boke *et al.*, 1955 e 1961).

Os espinhos e os gloquídeos são folhas reduzidas que apresentam epiderme unisseriada com paredes sinuosas ou planas. Seus estômatos podem está localizados acima ou ao mesmo nível das demais células epidérmicas. Na estrutura anatômica interna, no mesofilo, estão presentes muitas células mucilaginosas, drusas e amiloplastos, assim como uma leve vascularização que se conectam com o sistema vascular dos primórdios foliares (Arruda *et al.*, 2010).

Os tricomas são apêndices da epiderme presentes em diversos órgãos das plantas. Podem ser unicelulares ou multicelulares. Em *Opuntia* são encontrados tricomas do tipo não-glandular (Arruda *et al.*, 2010), que atuam na captação de energia luminosa (Fahn *et al.*, 1990), e estão envolvidos na redução da perda de

água, favorecendo um microclima para a abertura dos estômatos (Gibson e Nobel, 1986).

A cera epicuticular é composta por cutina (lipídeos) e carboidratos que cobrem as paredes externas das células epidérmicas como uma película contínua impermeabilizante, reduzindo a perda de água por desidratação (Nultsch *et al.*, 2005). Além disso, reflete parte da radiação solar, reduzindo a temperatura do cladódio e a transpiração. Essa cera é formada no protoplasma da célula epidérmica e depois migra através do plasma para a membrana celular e parede celular (Mauseth *et al.*, 2002). A cutícula é responsável pela cor acinzentada ou azulada de certos caules, comumente observados em vegetação de caatinga (Gibson e Nobel, 1986), assim como, em algumas espécies de palma. Segundo Mauseth *et al.*, (2006) a cera cuticular pode ser lisa ou constituída por partículas de diversos tamanhos e formas, tal como grânulos agregados, flocos ou fios.

A epiderme compõe o sistema de revestimento primário do corpo vegetal, pode apresentar uma (uniseriada) ou várias camadas de células (multiseriada) vacuoladas, com cloroplastos e podendo armazenar várias substâncias. Em secção transversal a epiderme pode ser ondulada ou plana, já em vista frontal as paredes celulares podem ser sinuosas ou retas (Arruda *et al.*, 2011).

A epiderme e a hipoderme colenquimática formam o *skin*, e juntas desempenham a função de flexibilidade e proteção (barreira física) evitando a excessiva incidência de raios solares auxiliadas pela presença de drusas (Gibson e Nobel, 1986). São originadas a partir da protoderme do meristema (Gibson e Horak, 1978; Mauseth *et al.*, 1996, 1999).

Periderme, tecido de revestimento secundário, onde a epiderme é substituída pela periderme, o felogênio se instala a partir de células da epiderme. A atividade do felogênio produz súber/felema (camadas de células suberificadas) para o exterior e feloderme (células com paredes delgadas e acúmulo de compostos fenólicos), essa periderme é uma barreira impermeável que evita a perda de água, protege contra queimadas e a cor da casca ajuda na termo regulação (Arruda *et al.*, 2011).

O complexo estomático é constituído por células-guarda, que delimitam a abertura do ostíolo, comunicando-se com um espaço intercelular localizado logo abaixo da epiderme conhecido como câmara subestomática. As células-guarda tem a função de estabelecer a comunicação do meio interno com a atmosfera, favorecendo trocas gasosas e transpiração (Gibson e Horak, 1978). A organização dessas células

em vista frontal confere diferentes tipos de estômatos, um caráter muito utilizado na taxonomia. Em secção transversal, os estômatos podem estar localizados ao mesmo nível, acima ou abaixo em relação às demais células epidérmicas (Arruda *et al.*, 2011).

O parênquima cortical está dividido em parênquima paliçádico (constituído por camadas de células alongadas sobrepostas, em forma paliçada e muitos cloroplastos no seu interior); e parênquima armazenador ou aquífero, onde estão presentes células, canais e cavidades secretoras de mucilagem (Hills *et al.*, 2001; Scheinvar *et al.*, 2012).

A mucilagem é uma mistura de elementos, rica em polissacarídeos que se ligam as moléculas de H<sub>2</sub>O, armazenando assim grandes quantidades, proporcionando resistência a períodos longos de seca. Em seu conteúdo também pode ser encontrado lipídeos e metabólitos secundários que afeta as relações hídricas e químicas (Gibson e Nobel, 1986; Nobel *et al.*, 1992).

Os lipídeos são originados no retículo endoplasmático liso das células, produzidos como conteúdo estrutural para uso nas atividades metabólicas primárias e secundárias da planta (Gonçalves *et al.*, 2014). Enquanto, que os compostos fenólicos são originados pelo metabólito secundário, acumulados nos vacúolos das células (90% do tamanho da célula), que sevem como: osmorreguladores e sequestradores de radicais livres (íons, osmólitos compatíveis, moléculas antioxidante etc.) de acordo com Nultsch, *et al.*, 2005; Hills *et al.*, 2001; Scheinvar *et al.*, 2012.

Nas células podem-se encontrar cristais de oxalato de cálcio (drusa) e amidos (amiloplastos) acumulados como reserva ou excreção, originados no vacúolo da célula (Nultsch *et al.*, 2005).

O sistema vascular é constituído por pequenos feixes colaterais: floema (primário e secundário) e xilema. O floema é constituído por células do parênquima axial e radial. No floema primário as paredes das células são espessas, lignificadas, septadas e nucleadas (Mauseth *et al.*, 1996). À medida que o floema secundário se cresce, o floema primário colapsa e morre.

O xilema possui traqueídes vasculares com espessamento helicoidal de parede secundária. As traqueídes vasculares possuem amplo espessamento de parede, sendo descritas na literatura como “*wide-band tracheids*” (WBTs), que consistem em uma

célula alongada cujo conteúdo citoplasmático é eliminado na maturidade funcional formando as fibras (Arruda *et al.*, 2005).

#### 1.2.7. *Defesa das plantas aos ataques bióticos*

Os mecanismos de defesa são classificados como químicos e físicos, podendo ter ação direta ou indireta sobre os insetos (Bartwal *et al.*, 2013).

Os mecanismos químicos são os metabólitos secundários (compostos fenólicos, compostos nitrogenados e os terpenos) acumulados, de modo que, quando a planta é atacada libera para matar ou expulsar o herbívoro (Taiz e Zeiger *et al.*, 2013). Normalmente, apresentam gosto amargo aos animais superiores e atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos, vírus e protozoários (Bartwal *et al.*, 2013).

As antocianinas agem como inibidores do crescimento de larvas de alguns insetos (Zuanazzi *et al.*, 2010).

Vários alcalóides são tóxicos aos insetos ou tem função inibitória do forrageio.

A defesa física como: espinhos, gloquídeos, tricomas, cutícula, a espessura da epiderme, deposição de drusas, espessura da hipoderme e a resistência pela lignina presente no sistema vascular são encontradas nas mais diversas plantas, servindo de proteção contra o ataque (Rodziewicz *et al.*, 2014), impedindo que insetos e animais alimentem-se provocando danos ao aparelho bucal (Lucas *et al.*, 2002).

Insetos de hábito herbívoro provocam respostas nos mecanismos de defesa das plantas (Gatehouse *et al.*, 2002). Pois, normalmente eles escolhem a planta pelo seu conteúdo nutricional e áreas mais jovens, menos lignificadas como: folhas e flores (Almeida-Cortez *et al.*, 2005). No entanto, para a planta desenvolver diversos mecanismos de defesa é crucial para seu desenvolvimento (Taiz e Zeiger *et al.*, 2013).

#### 1.2.8. *Dactylopius opuntiae (Cochonilha-do-Carmim) limita a produção de palma no Semiárido Pernambucano*

Para as plantas terrestres, seres vivos fixos, desenvolver mecanismos de defesa é vital, diante das imprevisões ambientais presentes constantemente no seu meio (Nobre *et al.*, 1975). Desta forma, é comum que as plantas desenvolva mecanismo de defesa como: diferenciar os tecidos ou produzir compostos secundários (Rodziewicz *et al.*, 2014). Porém algumas pragas conseguem romper as barreiras.

A *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) no México é usada para a produção do corante carmim, utilizado em grande escala na indústria alimentícia (Cavalcante *et al.*, 2013). No entanto, na região Semiárida do Brasil é considerada uma praga por causar prejuízos econômicos ao devastar os palmais, reserva forrageira dos pecuaristas para o período seco (Lopes *et al.*, 2007).

Este inseto alimenta-se da seiva da palma durante todo o seu ciclo de vida, causando falência nos tecidos (amarelamento) e conseqüentemente a morte da planta. Cabe salientar que, no cladódio alojam-se várias colônias do inseto protegidas por uma cobertura de fios de cera da cor branca, e em cada colônia existe uma população de aproximadamente 300 unidades de inseto (Cavalcante *et al.*, 2001).

A *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) apresenta metamorfose completa (com ovo, larva, pupa e adulto). Do ovo eclode uma pequena larva denominada “ninfá migrante”, medindo cerca de 0,8 mm de comprimento, que se move rapidamente até as bordas da raquete, facilmente disseminada pelo vento. As ninfas se fixam e, após passar por vários estágios, originam fêmeas e machos adultos, capazes de copular e se reproduzir (figura 1a). O macho possui asas e morre logo após a cópula. As fêmeas apresentam forma bem peculiar, onde a extremidade abdominal é arredondada, o corpo pequeno ovalado e avermelhado, intumescido de ácido carmínico. Chegam a medir cerca de 5 mm de comprimento, sua ovipostura é de 400 a 600 ovos, morrendo logo após. Tanto as fêmeas como os machos possuem o tradicional aparelho bucal picador-sugador (Cavalcante *et al.*, 2001).

Atualmente existe uma crescente procura no mercado por variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, cultivadas para alimentação, beneficiando os seres humanos e animais. Concomitantemente, as áreas de cultivos vêm aumentando (MacGregor & Sampedro, 1983), e o combate à *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) muitas vezes é feita manualmente (escovando os cladódios quando se observam os primeiros indivíduos), ou aplicando inseticidas químicos, o que eleva o custo da produção, e o uso contínuo polui o ecossistema agrícola causando danos à saúde de ambos os indivíduos consumidores (animal e humano) pela grande quantidade de resíduos tóxicos (Mendoza *et al.*, 2004).

Desta forma, a melhor alternativa de cultivo para a palma é o plantio de variedades resistentes, pois reduz a população do inseto, não é poluente ao ambiente, e não acarreta danos ao sistema de produção (Lara *et al.*, 1991).

Sendo assim, Vasconcelos *et al.* (2009) selecionaram 20 variedades de palma forrageira pertencentes aos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* para testar a resistência a *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim), a partir da infestação. Os autores concluíram que algumas variedades são resistentes, outras altamente susceptíveis e outras intermediárias. Porém, não se tem o conhecimento de quais características morfo-anatômicas são responsáveis por influenciar na susceptibilidade.

Foi elaborado um artigo científico intitulado: **“Padrão morfo-anatômico de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido pernambucano”** com base nas normas da Revista *Nature plants*.

### 1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIDI, S.; SALEM, H.B.; VASTA, V. *et al.*, 2009. Supplementation with barley or spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) cladodes on digestion, growth and intramuscular fatty acid composition in sheep and goats receiving oaten hay. **Small Ruminant Research**, v.87, n.1, p.9-16.

ALVES, F.A.L.; ANDRADE, A.P.; BRUNO, R.L.A. *et al.*, 2015. Caracterização fitoquímica de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. **XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia**.

ALMEIDA-CORTEZ, J.S., 2005. **Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal**. In: NOGUEIRA, R.J.M.C; ARAUJO, E.L.; WILLADINO, L.G. *et al.*, (Eds.). Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: Imprensa universal, p.389-396.

ANDERSON, E.F.; 2001. The cactus family. **Timber Press**, Portland, Oxford.

ANDRADE, A.P.; SOUZA, E.S.; SILVA, D.S. *et al.*, 2006. Produção animal no bioma caatinga: Paradigmas dos “pulsos-reservas”. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.138-155.

ARRUDA, E.C.P; MELO-DE-PINNA, G.F., 2010. Wide-band tracheids in the photosynthetic and non-photosynthetic stem in species of Cactaceae. **Journal of the Torrey Botanical Society**. v.137, p.16-19.

ARRUDA, E.C.P; MELO-DE-PINNA, G.F.; ALVES, M., 2005. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Revista Brasileira de Botânica**, v.28, p.589-601.

BARBOSA, A.S. *et al.*, 2015. **Ecologia populacional, características anatômicas e perfil metabólico de *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter (Cactaceae)**, Tese de doutorado,

BARI, M.N.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K. *et al.*, 2012. Biological Activities of *Opuntia Monacantha* Cladodes. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v.34, n.4, p.990-995.

BARTHLOTT, W.E HUNT, D.R., 1993. **Cactaceae In: The families and genera of vascular plants**. K. Kubitzki, v. 2 (ed) Springer - Verlag, Berlin, p.161-197.

BARTWAL, A.; MALL, R.; LOHANI, P.; *et al.*,2013. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p.216-232.

BATISTA, A.M.; MUSTAFA, A.F.; MCALLISTER, T. *et al.*, 2003. Effects of variety on chemical composition, *in situ* nutrient disappearance and *in vitro* gas production of spineless cacti. **Journal of the Science of food and Agriculture**, v.83, p.440- 445.

BENSADÓN, S.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; SÁYAGO-AYERDI, S. *et al.*, 2010. By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. **Plant Foods Human Nutrition**, v.65, p.210-216.

BENSADÓN, S.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; SÁYAGO-AYERDI, S. *et al.*, 2010. By- Products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. **Plant Foods Human Nutrition**, v.65, p.210-216.

BOKE, N.H. *et al.*, 1955. Dimorphic areoles of *Epithelantha*. **Amer. J. Bot.** v.42, p. 725-723.

BOKE, N.H., 1961. Areole dimorphism *Coryphanta*. **Amer. J. Bot.** v.48, p.593-603.

BOKE, N., 1941. Zonation in the shoot apices of *Trichocereus spachinus* and *Opuntia cylindrical*. **American Journal of botany**. v.28, p.656-664.

CARREIRA, V.P.; PADRÓ, J.; KOCH, N.M. *et al.*, 2014. Nutritional composition of *Opuntia sulphurea* G. don cladodes. **Haseltonia**, v.19, p.38- 45.

CAVALCANTE, A.; TELES, M.; MACHADO, M. *et al.*, 2013. **Cactos do Semiárido do Brasil: Guia ilustrado**. Instituto Nacional do Semiárido. Campina Grande/ PB. ISBN: 978-85-64265-05-9. p.102.

CAVALCANTE, V.A.L.B.; SENA, R. C.; COUTINHO, J.L.B. *et al.*, 2001. Controle das cochonilhas da palma forrageira. **Boletim IPA Responde**, n.39, p. 1-2.

CHAHDOURA, H.; MORALES, P.; BARREIRA, J.C.M. *et al.*, 2015. Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff and *Opuntia macrorhiza* (Engelm.). **Food Science and Technology**, v.64, n.1, p.446-451.

CORRAL-AGUAYO, R.D.; YAHIA, E.M.; CARRILLO-LOPEZ, A. *et al.*, 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, p.10498-10504.

CUNHA, A.R.B. de. A. 2012. **Práticas alternativas para a convivência com o semiárido**: O beneficiamento da palma. In: Workshop sobre a palma forrageira: usos e perspectivas para o semiárido, 1º Feira de Santana. Anais. Feira de Santana: UEFS, p.19.

DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; ARAÚJO-FILHO, J.T.; SANTOS, M.V.F. dos. *et al.*, 2010. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira – Clone IPA-20. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.1, p.129-135.

DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F. DOS.; CAVALCANTE, M. *et al.*, 2013. Potencial da palma forrageira na América do Sul. **Cactusnet Newsletter**, v.13, ed. esp., p.29-40.

EL-MOSTAFA, K.; EL-KHARRASSI, Y.; BADREDDINE, A. *et al.*, 2014. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. **Molecules**, v.19, n.9, p.14879-14901.

FAHN, A. *et al.*, 1990. Plant anatomy. 4<sup>th</sup> ed. Pergamon Press, **Oxford**. p.253-415.

FARIAS, I.; SANTOS, D.C.; DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B., 2005. **Estabelecimento e manejo da palma forrageira**. In: Menezes, R.S.C.; Simões, D.A.; Sampaio, E.V.S.B. A palma no nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso. Recife: Ed.Universitária da UFRPE, p.105-128.

GATEHOUSE, J.A. 2002. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. **New Phytologist**, London, v.145, n° 2, p.145-169.

GIBSON, A. e NOBEL, P. 1986. The cactus primer. **Havard University Press**, Cambrigde.

GIBSON, A.C. e HORAK, 1978. Woody anatomy of platyopuntias. **Aliso** v.9, p.279-307.

GINESTRA, G.; PARKER, M.; BENNETT, R.N. *et al.* 2009. Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.21, p.10323-10330.

GOMES, J.B. *et al.*, 2011. **Adubação orgânica na produção de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.) no cariri paraibano**. 50 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

GUEDES, C.C. *et al.*, 2002. **Culinária com broto de palma**. João Pessoa: Universitária, p.53.

GUEVARA-FIGUEROA, T.; JIMÉNEZ-ISLAS, H.; REYES-ESCOGIDO, M. *et al.*, 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.525-532.

GURJÃO, F.F.; COSTA, E.R. DA.; GOIS, G.C. 2013. Principais usos tradicionais, atuais e potenciais da palma. In: Ribeiro, W.S.; Silva, F.C. dos. S.; Costa, E.R. da. *et al.*, **A palma e sua importância no nordeste brasileiro**. Brasília: Editora Kiron, cap.3, p.27-43.

HANS L.F.; Stuart C.; THijs L.P., 2001. **Plant Physiological Ecology**. Second Edition.

HILLS, F.S. *et al.*, 2001. Anatomia e morfologia. In: INGLESE, G.B.P.; BARRIOS, E.P. (Eds) **Agroecologia cultivo e usos da palma forrageira**. 1º ed. Paraíba: SEBRAE.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), Site: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geografia/semiarido.shtm?c=4> acesso: dia 08/03/2017 às 17:22h.

LARA, F.M., *et al.*, 1991. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2.ed. São Paulo: Ícone, p.336.

LOPES, E.B. *et al.*, 2007. **Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de Utilização no Semiárido Nordestino**. Federação da Agricultura e Pecuária da Paraíba – FAEPA. 22. João Pessoa/Paraíba - Brasil.

LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, I.; CAMPAS-BAYPOLI, O.N. *et al.*, 2011. Functional properties and proximate composition of cactus pear cladodes flours. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.3, p.654-659.

LUCAS, C-Z.; GUO, C.; WANG, Y-C.; OUYANG, F. *et al.*, 2002. Effect of light irradiation on hairy root growth and artemisinin biosynthesis of *Artemisia annua* L. **Process Biochemistry**, v.38, n.4, p.581-585.

MACGREGOR, R.L.; SAMPEDRO, G. R., 1983. Catálogo de cóccidos mexicanos – I. Família Dactylopiidae (Homoptera: Coccoidea). **Anales del Instituto de Biología**, Ser. Zool. V.54, p. 217-223.

MARTINS, S.C. da. C. *et al.*, 2011. **Avaliação do potencial biológico de *Opuntia ficus-indica* (Figueira da Índia)**. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto.

MAUSETH, J.D. *et al.*, 2006. Structure–function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. **Ann. Bot.** v.98, p.901–925.

MELO, A.A.S. *et al.*, 2011. Palma forrageira na alimentação de vacas em lactação. **II Congresso Brasileiro de Palma**, Garanhuns-PE: UFRPE/UAG.

MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C., 2002. Plant-insect interactions na evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brasilian Journal of plant Physiology**, Rio de Janeiro, v. 14, n 2, p.71-81.

MENDOZA, C.P; RAMÓN, N.H.; CÁZARES, C.L. *et al.*, 2004. Efectividad biológica de productos biodegradables para el control de la cochinilla silvestre *dactylopius opuntiae* (cockerell) (homoptera: dactylopiidae), **Acta Zoológica Mexicana** (n.s.) v.20(3), p.99-106.

NECCHI, R.M.M.; ZANETTI, G.D.; MAKI, T.D.T. *et al.*, 2010. Morphology and Histochemistry of Cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae). **Latin American Journal of Pharmacy** v.29(3), p. 422-7.

NEFZAOU, A.; SALEM, H.B. *et al.*, 2001. *Opuntia* – A strategic fodder and eficiente tool to combat desertification in the Wana region. In: Mondragón-Jacobo, C.; Pérez, González, 40 S. Cactus (*Opuntia* spp.) as forage. 1. ed. Roma/Itália: **Food Agriculture Organization of the United Nations**, cap. 10, p.73-89.

NOBEL, P.S. *et al.*, 2002. **Cacti: biology and uses**. University of Califórnia Press, Berkeley.

NOBEL, P.S. *et al.*, 1983. Spines influences on PAR interception, stem temperature and nocturnal acid accumulation. **American Journal Botany**, v.70, n.8, p.1244-1253.

NOBRE, F. *et al.*, 1975. **Estudo programado de fisiologia vegetal**. Vol. único, p.13-117, São Paulo/SP, Nobel.

NOY-MEIR, I. *et al.*, 1973. Desert ecosystems: environment and producers. **Annual Reviews Ecology and Systematics**, v.4, p. 25-51.

NULTSCH, W. *et al.*, 2005. **Botânica Geral**. Trad. Oliveira, P.L., editora Artmed, v. 10, p. 67 – 108, Porto Alegre.

OLIVEIRA, J. de. *et al.*, 2011. **Avaliação genética de clones de duas espécies de Palma (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm–Dyck) para fins forrageiros**. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 74 f.

PEREIRA, E.F.P.; LOPES, P.S. de. Q., 2011. **Palma – Ouro verde do Semiárido**. 1.ed. João Pessoa: SENAR-PB, 73 p.

RAMÍREZ-MORENO, E.; CÓRDOBA-DÍAZ, D.; SÁNCHEZ-MATA, M. de. C. *et al.*, 2013. Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus indica*). **LWT – Food Science and Technology**, v.51, n.1, p.296-302.

RIBEIRO, E.M. de. O.; SILVA, N.H. da.; LIMA-FILHO, J.L. de. *et al.*, 2010. Study of carbohydrates present in the cladodes of *Opuntia ficus-indica* (fodder palm), according to age and season. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.30, v.4, p.933-939.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K. *et al.*, 2014. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.36, n.1, p.1-19.

SÁENZ, C. *et al.*, 2006b. Características y composición química de los nopales. In: Sáenz, C.; Berger, H.; García, J.C. *et al.*, Utilización agroindustrial del nopal. 1. ed. Roma/Itália: **Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación**, cap. 2, p.7-22.

SÁENZ, C. *et al.*, 2006a. Los Nopales como recursos natural. In: Sáenz, C.; Berger, H.; García, J.C. *et al.*, Utilización agroindustrial del nopal. 1. ed. Roma/Itália: **Organización de Las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación**, cap. 1, p.1-6.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A. *et al.*, 2006. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia e Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: IPA 30, 48p.

SANTOS, M.V.F.; LIRA, M.A.; DUBEUX JUNIOR, J.C.B. *et al.*, 2010. Palma Forrageira. In: Fonseca, D. M. e Martuscello, J. A. (Ed) **Plantas forrageiras**. Viçosa, MG: Ed. UFV, p.459-493.

SCHEINVAR, L. *et al.*, 2012. **Usos e importância das Cactáceas**. In: Workshop sobre a palma forrageira: usos e perspectivas para o semiárido, 1., Feira de Santana, Anais. Feira de Santana: UEFS, 2012. p.151-198.

SHEDBALKAR, U.U.; ADKI, V.S.; JADHAV, J.P. *et al.*, 2010. *Opuntia* and other cacti: applications and biotechnological insights. **Tropical Plant Biology**, v.3, n.3, p.136-150.

SILVA, J.A. da.; BONOMO, P.; DONATO, S.L.R.; *et al.*, 2012. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações química. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, suplemento, p.866-875.

SILVA, M.G.S.; DUBEUX JR, J.C.B.; SANTOS, M.V.F. *et al.*, 2008. Anatomy of diferente forage cacti with contrasting insect resistance. **Journal of Arid Environments** v.74 / 2010, p. 718-722.

SILVA, N.G.; LIRE, M.A.; SANTOS, M.V.F. *et al.*, 2010. Relações entre características morfológicas e produtivas de clones de palma forrageira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v 39, n° 11, p.2389-2397, ISSN: 18069290.

SILVA, T.G.F; PRIMO, J.T.A.; MORAIS, J.E.F.; *et al.*, 2015. Crescimento e produtividade de clones de palma forrageira no semiárido e relações com variáveis meteorológicas. Universidade Federal Rural do Semiárido Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. ISSN 0100-316X. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.28, n. 2, p.10.

SIMÕES, D.A.; SANTOS, D.C.; DIAS, F.M., 2005. Introdução da palma forrageira no Brasil. In: MENEZES, R.S.C.; SIMÕES, D.A.; SAMPAIO, E.V.S.B. **A palma no Nordeste do Brasil: conhecimento atual e novas perspectivas de uso**. Recife: Ed. Universitária da UFPE, p.13-26.

STINTZING, F.C.; CARLE, R., 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.49, n.2, p.175-194.

TAIZ, L.; ZEIGER, E., 2013. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 918.

VASCONCELOS, A.G.V. de.; LIRA, M. de A.; CAVALCANTE, V.L.B. *et al.*, 2009. Seleção de clones de palma forrageiras resistentes à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius* sp.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.827.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A., 2010. Flavonoides. *In*: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de. *et al.*, **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. v.6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editoras da UFRGS/UFSC, cap. 23, p.577-614.

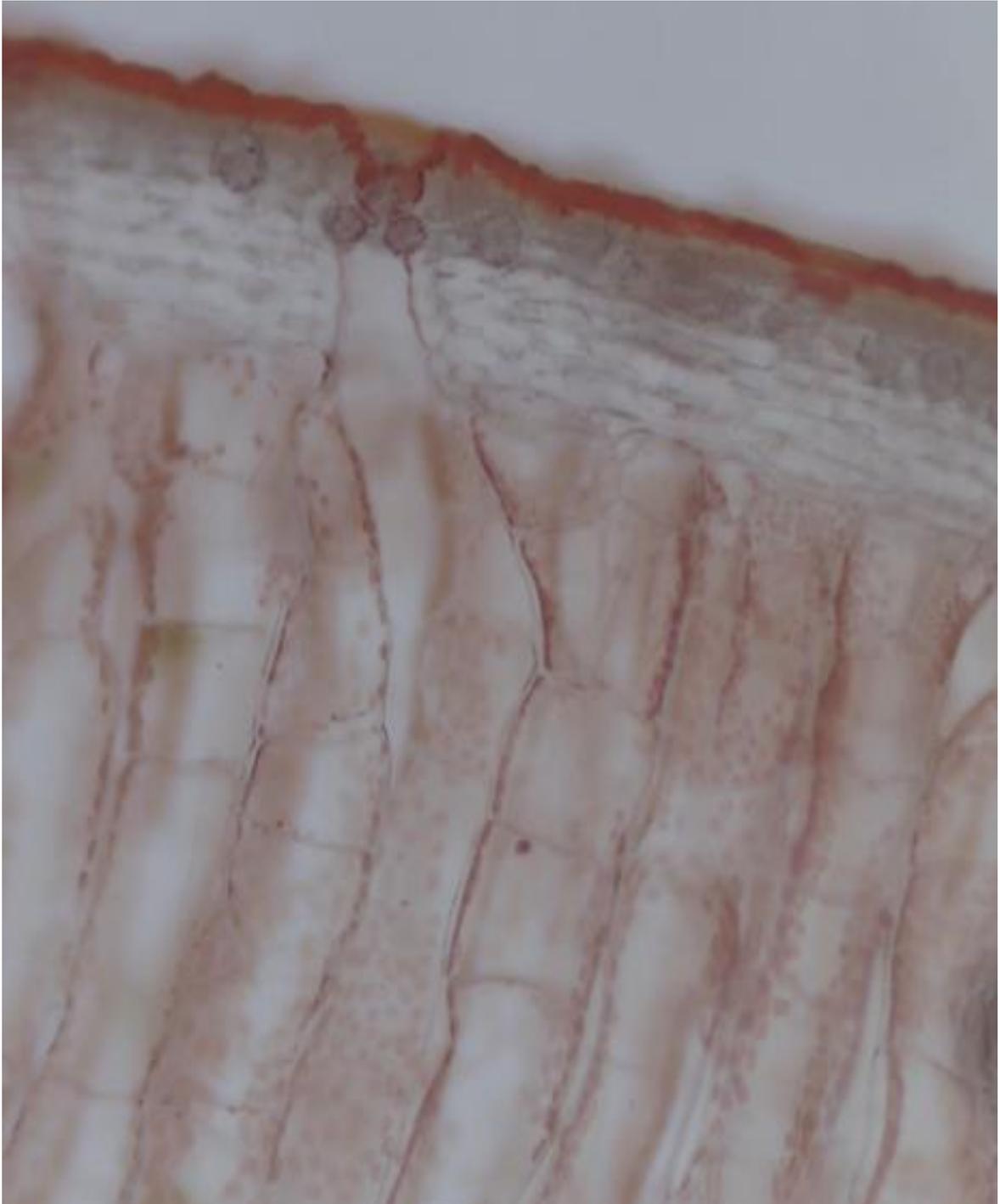
## OBJETIVOS

### Geral

Caracterizar os padrões morfo-anatômicos nos tecidos caulinar das variedades de palma forrageira pertencentes aos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido Pernambucano.

### Específicos

- Determinar os padrões anatômicos nos tecidos da palma forrageira nas variedades dos gêneros *Opuntia* (IPA-100003; IPA-200008; IPA-200016 e IPA-200149), e *Nopalea* (IPA-100004; IPA-200021 e IPA-200205).
- Avaliar as estruturas anatômicas que podem está associada à susceptibilidade ou resistência a *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim).



## CAPÍTULO II

---

**PADRÃO MORFO-ANATÔMICO DE VARIEDADES DE PALMA  
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA*  
CULTIVADAS NO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO**

**Padrão morfo-anatômico de variedades de palma forrageira dos gêneros  
*Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido Pernambucano**

**RESUMO**

As variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, são bem adaptadas às condições ambientais do Semiárido brasileiro e existe crescente procura no mercado devido benefícios na alimentação e saúde a ambos os seres humanos e animais. No entanto, a praga cochonilha-do-carmim limita sua produção. E a melhor forma de combater o inseto sem causar ônus ao ambiente é a produção de variedades resistentes. Objetivou-se com esse estudo detectar diferenças morfo-anatômicas que possam influenciar na susceptibilidade ou resistência a cochonilha-do carmim, e a padronizar variedades de palma forrageira cultivadas no Semiárido pernambucano. Foram analisados seguimentos caulinares de sete variedades (IPA-100003; IPA-100004; IPA-200008; IPA-200016; IPA-200021; IPA-200149 e IPA-200205), através da produção de lâminas histológicas permanentes e semipermanentes, observadas em microscopia eletrônica de varredura e microscópio óptico e também realizados testes histoquímicos. Todas as variedades estudadas apresentaram peculiaridades morfo-anatômicas, a IPA-200003 tem epiderme plana com estômatos localizados acima do nível das demais células. A IPA-200008 possui estômatos abaixo do nível das demais células. Porém, ambas apresentam tricomas não glandulares na epiderme, em detrimento das demais. A IPA-200021 apresenta dois tipos de estômatos (tetracítico e hexacítico), característica importante para o programa de melhoramento genético realizado pelo IPA. Outras características também foram registradas como: tamanho e formato das células do parênquima paliçádico e armazenador; das drusas na hipoderme e no colênquima; n° de amido; presença de células, cavidades e canais secretores de mucilagem; presença de compostos fenólicos e lipídeos. A resistência de algumas variedades de palma forrageira à *Dactylopius opuntiae* (cochonilha do carmim) podem estar associada à presença de compostos fenólicos produzidos e armazenados nos diferentes tecidos.

**Palavras chaves:** água armazenada, anatomia vegetal, cactos, cochonilha-do-carmim, grãos de amido, semiárido

**Morpho-anatomical pattern of forage cactus pear varieties of the genres  
*Opuntia* and *Nopalea* grown in the Pernambucano Semi-arid**

**ABSTRACT**

The cactus pear varieties of the genera *Opuntia* and *Nopalea* are well adapted to the environmental conditions of the Brazilian semi-arid region and there is a growing demand in the market due to the benefit in food and health for both humans and animals. However, the carmine cochineal pest limits its production. And the best way to combat the insect without causing environmental burdens is the production of resistant varieties. The objective of this study was to detect morpho-anatomical differences that could influence the susceptibility or resistance to carmine cochineal, and to standardize cactus pear varieties cultivated in the semi-arid region of Pernambuco. Were analyzed cladodes of seven varieties (IPA-100003, IPA-200008, IPA-200016, IPA-200021, IPA-200149 and IPA-200205) were analyzed through the production of permanent and semi-permanent histological slides, observed under microscopy Scanning electron microscopy and optical microscope and also performed histochemical tests. All the studied varieties presented morpho-anatomical peculiarities, the IPA-200003 has flat epidermis with stomata located above the level of the other cells. The IPA-200008 has stomata below the level of the remaining cells. However, both presented non-glandular trichomes in the epidermis, while the others did not. The IPA-200021 is unpublished in the literature because it presents two types of stomata (tetracytic and hexacytic), this characteristic is due to the genetic improvement program carried out by IPA geneticists. Other characteristics were also recorded as: palisade parenchyma cell format and storage; Size and shape of drusen in hypodermis and colenchyma; Starch number; Presence of mucilage secreting cells, cavities and secretory channels; Presence of phenolic compounds and lipids. The resistance of some varieties of forage cactus pear to *Dactylopius opuntiae* (carmine cochineal) may be associated with the presence of phenolic compounds produced and stored in different tissues.

**Key words:** Stored water, plants anatomy, cactus, *Dactylopius opuntiae*, starch grains, Semi-arid Brazil.

## 2.1. INTRODUÇÃO

A palma forrageira tem atraído atenção dos pecuaristas de regiões Áridas e Semiáridas como alimento volumoso fresco por armazenar alta quantidade de água e manter o valor nutritivo nos períodos secos (López-García *et al.*, 2001).

No México, palma do gênero *Opuntia* e *Nopalea* é utilizada desde o período pré-hispânico, sendo um dos maiores centros de diversidade genética, com áreas cultivadas de aproximadamente 28,3 milhões de hectares (Barrios & Muñoz-Urías, 2001; López-García *et al.*, 2001). No Nordeste brasileiro, a palma é uma reserva forrageira, significativa na sustentabilidade da pecuária regional, segmento fortemente atingido pela escassez de alimentos devido à ocorrência de secas prolongadas (Lima *et al.*, 2009).

Atualmente no mercado a procura por alimentos nutritivos, que possam trazer benefícios à saúde humana e animal está em evidência. E os cladódios da palma possuem propriedades benéficas à saúde, pois têm sido comprovados os seus efeitos cicatrizantes, antiinflamatórios, anticancerígeno, hipoglicemiante, diuréticos, antigástricos, prevenção contra diabetes, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, desordens alérgicas, fragilidade capilar, melhora a agregação plaquetária humana, atua contra infecções de bactérias, fungos e vírus, entre outros benefícios (Shedbalkar *et al.*, 2010; Martins *et al.*, 2011; El- Mostafa *et al.*, 2014).

O cultivo da palma forrageira apresenta alguns inconvenientes, em especial a dificuldade de combater o inseto *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) que limita o plantio. Sendo a melhor cultivar variedades resistentes.

Nesse caso, o conhecimento morfo-anatômico da palma forrageira é importante para o entendimento dos mecanismos que auxiliam na sua sobrevivência (Nobel *et al.*, 2002), pois, o sistema de revestimento é fundamental do segmento caulinar auxilia na defesa da planta. A espessura da cutícula, o aspecto da epiderme juntamente com as várias camadas de células hipodérmicas, são responsáveis pela proteção do parênquima (Gibson e Nobel, 1986; Darling *et al.*, 1989; Arruda *et al.*, 2014). Já os compostos secundários repelem predadores (Bari *et al.*, 2012). E os tipos de cristais (drusas), a posição dos estômatos e o formato das células epidérmicas são importantes para descrição taxonômica em Cactos (Loza-Cornejo e Terrazas, 2003).

Diante disso, o estudo morfo-anatômico surge como alternativa para identificar diferenças nos tecidos vegetais que possa contribuir na resistência a *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) e auxiliar na tomada de decisão em programas de melhoramento genético das variedades.

Todavia, para as variedades melhoradas geneticamente e adaptadas ao ambiente brasileiro existe a necessidade de caracterizar, a fim de obter informações bioativas, nutricionais e anatômicas para registro. Nesse contexto, objetivou-se com esse estudo caracterizar o padrão morfo-anatômico dos tecidos caulinar de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no Semiárido Pernambucano.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Caracterização da área de estudo

A coleta foi realizada na Estação Experimental pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA (figura 4 do apêndice II), localizada no município de Arcoverde-PE (8°25'S; 37°05' W), altitude 680,70 m, temperatura média anual  $22,90 \pm 1,68$  °C, Umidade Relativa do ar média anual  $69,60 \pm 5,30\%$ , velocidade do vento (média anual  $3,92 \pm 0,48$  m s<sup>-1</sup>), evaporação acumulada (média 1700,40 mm), precipitação acumulada média anual de 798,1 mm, microrregião do sertão do Moxotó (INMET, 2015).

### 2.2.2. Coleta do material vegetal

Os materiais utilizados estão listados na tabela 1 relacionados ao nível de vulnerabilidade ao ataque da *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim) segundo informado por Santos (comunicação pessoal)<sup>1</sup>. Foi coletado o terceiro cladódio das variedades (figura 4B e 5 do apêndice II), dos quais, foram retiradas amostras com 1 cm de largura, das regiões apical, medial e basal .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições.

**Tabela 1** – Variedades de palma forrageira, avaliadas e caracterizadas quanto ao ataque da *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim), no estado de Pernambuco-Brasil

Espécie	Variedade	Nome vulgar	Susceptibilidade
<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill	IPA-100003	IPA-20	Susceptível
<i>Opuntia atropes</i> Rose	IPA-200008	F-08	Baixa resistência
<i>Opuntia strica</i> Haw	IPA-200016	Orelha de Elefante Mexicana	Alta resistência
<i>Opuntia larreri</i>	IPA-200149	Palma Azul	Alta resistência
<i>Nopalea cochenillifera</i> Salm-Dyck	IPA-100004	Miúda	Alta resistência
<i>Nopalea cochenillifera</i> Salm-Dyck	IPA-200021	F-21	Baixa resistência
<i>Nopalea cochenillifera</i> Salm-Dyck	IPA-200205	IPA-Sertânia	Alta resistência

**Fonte:** Adaptado de Moura (2012).

<sup>1</sup> Santos, D.C. Mestre em melhoramento genético vegetal e pesquisador do IPA, Arcoverde –PE.

### **2.2.3. Fixação e preservação do material vegetal**

As amostras foram colocadas em potes plásticos com capacidade para 300 ml, imersas em solução de fixação FAA50 (formaldeído, ácido acético, etanol 50%) de acordo com Kraus e Arduin (1997). Em seguida, foram transportadas para a Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Departamento de Botânica, e no Laboratório de Anatomia Vegetal, foram armazenadas em álcool 70%, para preservação do material vegetal, dando seguimento as posteriores análises.

### **2.2.4. Confeção das lâminas permanentes - Análises geral dos tecidos**

Das amostras conservadas em álcool 70%, foram cometidos cortes em formato de cubos a mão livre com o auxílio de lâminas de aço, com aproximadamente 1 mm, essas amostras obtidas foram devidamente identificadas e desidratadas em série etanol-butanólica 50; 70; 85; 95 e 100%; (para evitar o choque direto e perdas das estruturas do material vegetal). Em butanol puro as amostras permaneceram em *overnight* sobre estufa com temperatura de  $\pm 56-60^{\circ}\text{C}$  segundo Johansen *et al.* (1940), para evitar a cristalização do butanol que tem a função de facilitar a infiltração da parafina nas estruturas do material vegetal.

#### **2.2.4.1. Infiltração e inclusão da parafina em série butanol**

A inclusão da parafina nas amostras foi realizada através de processo de trocas, onde a cada 5ml de butanol retirado era adicionado 5ml de parafina pura (Johansen, 1940; Berlyn & Miksche, 1976), nas seguintes etapas:

- a) 3:1: Butanol puro/parafina por 3 horas
- b) 1:1: Butanol puro/parafina por 3 horas
- c) 1:3: Butanol puro/parafina por 3 horas
- d) Parafina pura: por 4 horas (2x).

#### **2.2.4.2. Emblocamento em parafina para cortes em micrótomo**

Nesta etapa, foi necessário utilizar cubos plásticos para a inserção das amostras na parafina posicionando o plano de corte desejado (transversal/longitudinal) com auxílio de estiletas/seringas e pinças; em seguida, os cubos foram armazenados na geladeira para a polimerização (endurecimento) das amostras, por 12 horas. Posteriormente o bloco de parafina foi retirado do cubo e lapidado com auxílio de lâmina de aço e aquecidos em chapa a  $375^{\circ}\text{C}$ , aderidos em cassetes telados com

aproximadamente 3,5 mm de comprimento por 2,5 cm de largura, utilizados como suporte, para então ser seccionado em micrótomo rotativo, o qual facilita e mantém uma padronização na espessura dos cortes (12µm).

#### **2.2.4.3. Retirada da parafina e montagem das lâminas permanentes**

Os cortes obtidos através do micrótomo rotativo foram fixados nas lâminas histológicas (26 x 76 mm) com uso da solução Bissing (1974). Após secas foram mergulhadas em etanol absoluto e mantidas em banho-maria por 40 minutos para desparafinar, logo após, as lâminas passaram por series de etanol (50; 60; 70; 80; 90 e 100%) no sentido decrescente e coradas com azul de astra 1% e safranina 1% (Kraus *et al.* 1998), montando-se, em seguida, as 630 lâminas permanentes com Entellan® e bálsamo do Canadá (Purvis *et al.* 1964).

As lâminas permanentes foram fotomicrografadas em microscópio de fluorescência LED Zeiss Axio Scope A.1 e analisadas.

#### **2.2.5. Dissociação - Análise epidérmica vista frontal**

Para dissociação da epiderme, foram realizados cortes a mão livre com auxílio de lâmina de aço em todas as variedades de palma forrageira. As amostras obtidas foram imersas no hipoclorito de sódio 50%, passando por período de descanso de aproximadamente 72 horas para facilitar a dissociação da epiderme e eliminação do conteúdo celular. Em seguida, foram lavadas com água destilada até perder totalmente o cheiro do hipoclorito, logo após foi realizada a coloração em safranina (Johansen, 1940), e posteriormente a montagem das 252 lâminas histológicas semipermanentes com glicerina a 50%, foram observadas no microscópio de luz Leica DM 500, as secções foram fotomicrografadas, posteriormente realizada contagem dos estômatos na área com auxílio do programa Image J.

#### **2.2.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Parte das amostras fixadas foram desidratadas em série etanólica (10-100%) e submetidas ao ponto crítico com gás carbônico (SCD 050, Balzers). As amostras foram montadas nos suportes metálicos (*stubs*) após o ponto crítico, para então serem metalizadas com ouro (Silveira, 1989). As análises foram feitas em Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss Sigma VP.

### 2.2.7. Testes Histoquímicos

Nas amostras foram realizados cortes a mão livre com auxílio de lâminas de aço. As porções obtidas foram devidamente identificadas e mergulhadas em reagentes temporários descritos na tabela 2. Para identificar a presença de lipídeos, amidos e compostos fenólicos.

**Tabela 2.** Reagentes utilizados para os testes histoquímicos e as respectivas classes de substâncias identificadas.

CLASSES DE SUBSTÂNCIAS		REAGENTE/REFERÊNCIA
<b>Lipídios</b>	Totais (cutina, suberina, etc.)	Sudam III (Sass, 1951)
<b>Carboidrato</b>	Amido	Lugol (Jensen, 1962)
<b>Compostos</b>	Totais (taninos, flavonóides, etc.)	Cloreto férrico 10% (Johansen, 1940)
<b>Fenólicos</b>	Lignina	Floroglucinol acidificado (Johansen, 1940)

**Fonte:** Adaptado do Manual básico de métodos vegetais.

Em seguida, as lâminas histológicas foram confeccionadas e analisadas no microscópio de luz modelo Leica DM 500, onde as secções obtidas foram fotomicrografadas e avaliadas.

### 2.2.8. Análise Biométrica

Com auxílio do programa Image J foram retiradas medidas em  $\mu\text{m}$  das seguintes variáveis: espessura de cutícula; espessura da epiderme; espessura de hipoderme; espessura da célula da hipoderme; diâmetro da drusa da hipoderme; diâmetro da drusa do córtex; diâmetro da célula do parênquima paliçádico; diâmetro da célula do parênquima armazenador; área do córtex; número de estômatos; número de amido nas células do sistema vascular; diâmetro do amido nas células do sistema vascular e diâmetro do amido nas células da medula.

### 2.2.9. Análise estatística

Os dados obtidos da análise biométrica das diferentes estruturas foram submetidos à análise de variância pelo procedimento PROC MIXED e as médias foram comparadas pelo teste Tukey à  $P < 0,05$  de significância por meio do programa Statistical Analysis System (SAS®).

### 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise geral dos tecidos no segmento caulinar, em vista frontal, todas as variedades apresentaram a superfície da epiderme revestida por cutícula (cera epicuticular) que reduz a transpiração, reflete parte da radiação solar (Ayala-Cordero *et al.*, 2006) e evita a penetração de microrganismos nos tecidos (Nefzaoui e Ben Salem, 2002). Quando observada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a camada da cera epicuticular aparece como placas translúcidas que diferem ligeiramente em morfologia e espessura, cobrindo as células epidérmicas e os estômatos. Deste modo, as variedades IPA-100003 (*Opuntia ficus-indica* Mill); IPA-200008 (*Opuntia atropes* Rose) e IPA-100004 (*Nopalea cochenillifera*) apresentaram cera epicuticular composta por placas rachadas (figura 1), corroborando com os resultados encontrados por Ben Salem *et al.* (2013), quando analisaram a micromorfologia de cladódios de *Opuntia ficus-indica* Mill.

Em contraste, a variedade IPA-200205 (*Nopalea cochenillifera*) exibiu cutícula flocada com grânulos agregados (figura 1), comumente encontrados em plantas xerófitas (Mauseth *et al.*, 1984a). Apenas a variedade IPA-200149 (*Opuntia larreri*) mostrou uma cera diferenciada, com estrias e sem definição, parece que o depósito ceroso é tão abundante que dificilmente consegue distinguir o contorno das células. O contrário pode ser observado nas variedades IPA-200021 e IPA-200016 (*Nopalea cochenillifera*), onde a cera parece ser tão delgada, que de fato, os contornos das células são claramente definidos (figura 1).

Análise biométrica para espessura de cutícula em todas as variedades estudadas mostrou que a IPA-100003 (*Opuntia ficus-indica*) possui a cutícula mais espessa ( $P < 0,05$ ) que as demais variedades, medindo na região apical 15,15 $\mu$ m; na região medial 13,38  $\mu$ m e na região basal 17,38  $\mu$ m (tabela 3; figura 7 do apêndice II). Essa espécie produz uma abundante camada de cera epicuticular em seus cladódios, isso provavelmente está relacionado com a redução no número de espinhos, considerando que o depósito de cera e os espinhos estão estreitamente relacionados com as restrições ambientais e defesa da planta (Ben Salem *et al.*, 2013). Certamente, há alguma correlação para as *Opuntias*, pois das quatro variedades estudadas a IPA-200016 (*Opuntia strica* Haw) possui maior número de espinhos e gloquídeos, curiosamente, sua cutícula é delgada medindo aproximadamente 2,24  $\mu$ m na região

apical; 4,43  $\mu\text{m}$  na região medial e 2,26  $\mu\text{m}$  na região basal. Enquanto, que as outras *Opuntia* IPA-100003; IPA-200008 e IPA-200149 destacaram-se com cutícula espessa e de média espessura, no entanto, possuem poucos espinhos (Nascimento-Júnior *et al.*, 2015).

No caso das *Nopalea* IPA-100004; IPA-200021 e IPA-200205, isso provavelmente não procede, porque visualmente elas não apresentam espinhos (Nascimento-Júnior *et al.*, 2015). Particularidade adquirida pelo fato dessas variedades serem resultados de seleção do programa de melhoramento genético realizado pelos melhoristas do IPA (Silva *et al.*, 2010). A espessura da cutícula é delgada para todas as regiões estudadas, uma vez que não apresenta diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) (tabela 3). Essa característica menos plástica pode ser um traço adaptativo do gênero *Nopalea* e que deve ser considerada em estudos de taxonomia.

A cutícula é responsável pelo brilho e cor acinzentada ou azulada de certos caules (Gibson e Nobel *et al.*, 1986), essa característica foi fortemente observada em duas variedades de *Opuntia*. Onde, a IPA-200008 exibe uma coloração verde com brilho tão intenso que dá impressão de um verniz. Enquanto que, a IPA-200149 apresenta coloração verde azulado opaco, e ao deslizar o dedo essa camada cerosa sai. Ambas, particularidades ocorrem por que na composição da cutícula existiu concentração de cutina, com composição predominante de lipídeos, que são responsáveis também por torná-las impermeabilizante (Nultsch *et al.*, 2005). Onde, a complexidade da nanoestrutura da cera aumenta significativamente à medida que os cladódios desenvolvem e amadureceram (Rykaczewski *et al.*, 2016).

Durante a análise da epiderme foi observado que as variedades IPA-100003; IPA-100004; IPA-200008 e IPA-200021 apresentaram aspecto levemente ondulado, com paredes sinuosas em vista frontal, provavelmente porque às células que a compõem possuem formato ovalado. Ao contrario das variedades IPA-200016; IPA-200149 e IPA-200205, que possuem epiderme com aspecto plano e paredes retas, devido suas células terem formato retangular e estarem bem agrupadas, aparentemente com pequenos espaços intracelular (figura 6 do apêndice II; tabela 8 do apêndice I). Cabe salientar que tais variedades possuem resistência à ao ataque do inseto *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim). Esse aspecto da epiderme parece ter alguma relação na aderência de insetos herbívoros, considerando que

paredes planas, com rajadas de ventos e/ou escoamento da água nos cladódios são obstáculos para esses organismos manterem-se fixo (Coley *et al.*, 1996).

A peça bucal dos sugadores de floema é especializada para perfurar e penetrar no tecido vegetal com a finalidade de sucção (Turner, *et al.*, 1995), e o espessamento da epiderme pode conferir dureza à estrutura (Lazzari *et al.*, 2009). Diante disso, a análise biométrica, indicou diferenças na espessura da epiderme entre as variedades (figura 11 do apêndice II), a variedade IPA-200149 exibiu uma área epidérmica espessa, superior às demais variedades ( $P < 0,05$ ), com médias de 28,40  $\mu\text{m}$  24,78  $\mu\text{m}$  e 21,77  $\mu\text{m}$  nas regiões apical, medial e basal respectivamente. Isso só comprova que o estilo epidérmico é variável (Arruda *et al.*, 2010), e realmente confere proteção, pois trata-se de uma variedade resistente a *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim).

De acordo com o levantamento realizado, todas as variedades possuem a epiderme constituída por uma única camada de células, sendo classificada como epiderme unisseriada, diferenciando-se apenas em espessura (figuras 2 C). Porém, vale salientar, que em algumas localidades da epiderme das variedades IPA-200004; IPA-200016 e IPA-200149 apresentaram indícios de formação da periderme (tecido secundário) já na região apical, originando o felogênio e feloderme a partir das divisões celulares da epiderme (figura 6 B-C do apêndice II). Esse crescimento secundário precoce provavelmente está relacionado à defesa física da planta contra os estresses bióticos como o ataque da *Dactylopius opuntiae* (cochonilha-do-carmim), salientando que essas variedades são consideradas resistentes, e segundo Helbsing *et al.*(2000) a superfície externa é a principal defesa dos vegetais.

Logo, as variedades IPA-100003; IPA-100008; IPA-100021 e IPA-100205 só apresentam início na formação da periderme a partir da região medial. Concomitantemente, na região basal de todas as variedades, a periderme já se encontra completamente formada com o súber (figura 6 C-D do apêndice II). Embora, o súber evite a perda da água da planta, sua coloração pode refletir a radiação solar e proporcionar um microambiente, onde características como umidade, pH, e presença de compostos secundários determinará quais organismos podem colonizar (Polesi *et al.*, 2011), como por exemplo: á cochonilha-do-carmim, joaninha etc.

**Tabela 3.** Análise biométrica do sistema de revestimento e fundamental e no seguimento caulinar em *Opuntia* e *Nopalea*

ESPECIES	REGIÃO	AM	ASV	AD	AC	CPAr	CPP	DH	ECH	EC	EP	EH
<i>Opuntia</i>												
IPA-100003	Apical	217,40aA	127,67aDC	2309,56aA	3218,46bBA	10511,00aA	7147,94aA	1733,50bA	7,17bB	15,15abA	23,08baB	93,07aB
	Medial	94,27bBAC	160,42aB	2312,05aA	2801,21bCB	11356,00aA	12512,00aA	1260,15bB	8,18abBA	13,38bA	24,55aA	89,02aAB
	Basal	113,87bB	121,11aBC	3627,08aB	4761,79aA	13490,00aC	7617,46aB	3448,53aA	8,38aA	17,38aA	20,04bBA	98,98aA
IPA-200008	Apical	77,52aD	245,86aAB	3033,27bA	2861,95bBC	11960,00bA	6671,29aA	678,97aB	5,83aBC	6,82aB	16,47aC	61,67bC
	Medial	54,35aC	147,67bBC	3722,31bA	3965,44aA	13941,00bA	7360,20aA	573,13aC	6,08aC	5,33bD	4,16bD	85,27aB
	Basal	48,53aC	127,26bBAC	9710,63aA	3863,67aBC	53765,00aB	9516,84aB	517,07aC	6,97aB	1,36bC	6,22cE	60,22bB
IPA-200016	Apical	100,77aDC	241,88aAB	3400,90aA	2955,60bBC	10972,00aA	8870,16aA	721,23aB	9,25aA	2,24aC	14,93aC	69,92bBC
	Medial	116,05aAB	170,84bB	4648,98aA	2954,07bBC	1794200aA	9227,37aA	703,33aCB	6,83bBC	4,43aC	17,84aB	85,43bB
	Basal	47,99bC	127,88bBAC	4421,88aB	4038,87aABC	10734,00aC	7703,68a	709,79aCB	8,36aA	2,26aC	5,38bD	104,56aA
IPA-200149	Apical	78,35aD	95,56aD	5341,79aA	3732,72bA	11677,00aA	10817aA	723,64aB	8,90aA	8,32abB	28,40aA	145,97aA
	Medial	87,14aB	85,28aC	4772,57aA	3180,06bB	10167,00aA	13242aA	744,70aBC	8,88aA	9,73aB	24,78abA	116,88bA
	Basal	99,56aBC	97,67aC	3191,15aB	4508,04aAB	14266,00aC	10485aB	481,76aC	8,18aA	6,59bB	21,77bA	113,79bA
<i>Nopalea</i>												
IPA-100004	Apical	145,83aBC	288,40aA	2867,03aA	2634,01bBCD	12504,00bA	5156,91bA	2307,29aA	4,59aCD	2,71aC	16,42bC	41,70aC
	Medial	100,61bBAC	304,65aA	2783,99aA	3623,73aCB	11129,00bA	7494,98bA	2229,84aA	4,39aDE	3,29aDC	24,32aA	52,69aC
	Basal	138,66bBA	133,20aABC	2392,79aB	2650,06bC	86498,00aA	42555aA	1320,01bB	5,17aCB	1,36aC	15,93bB	51,68aB
IPA-200021	Apical	89,64aD	231,39bBA	1393,11aA	2034,86bD	11875,00aA	8176,19aA	443,86aB	4,42aCD	3,04aC	12,27bC	42,64aC
	Medial	52,8aC	289,58aA	2672,65aA	2445,60bC	12257,00aA	8561,88aA	533,18aC	5,58aDC	4,13aC	18,46aB	41,40aC
	Basal	50,19aC	172,26cBA	2117,25aB	4425,86aAB	10725,00aC	5346,82aB	358,96aC	4,55aCB	3,87aC	11,07bC	38,77aB
IPA-200205	Apical	171,82aAB	193,39aBC	4048,72aA	2394,52aCD	24740,00aA	6939,56aA	581,28aB	3,69aD	2,90aC	16,75aC	42,50aC
	Medial	143,89aA	339,79aA	3502,39aA	2846,78aBC	8606,28aA	6177,93aA	634,49aBC	3,88aE	1,36aDC	12,08bC	34,91aC
	Basal	176,75aA	195,67aA	2678,82aB	2552,25aD	9355,75aC	12156aB	695,09aBC	4,45aC	3,18aC	17,05aAB	53,48aB
<b>Erro padrão da média</b>	17,74	24,74	1489,94	246,88	7938,02	3625,70	239,23	0,51	1,12	1,61	9,96	
<b>Coefficiente Variação</b>	1,3528	0,7629	0,0281	0,0308	0,0056	0,0099	0,0982	25,4483	36,4853	6,0138	1,5972	

<sup>1</sup> :  $\mu\text{m}$ ; **AM**: amido medula; **ASV**: amido sistema vascular; **AD**: área drusa córtex; **AC**: área córtex; **CPAr**: área da célula parênquima armazenador; **CPP**: área da célula do parênquima paliádico; **DH**: drusa hipoderme; **ECH**: espessura célula hipoderme; **EC**: espessura cutícula; **EP**: espessura epiderme; **EH**: espessura hipoderme. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (região) e maiúscula (variedades por região) na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As investigações na micromorfologia da superfície das variedades mostraram diferenças na densidade e tipos de estômatos. A variedade IPA-100003 que exibe seus estômatos situados abaixo do nível das demais células epidérmicas em todas as regiões analisadas (apical, medial e basal) (figura 6 E-F do apêndice II; tabela 8 do apêndice I). Certamente é uma estratégia adaptativa para minimizar a perda de água por evaporação (Fahn e Cutler, 1992). Por outro lado, as espécies IPA-200008 e IPA-200149, possuem estômatos estabelecidos levemente acima do nível das células epidérmicas, promovendo maior exposição e comunicação com a atmosfera, favorecendo rápidas trocas gasosas (Gibson e Nobel, 1986). Embora, as células-guardas seguem um padrão diário de abertura e fechamento dos estômatos, abrindo o maior número de estômatos a partir das 21h chegando ao pico às 3h da manhã, mantendo fechados a partir das 7 h da manhã do dia seguinte (Nieddu *et al.*, 2002). Todavia, as demais variedades IPA-100004; IPA-200016; IPA-200021 e IPA-200205 apresentam estômatos posicionados ao mesmo nível das demais células. Essa posição pode estar correlacionada a todo o outro aparato epidérmico que essas espécies têm, não necessitando de tanta proteção quanto às outras variedades; sendo assim, essa localização de estômatos corrobora com o mencionado por outros autores (Conde *et al.*, 1975; Eggli *et al.*, 1984; Calvente *et al.*, 2008; Arruda *et al.*, 2010).

A densidade dos estômatos observada sob MEV bem como em microscopia óptica mostrou variações. Os cladódios da variedade IPA-200149 possui densidade de estômatos superior ( $P < 0,05$ ) as demais variedades, em todas as regiões (apical, medial e basal). Isso pode estar envolvido ao mecanismo fotossintético CAM (Gibson e Nobel, 1986). Em contra partida, a variedade IPA-200205, possui menor densidade de estômatos na epiderme que as outras (tabela 3; figura 12 do apêndice II). Num contexto semelhante Nieddu *et al.* (2002) observaram que a densidade de estômatos varia de acordo com a idade do cladódio e o estresse hídrico.

As observações revelaram variações no estilo estrutural dos estômatos e a princípio foram encontrados estômatos do tipo ciclocíticos nas variedades IPA-100003, IPA-200016, IPA-200149, IPA-200205. Em seguida o tipo hexacítico nas variedades IPA-100004 IPA-200008 (Frayns-Claessens e Van-Cothem, 1973). Mas o que chamou a atenção foi à variedade IPA-200021 apresentar dois tipos de estômatos tetracíticos e hexacíticos em sua epiderme (figura 1). Evidenciando uma particularidade da variedade pertencente ao gênero *Nopalea*. Este fato foi adquirido devido ao melhoramento

genético. Podendo ser um polimorfismo gerado pelas modificações genéticas ao longo da produção dos diferentes clones.

Das variedades estudadas as *Opuntia* IPA-200008 e IPA-200003, foram exclusivas ao exibirem epiderme papilosa (figuras 2; figura 7 do apêndice II), corroborando com relatos em *Opuntia* de outros autores (Gibson e Nobel, 1986; Arruda *et al.*, 2012; Rykaczewski *et al.*, 2016). Os tricomas encontrados nestas variedades são unisseriados, multicelulares e glandulares ou tectores (Fahn *et al.*, 1990). Originados a partir da epiderme (figura 7 do apêndice II), localizados pouco acima dos estômatos dificultando o acesso de pequenos ácaros e insetos aos tecidos (Gibson e Nobel, 1986). Salientando que os tricomas presentes no caule são descritos como papilas para diferenciar dos tricomas da região areolar (Loza-Cortejo e Terrazas, 2003). No entanto, essas microestruturas apresentaram morfologia diferenciada. As papilas presentes na variedade IPA-200003 *Opuntia ficus-indica* Mill são curtas e robustas desde a base até o ápice. Ao contrário das papilas presentes na variedade IPA-200008 que são mais alongadas, com base robusta e ápice delgado, lembrando um fio capilar (figura 7A do apêndice II). Normalmente as papilas são usadas na caracterização taxonômica de grupos como *platyopuntias* (Loza-Cortejo e Terrazas, 2003). Essas informações podem ser úteis em futuras interpretações e escolhas de padrões para os grupos de palma forrageira.

No sistema fundamental de todas as variedades investigadas a hipoderme é multisseriada com número de camadas variável, possuem de 2-3 camadas de células as variedades IPA-200008 e IPA-200016. De 4-5 camadas de células as IPA-100003 e IPA-200149, confirmando o mencionado por outros autores (Arruda, *et al.*, 2014; Conde *et al.*, 1975; Pimienta-Barrios *et al.*, 1993). Logo, todas as variedades do gênero *Nopalea* apresentam a hipoderme com cerca de 3-4 camadas sendo classificadas como de baixa espessura, não havendo diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre si em todas as regiões (apical, medial e basal), tais resultados corroboram com os mencionados por Necchi *et al.*, (2009). Todavia, a análise biométrica na espessura das células hipodérmicas nas variedades do gênero *Nopalea* também não diferiu ( $P < 0,05$ ), mostrando ser uma característica própria do gênero.

Por outro lado, a hipoderme das variedades de *Opuntia* analisadas foram superiores por diferirem ( $P < 0,05$ ), entre si e entre regiões. As variedades classificadas com área de hipoderme espessa são as IPA-200149 e IPA-100003 medindo de

145,97µm apical; 116,88µm medial; 113,79µm basal e médias de 93,07µm apical, 89,02µm medial e 98,98 µm basal, ordenadamente (tabelas 3; tabela 8 do apêndice). Exibindo suas células hipodérmicas com espessura médias de 8,90µm; 8,90µm; 8,18µm e 7,17 µm; 8,18 µm; 8,38 µm respectivamente (tabela 3). Esse número de camadas e espessura da parede celular da hipoderme está relacionado com a rigidez e xeromorfia da planta (Gibson e Nobel *et al.*, 1986).

Em ambos os gêneros investigados a hipoderme mostrou células com espessamento anelar (figura 2C; figura 6A do apêndice II), refletindo o acúmulo de pectina que aumenta a espessura dessas células (Jung *et al.*, 1993). Sendo assim, foi detectada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) apenas na região medial das variedades IPA-100003 e IPA-200016.

Ainda na hipoderme foram observadas às câmaras subestomáticas, que alcança o parênquima cortical, diferenciando-se em largura e comprimento (figura 6 E-F do apêndice II).

As drusas são compostas por carbonato de cálcio, bicarbonato de cálcio-magnésio, óxido de magnésio, oxalato de cálcio monohidrato, peroxidifosfato de potássio e cloreto de potássio (Padilla *et al.*, 2010). Apresentam vários formatos, desde o simples como prismáticos, até agregados de cristais (Loza-Cortejo e Terrazas, 2003). Normalmente, as drusas globulosas encontram-se distribuídas na epiderme (vista frontal), e na primeira camada das células da hipoderme em ambos os gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. De acordo com o levantamento realizado, as variedades IPA-100003 e IPA-200008 mostraram drusas em elevadas quantidades nas células da hipoderme, posicionadas lado a lado de forma contínua, sem espaços, indicando uma limitação (figura 2; figura 6A do apêndice II). Sem dúvida, essa camada de drusas forma uma barreira, para impedir que insetos consigam se alimentar, provocando danos ao aparelho bucal do mesmo (Lucas *et al.*, 2000).

O oposto foi visto nas palmas do gênero *Nopalea* IPA-100004 e IPA-200021, drusas globulosas distribuídas em baixas quantidades, solitárias, com espaços grandes entre si. Evidentemente essa barreira é frágil, e facilita a ação de herbívoros, assim como a penetração da radiação solar para o clorênquima subjacente (Pimienta-Barrios *et al.*, 1993). Podendo ser uma das características relacionadas ao fato da variedade IPA-200021 ser susceptível a cochonilha-do-carmim.

As demais variedades IPA-200016; IPA-200149 *Opuntia* e IPA-200205 *Nopalea*, mostraram drusas distribuídas em média quantidade, espaçadas entre si, posicionadas de forma contínua.

Não há dúvidas que a quantidade de drusas esteja relacionada à barreira de defesa dessas plantas. Pois, ao investigar o parênquima armazenador de todas as variedades, um fato chamou atenção, existe uma grande concentração de drusas, agrupadas, circundando o floema (responsável pela condução da seiva elaborada), em vários tamanhos, no formato de agregados de cristais pontiagudos (figura 8 do apêndice II). Enquanto que, em outras regiões do parênquima armazenador e paliçádico, as drusas encontram-se distribuídas aleatoriamente e solitárias.

De acordo com Gibson e Nobel (1986), o formato das drusas depende da natureza da parede celular. As células da hipoderme possuem parede celular mais espessa, por isso drusas arredondadas, no sistema fundamental as paredes das células são delgadas consequentemente drusas pontiagudas (Arruda *et al.*, 2015).

Quanto ao diâmetro das drusas na hipoderme, e acordo com a análise de variância houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ). As variedades IPA-100004 *Nopalea* e IPA-100003 *Opuntia*, possuem drusas grandes na hipoderme, destacando-se das demais variedades com diâmetros de: 2.307,29 $\mu\text{m}$  região apical; 2.229,84 $\mu\text{m}$  região medial e 1.320,01 $\mu\text{m}$  região basal; 1.733,50 $\mu\text{m}$  apical; 1.260,15 $\mu\text{m}$  medial e 3.448,53 $\mu\text{m}$  basal respectivamente (tabela 3). No entanto, o tamanho da drusa está relacionado com o teor de cálcio depositado e a idade dos cladódios, pois, o acúmulo de cálcio aumenta na planta após os 100 dias de idade (Padilla *et al.*, 2014, 2010).

Em contraste, a variedade IPA-200021 mostrou drusas na hipoderme com tamanhos bem inferiores 443,86  $\mu\text{m}$  apical; 533,18 $\mu\text{m}$  medial e 358,96  $\mu\text{m}$  basal (tabela 3; figura 15 do apêndice II). Tais resultados levam a suspeitar que uma das características favoráveis à baixa resistência desta variedade à cochonilha-do-carmim está relacionada com o tamanho (pequenas) e a baixa produção de drusas na hipoderme.

Ainda no sistema fundamental, no córtex, a variedade que apresentou drusas de cristais pontiagudos com maior diâmetro foi IPA-200008 na região basal, medindo 9.710,63 $\mu\text{m}$  (tabela 3; figura 16 do apêndice II). Já nas regiões medial e apical as variedades não diferiram ( $P > 0,05$ ) entre si. Sendo assim, o número e o tamanho das drusas na hipoderme e no córtex provavelmente estão relacionados à quantidade de minerais presentes nos cladódios, e a capacidade da planta em armazenar. Considerando, a composição desses cristais, Alves *et al.* (2016) analisaram o valor

nutritivo da palma e obtiveram as quantidades dos seguintes minerais: Ca 10,00; Mg 5,58; K 2,88; P 0,86 (g.kg-1 MS) para a variedade IPA-100004 e Ca 15,08; Mg 4,63; K 4,74; P 1,29 (g.kg-1 MS) para IPA-100003 e para IPA-200008 Ca 17,22; Mg 5,70; K 2,35; P 2,08 (g.kg-1 MS). E observaram que esses valores demonstram existir diferenças na composição nutricional das variedades e segundo Padilla *et al.* (2014) a palma pode ser um complemento alimentar alternativo não só para animais, mas para pessoas com intolerância a lactose, pois o cálcio e o magnésio têm importância essencial nas funções bioquímicas dos seres vivos.

O parênquima cortical de todas as variedades vistas é subdividido (figura 8), a porção externa do parênquima apresenta células com formas de paliças, denominando-se de parênquima paliçádico e a porção mais interna que compreende parte do córtex e da medula é formada por células não paliçádicas, denominado de parênquima armazenador. Essa subdivisão do parênquima confirma com os registros encontrados na literatura (Nultsch *et al.*, 2005).

Na literatura, vários autores (Nultsch *et al.*, 2005; Metcalfe e Chalk, 1950; Gibson e Nobel, 1986), descrevem que as células do parênquima são isodiamétricas. Mas, diante das observações em microscopia óptica e as análises biométricas realizadas neste estudo nas variedades de palma forrageira revelaram existir diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) no diâmetro e no formato (tabelas 3; tabela 8 do apêndice I; figura 2; figuras 9; 17 e 18 do apêndice II).

As células do parênquima paliçádico, em secção transversal, encontram-se dispostas perpendicularmente, com formato quadrangular e retangular em todas as variedades (tabela 8 do apêndice I; figura 2; figuras 9; 17 e 18 do apêndice II). O teste de variância comprova as diferenças ( $P < 0,05$ ), pois no parênquima paliçádico da variedade IPA-100004 *Nopalea* as células exibiram maior diâmetro que as demais, medindo 42.555,00 $\mu$ m na região basal. Nessa mesma região a IPA-200021 destacou-se com diâmetro inferior 5.346,82 $\mu$ m que as outras variedades (tabela 3; figura 1; figura 14 do apêndice II). Todavia, as células do parênquima armazenador também se diferenciaram nas variedades IPA-100004; IPA-200008 e IPA-200205 podem ser vista células relativamente grandes, quando comparadas com as outras variedades (tabela 3; figura 17 do apêndice II). Enquanto, que a variedade IPA-100004 possui células na região medial medindo cerca 86.498,12 $\mu$ m. Essa variação de formas nas células paliçádicas, só comprova a plasticidade do parênquima paliçádico para as diferentes

variedades. Até o momento não foi identificado que outros autores tenham realizado medidas das células do parênquima paliçádico em variedades de palma forrageira.

Já no parênquima armazenador estão presentes células, cavidades e canais secretores de mucilagem (figura 18 do apêndice II). As variedades IPA-200149 e IPA-200205 possuem apenas células e cavidades de mucilagem. Enquanto que na IPA-100004 e IPA-200021 existem células e canais. Esses canais secretores estão distribuídos em todas as regiões (apical, medial e basal), localizados adjacentes ao floema primário. Já as células e cavidades estão espalhadas por todo segmento caulinar de todas as variedades observadas (figura 8 do apêndice II). Essas estruturas estão envolvidas com a suculência nos cactos (Gibson e Nobel, 1986), e ampliam a capacidade de absorção e retenção de água (Nobel *et al.*, 2002), porém, a maior parte do armazenamento de água é na medula (Gibson e Nobel 1986).

As células do parênquima armazenador da medula, além de armazenar água, podem produzir grãos de amido, alcalóides, flavonóides, hormônios e outros produtos químicos que contribuem para o metabolismo, sendo necessária a realização de teste histoquímico para a comprovação (Mauseth, 1984b; Nobel, 1988; 1994). Neste estudo, por meio do teste histoquímico, foi registrada a presença de compostos fenólicos (flavonóides, tanino, lignina etc.), lipídeos (ceras, cutina, suberina) e polissacarídeos (grãos de amido) em todas as variedades (tabela 4 e figuras 6 A-B do apêndice II).

Todas as variedades estudadas produzem compostos fenólicos em pequenas quantidades em distintos tecidos anatômicos. As variedades IPA-100003; IPA-200008 e IPA-200149 produzem compostos fenólicos nas regiões apical, medial e basal. Contudo, a produção dessas substâncias fenólicas desempenham função de proteção contra herbivoria (Howe e Westley, 1988) e quando formam complexos com as proteínas, reduzem a digestibilidade (França *et al.*, 2010).

Da mesma forma, a variedade IPA-200016 produz os compostos fenólicos, nas três regiões, através de células especializadas da epiderme e hipoderme (figura 3; tabela 4). Essa presença de composto fenólicos foi citado por Alves *et al.*(2015), ao estudarem o perfil fitoquímico das mesmas variedades corroborando com os nossos resultados. No entanto, os mesmos autores, detectaram a presença de esteróides em baixa intensidade, flavonóides em média intensidade, e tanino apenas na IPA-200149 em baixa intensidade.

**Tabela 4.** Presença e localização dos compostos fenólicos nas variedades estudadas

Variedades	Células Epiderme	Células Hipoderme	Células Parênquima Cortical
100003	-	-	*
200008	-	-	***
200016	***	***	-
200149	-	-	**
100004	**	*	**
200021	**	*	**
200205	*	*	*

(\*)Baixa proporção; (\*\*) Média proporção; (\*\*\*) Alta proporção; (-) Não encontrado

Sob o mesmo ponto de vista, todas as variedades do gênero *Nopalea* IPA-100004; IPA-200021 e IPA-200205 produzem compostos fenólicos nas três regiões. As células especializadas da epiderme e hipoderme, e as células secretoras do parênquima cortical, são responsáveis pela produção, em média proporção. Quando essas substâncias fenólicas estão presentes também nas células corticais mais internas, intensifica a barreira contra herbivoria (Howe e Westley, 1988). Certamente, a produção de metabólitos secundários está relacionada a vários fatores (condições ambientais, grau de estresse, idade da planta, genética, etc.) Alves *et al.*(2015), no entanto, alguns compostos secundários têm outras funções importantes, como componente estrutural (sustentação-lignina) ou pigmentação.

Os estudos histoquímicos demonstraram a presença de metabólitos primários como: compostos lipofílicos e carboidratos (grãos de amido) segundo Amede *et al.*, (2015), dentre os materiais lipofílicos secretados pelas plantas estão os lipídeos (Fahn *et al.*, 1988). Presentes principalmente na cutícula de todas as variedades investigadas, o que já era esperado pelo fato da sua composição. Contudo, as *Opuntia* IPA-100003; IPA-200008 e IPA-200149 apresentaram maior concentração de lipídeos na cutícula e na câmara subestomática, algumas gotículas de lipídios na mucilagem, células da epiderme, hipoderme e no córtex, destacaram-se das outras variedades (figura 3). Num contexto diferente, Alves *et al.* (2016) analisaram o conteúdo nutricional das mesmas variedades e encontraram concentrações EE (Extrato Etéreo), corroborando com os nossos resultados para presença de lipídeos, no entanto, os mesmos autores obtiveram

teores de EE de 23,2g/kg na matéria seca (MS) para IPA-100003; 17,0g/kg na MS para IPA-200008; 19,5g/kg na MS em IPA-200149.

Notou-se que as espécies IPA-200016 e IPA-200021 exibiram concentração de lipídeos na cutícula, algumas gotículas nas células do córtex nas células da hipoderme, logo, em todos os cladódeos são encontrados apenas 13,4g/kg na MS de EE e 27,3g/kg na MS de EE (% na MS) respectivamente (Alves *et al.*, 2016). Essa produção pode está relacionadas com diversas funções necessárias à adaptação ao meio ambiente (Gonçalves *et al.*, 2014), logo esses lipídeos também se ligam as substâncias fenólicas influenciando no sabor e defesa da planta.

Já as *Nopalea* IPA-200004 e IPA-200205 exibiram gotículas de lipídeos no xilema na região basal em diferentes proporções, na cutícula e células do córtex. Todavia, a porcentagem de EE na MS de: 17,6 g/kg na MS; 15,9g/kg na MS (Alves *et al.*, 2016) (figuras 3; tabela 5). De acordo com Howe e Westley (1988) as substâncias fenólicas desempenham função de proteção contra microorganismos, quando presentes nas células corticais mais internas, intensifica esta barreira.

**Tabela 5.** Presença e localização de lipídios nas variedades estudadas

Variedades	Cutícula	Periderme	Células Epiderme	Células Hipoderme	Câmara Subestomática	Células Parênquima Cortical	Canal de Mucilagem	Xilema
100003	***	-	**	**	***	***	**	-
200008	***	**	**	**	***	***	-	-
200016	***	**	**	**	-	***	-	-
200149	***	-	**	**	***	***	-	*
100004	**	**	*	*	-	**	-	-
200021	**	-	*	*	-	*	-	-
200205	**	-	*	*	-	**	-	**

(\* ) Baixa proporção; (\*\* ) Média proporção; (\*\*\*) Alta proporção; (-) Não encontrado.

Grãos de amido foram evidenciados em todas as variedades pelo teste histoquímico, sendo confirmados na análise biométrica (figuras 3; tabelas 6 e 7; figuras 19; 20; 21 do apêndice II), encontrados principalmente nos raios xilemáticos, diferenciando-se em tipos, tamanho, formato e quantidade.

Em todas as variedades foram localizados grânulos do tipo A com diâmetro bem acima de  $>10\mu\text{m}$ , corroborando com os resultados de outros autores (Yonemoto *et al.*, 2007; Peng *et al.*, 1999; Rolée *et al.*, 1997) ao analisarem o diâmetro do amido de trigo. A variedade IPA-200205 exibiu amido com maior diâmetro  $176,75\mu\text{m}$  na região basal medular, enquanto que a variedade IPA-200021 apresentou amidos menores com  $50\mu\text{m}$  de diâmetro na mesma região. Em contraste no sistema vascular a variedade IPA-100004 destacou-se por apresentar amidos bem maiores  $304,65\mu\text{m}$  diâmetro na região medial e a variedade IPA-200149 na mesma região exibiu amido com diâmetro de  $85,28\mu\text{m}$  (figuras 9, 20, 21 do apêndice II; tabela 6). O tipo de grânulos é importante por que diferem em suas propriedades químicas e físicas podendo apresentar diferentes usos finais. Grânulos pequenos podem ser usados como substitutos de gorduras, enquanto que os grandes podem ser aplicados na manufatura de filmes plásticos biodegradáveis (Shinde *et al.*, 2003).

De fato, o consumo dos cladódeos da palma forrageira *in natura* na alimentação dos animais ruminantes é consolidada, inclusive substituindo totalmente o milho (fonte energética) da dieta desses animais não alterando a produção (Almeida *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2003). No entanto, os cladódeos maduros podem ser destinados à produção industrial impulsionando o mercado regional.

O amido da palma forrageira em todas as variedades analisadas na região basal e medial é de formato esférico e na região apical o amido tem formato ovalado. Esses grãos de amido diferem entre si pela composição de proteína e absorção de água (Yonemoto *et al.*, 2007) e podem ser classificados e podem ser classificados quanto a dureza (amido duro ou mole), relacionados à textura, pois amidos duros requerem maior força para se desintegrarem, por que apresentam maior tamanho de partículas em relação aos amidos moles (Atwell *et al.*, 2003). Isso provavelmente influencia no tempo de digestibilidade ruminal, apesar palma apresentar alta degradabilidade.

No sistema vascular as variedades IPA-200021 e IPA-200149 apresentaram maior número de amido nas células, sendo em média 24 unidades e 17 unidades de amido em cada célula da região apical respectivamente. Essa produção de amido pela planta depende tanto do genótipo como das condições ambientais (Yonemoto *et al.*, 2007). Podendo ser utilizado para identificar espécies, quando há dúvidas com relação à sua morfologia externa (Galliard *et al.*, 1987).

**Tabela 6.** Análise biométrica do amido presentes no sistema fundamental do seguimento caulinar em *Opuntia* e *Nopalea*

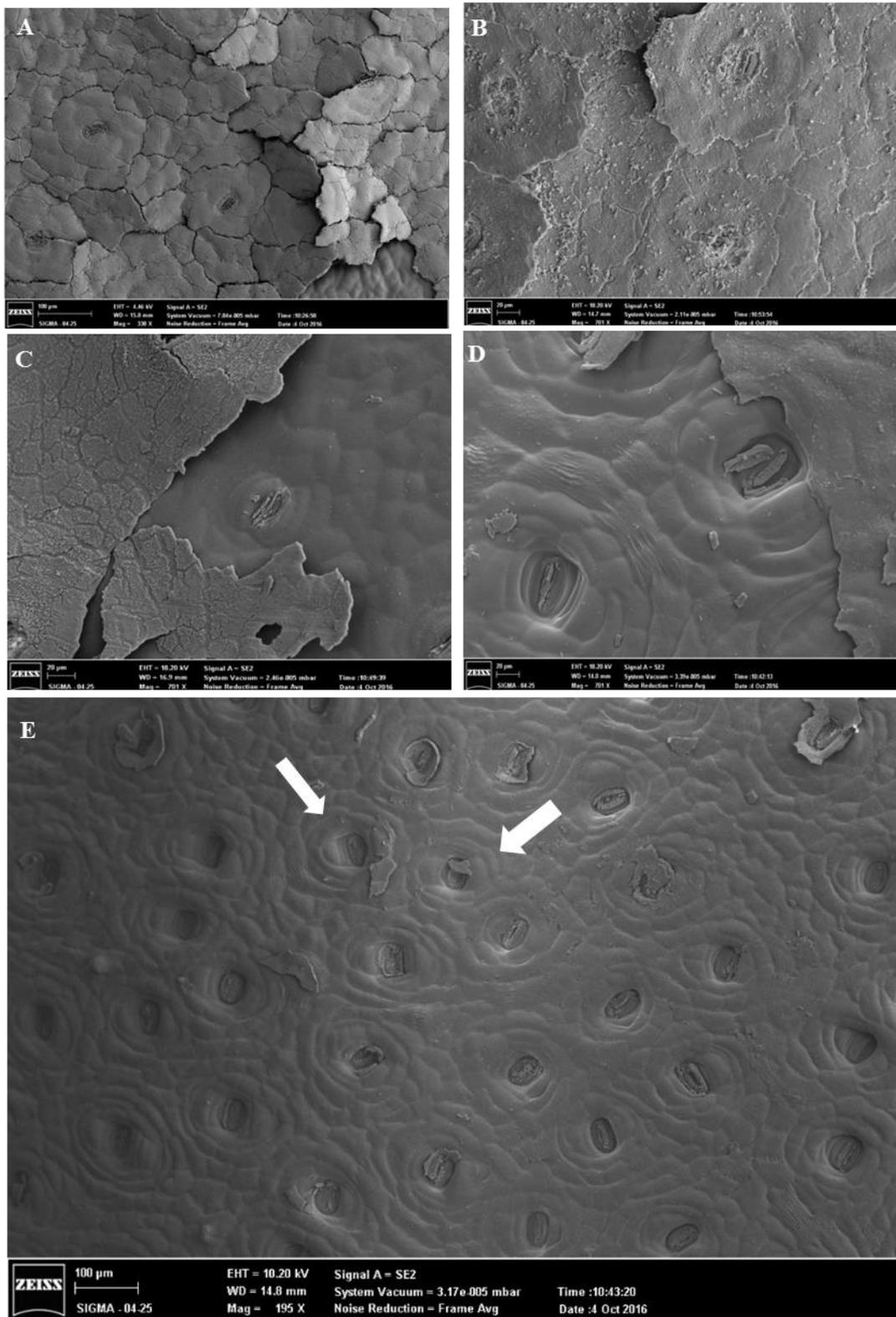
<i>Opuntia</i>				
ESPECIES	REGIÃO	N° ACSV	AM	ASV
IPA-100003	Apical	10,72a C	217,40aA	127,67aDC
	Medial	14,02aA	94,27bBAC	160,42aB
	Basal	14,67aA	113,87bB	121,11aBC
IPA-200008	Apical	9,35aC	77,52aD	245,86aAB
	Medial	9,30aA	54,35aC	147,67bBC
	Basal	11,57aA	48,53aC	127,26bBAC
IPA-200016	Apical	10,05aC	100,77aDC	241,88aAB
	Medial	11,52aA	116,05aAB	170,84bB
	Basal	13,10aA	47,99bC	127,88bBAC
IPA-200149	Apical	17,42aB	78,35aD	95,56aD
	Medial	12,27bA	87,14aB	85,28aC
	Basal	11,47bA	99,56aBC	97,67aC
<i>Nopalea</i>				
IPA-100004	Apical	10,15aC	145,83aBC	288,40aA
	Medial	8,20aA	100,61bBAC	304,65aA
	Basal	10,22aA	138,66bBA	133,20aABC
IPA-200021	Apical	24,40aA	89,64aD	231,39bBA
	Medial	10,77bA	52,8aC	289,58aA
	Basal	14,95bA	50,19aC	172,26cBA
IPA-200205	Apical	8,15aC	171,82aAB	193,39aBC
	Medial	10,42aA	143,89aA	339,79aA
	Basal	10,67aA	176,75aA	195,67aA
<b>Erro padrão</b>		2,09	17,74	24,74
<b>CV</b>		8,24	1,35	0,76

<sup>1</sup>: Unidades; N° ACSV: número amido célula sistema vascular; AM: amido medula; ASV: amido sistema vascular. Médias seguidas pela mesma letra minúscula (região) e maiúscula (variedades por região) na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

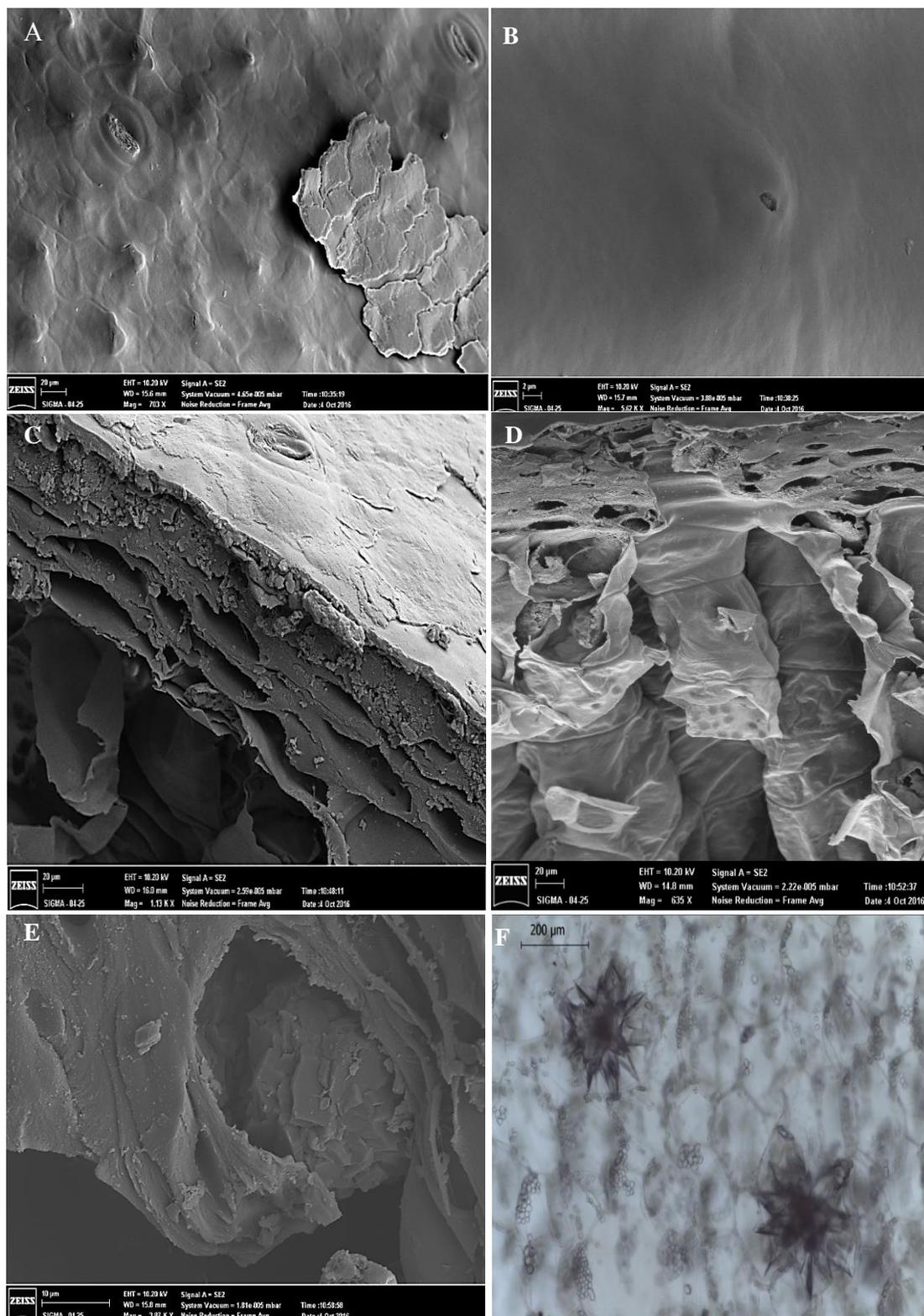
**Tabela 7.** Presença e localização do amido nas variedades estudadas

<b>Variedades</b>	<b>Região</b>	<b>Córtex</b>	<b>Raios Xilemático</b>	<b>Medula</b>
100003	Apical	**	***	**
	Medial	***	**	**
	Basal	*	**	*
200008	Apical	**	*	*
	Medial	*	*	*
	Basal	*	*	-
200016	Apical	*	**	*
	Medial	**	**	*
	Basal	**	**	**
2000149	Apical	**	***	*
	Medial	**	***	**
	Basal	***	**	***
100004	Apical	***	***	-
	Medial	*	**	*
	Basal	*	***	*
200021	Apical	*	*	-
	Medial	*	*	-
	Basal	*	*	-
200205	Apical	***	*	*
	Medial	*	**	*
	Basal	-	***	-

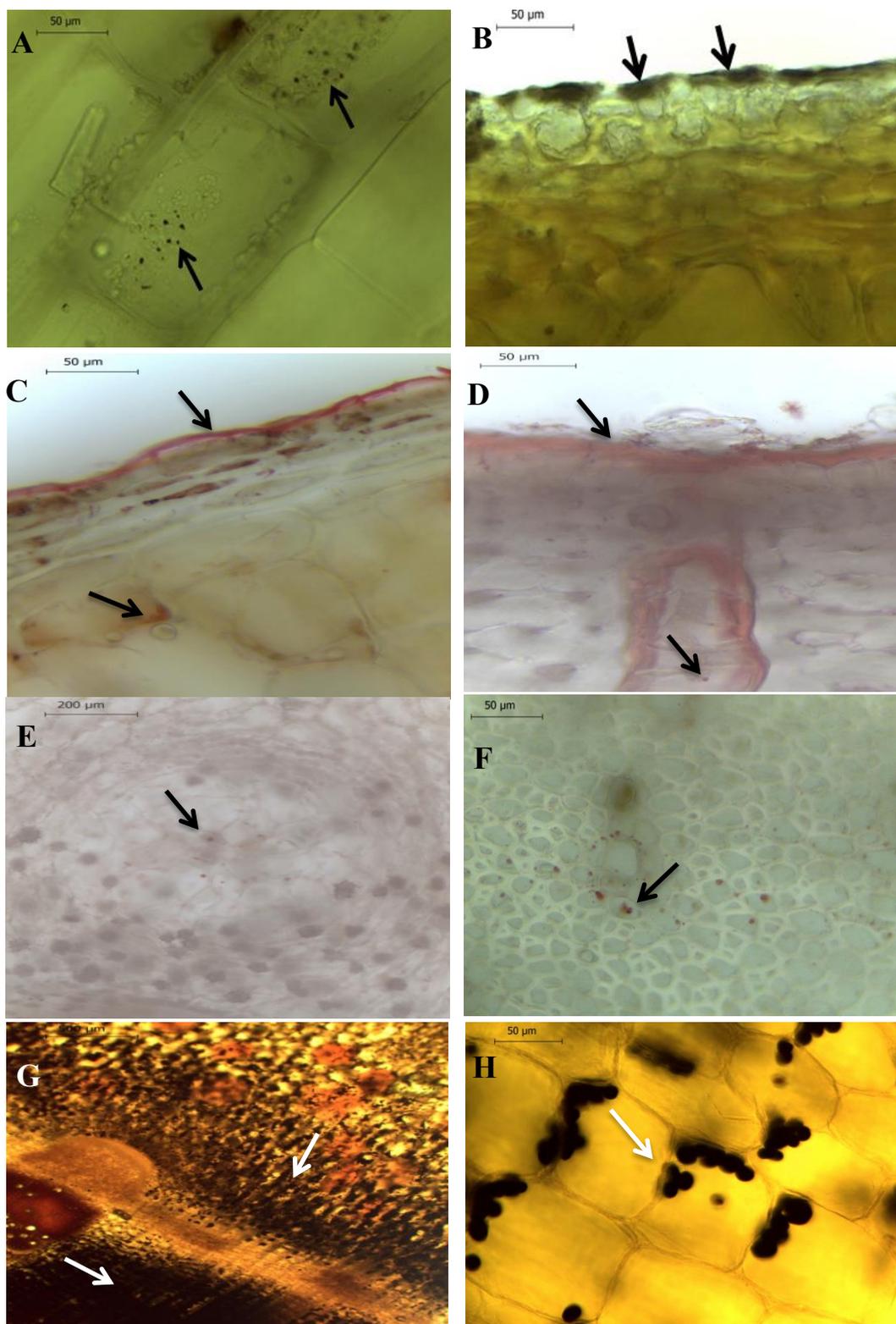
(\*) Baixa proporção; (\*\*) Média proporção;  
 (\*\*\*) Alta proporção; (-) Não encontrado.



**Figura 1.** Fotomicrografia em microscopia eletrônica de varredura em vista frontal no segmento caulinar. **A:** Cutícula com formato de placas rachadas em *Nopalea cochenillifera* Salm-L IPA-100004; **B:** Cutícula flocada em *Nopalea cochenillifera* Salm-L IPA-200205; **C:** Cutícula espessa em *Opuntia larreri* IPA-200149; **D:** Cutícula delgada em *Nopalea cochenillifera* Salm-L IPA-200021; **E:** Estômatos tetracítico e hexacítico em *Nopalea cochenillifera* Salm-L, IPA-200021. Barras: (B, C e D) 20µm; (A e E)100µm.



**Figura 2.** Fotomicrografia em microscopia eletrônica de varredura. **A e B:** Papilas na epiderme em *Opuntia atropes* Rose IPA-200008 (vista frontal); **C:** Skin = epiderme + hipoderme em *Opuntia stricta* Haw IPA-20016; **D:** Hipoderme multisseriada e células do parênquima paliçádico em *Opuntia larreri* IPA-200149 (vista transversal). **E:** Drusa globulosa na hipoderme em *Nopalea cochenillifera* Salm-L IPA-200205; **F:** Drusas agregado de cristais no córtex em *Nopalea cochenillifera* Salm-L IPA-100004 (microscopia ótica). Barras: (A, C e D) 20µm; (E) 10µm; (B) 2µm.



**Figura 3.** Testes histoquímicos em seção transversal (microscopia ótica). **A:** Compostos fenólicos nas células do parênquima paliçádico em IPA-200149; **B:** Compostos fenólicos na epiderme em IPA-200016; **C:** Lipídeos na cutícula e hipoderme em IPA-200021; **D:** Lipídeos na cutícula e gotículas na câmara subestomática em IPA-200149; **E:** gotículas de lipídeos no canal mucilaginoso em IPA-100003; **F:** Gotículas de lipídeos no xilema IPA-100004; **G:** Presença de amido no córtex e nos raios xilemáticos em IPA-200205; **H:** Presença de amido nas células do sistema vascular em IPA-200021.

## 2.4. CONCLUSÕES

As variedades de palma forrageira apresentam características morfo-anatômicas e histoquímicas importantes que possibilitam delimitar taxonomicamente as espécies e variedades dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*;

As variedades dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* possuem particularidades que as diferenciam quanto aos aspectos de cera epicuticular, tricomas, tipos de estômatos, aspectos de células da hipoderme, estruturas secretoras de mucilagem e do parênquima paliçádico, bem como, propriedades estruturais das drusas.

Dentre as variedades do gênero *Opuntia* somente as IPA-100003 e IPA-200008 apresentam tricomas não glandulares.

A variedade IPA-200021 do gênero *Nopalea* tem estômatos do tipo tetracíticos e hexacíticos, sugerindo ser uma particularidade associada às modificações genéticas.

A resistência de algumas variedades de palma forrageira à *Dactylopius opuntiae* (cochonilha do carmim) podem estar associada à presença de compostos fenólicos produzidos e armazenados nos diferentes tecidos das espécies e variedades estudadas no presente trabalho, sobretudo, nas variedades IPA-200008 e IPA-100003, cujas características morfológicas são relativamente semelhantes mesmo apresentando diferenças quanto ao grau de susceptibilidade.

A presença de lipídeos e amido na região basal bem como no sistema vascular é mais proeminente, nas variedades IPA-100003, IPA-200149 (*Opuntia*) e IPA-200021 (*Nopalea*).

## **2.5. AGRADECIMENTOS**

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, o Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, ao Instituto de Pesquisa e a FACEPE pela bolsa concedida e ao CNPq pelo financiamento do projeto.

## 2.6. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ALMEIDA, G.A.P.; CAMPOS, J.M.S.; FERREIRA M.A. *et al.*, 2015. Palma (*Opuntia ficus-indica* Mill) cv. Gigante em suplementos para fêmeas leiteiras em crescimento a pasto. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 2, p. 161 – 171.

ALVES, F.A.L.; ANDRADE, A.P.; BRUNO, R.L.A. *et al.*, 2016. Chemical and Nutritional Variability of Cactus Pear Cladodes, Genera *Opuntia* and *Nopalea*. **American Journal of Food Technology**. ISSN 1557-4571, DOI: 10.3923/ajft.

ALVES, F.A.L.; ANDRADE, A.P.; BRUNO, R.L.A. *et al.*, 2015. Caracterização fitoquímica de variedades de palma forrageira dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. **XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia**.

AMEDE, S.C.; RIBEIRO, A.G.; REZENDE, M.H. *et al.*, 2015. Morfo-anatomia e histoquímica foliar de *Azadirachta Indica* a. Juss (*Neem*) (Meliaceae), cultivadas em goiás. **Revista Eletrônica de Educação da Faculdade Araguaia**, v.7, p.65-89.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G.F., 2010. Wide-band tracheids in the photosynthetic and non-photosynthetic stem in species of Cactaceae. **Journal of the Torrey Botanical Society**. v.137, p.16-19.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G.F.; ALVES, M., 2005. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Revista Brasileira de Botânica**, v.28, p.589-601.

AYALA-CORDERO, G.; TERRAZAS, T.; LÓPEZ-MATA, L. *et al.*, 2006. Morpho-anatomical changes and photosynthetic metabolism of *Stenocereus beneckeii* seedlings under soil water deficit. **Journal of experimental botany**, v.57, p.3165–3174.

ATWELL, W. A. 2001. Wheat Flour. St. Paul: **American Association of Cereal Chemists**, 5 p.

BEN SALEM-FNAYOU, A.; JELLOULI, N.; BOUAMAMA, B. *et al.*, 2009. Investigations on the leaf surface ultrastructure in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by scanning microscopy. **Scanning**. v.31, p.1–5.

BEN SALEM-FNAYOU, A.; BOUAMAMA, B.; GHORBEL, A. *et al.*, 2011. Investigation on the leaf anatomy and ultrastructure of grapevine (*Vitis vinifera*) under heat stress. **Microscopy Research and Technique journal**, v.74, p.756–762.

BEN SALEM-FNAYOU, A.; ZEMNI, H.; NEFZAOU, A. *et al.*, 2013. Micromorphology of cactus-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) cladodes based on scanning microscopes. **Micron**, v.56 (2014), p. 68–72.

BERLYN, G.P.; MIKSCH, J.P., 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. **Ames, The Iowa State Press**, p.326.

BISSING, D. R. 1974. Haupt's gelatin adhesive mixed with formalin for affixing paraffin sections to slides. **Stain Technol.** v.49, n.2, p.116-117.

CALVENTE, A.M.; ANDREATA, R.H.P.; VIEIRA, R.C., 2008. Stem anatomy of *Rhipsalis* (Cactaceae) and its relevance for taxonomy. **Plant Systematic and Evolution**. v.276, p.1-7.

CHERKAOUI-MALKI, M. *et al.*, 2014. Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. **Molecules**, v.19, n.9, p.14879-14901.

COLEY, P.D.; BARONE, J.A., 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of ecology and systematics**, England, v 27, p. 305-335,

CONDE, L.F., 1975. Anatomical comparisons of live species of *Opuntia* (Cactaceae), **Annals of the Missouri Botanical Garden**. Ann. Missouri. Bot. Gard. v.62, p.125-173 e 425–473.

EGGLI, U. *et al.*, 1984. Stomatal types of Cactaceae. **Plant Systematics and Evolution** v.146, p 197-214.

FAHN, A.; CUTLER, D., 1992. **Xerophytes**. Gubrunder borntraeger, Berlin.

FAHN, A., 1990. Plant anatomy. 4<sup>TH</sup> ed. Pergamon press, **Oxford**.

FRANÇA, M.C.; CORREIA, M.J.; ARAÚJO, J.A. *et al.*, 2010. **Perfil fitoquímico com extrato vegetal da espécie *Nopalea Cochenillifera***. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, 215.

FRYNS-CLAESSENS, E.; VAN-COTHEM, W. *et al.*, 1973. A new classification of the ontogenetic types of stomata. **The Botanical Review** v.39, p.71-138.

GALLIARD, T. 1987. Starch: properties and potential. [S. L.]: **Society of Chemical Industry**.

GIBSON, A. e NOBEL, P., 1986. **The cactus primer**. Havard University Press, Cambrigde.

GONÇALVES, A.; GUAZZELLI, M.J., 1914. Agrofloresta e óleos essenciais. **Centro Journal of Experimental Botany**. v.45, p.295–303.

HELBSING, S.; RIEDERER, M.; ZOTZ, G., 2000. Cuticles of vascular epiphytes: efficient barriers for water loss after stomatal closure? **Annals of Botany, Oxford**, v.86, n.4, p. 765-769.

HOWE, H.F.; WESTLEY, L.C. 1988. Ecological relationships of plants and animals. **Oxford Universty Press**, New York.

INMET - Intituto Nacional de Mateorologia. Dados climáticos da Estação de Arcoverde: série histórica de 1961 a 2015. Banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em:<<http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 22 outubro agosto de 2016.

JENSEN, WA. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. **W.H. Freeman and Company**, San Francisco,

JOHANSEN, D., 1940. Plant microtechnique. New York. **Mc Grow Hill Book Company**, Inc.. Co. Inc., p.523.

JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATIFIELD, R.D. *et al.*, 1993. **Forage Cell Wall Structure and Digestibility**. p.1-27, USA.

KRAUS, J.E.; SOUSA, H.C.; REZENDE, M.H. *et al.*, 1998. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. **Biotechnic and Histochemistry**. v.73, p.235-243.

LAZZARI, S.M.N.; ZONTA-DE-CARVALHO, R.C., 2009. **Sugadores de seiva (Aphidoidea)**. In: Panizzi, R. A.; Parra, J. R. P (Eds). Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas. Brasília: EMBRAPA, p.767-836.

LE HOUÉROU, H.N., 2002. Cacti (*Opuntia* spp.) as a fodder crop for marginal lands in the Mediterranean basin. Proc. 4th IC on Cactus pear and cochineal. **Acta Horticulturae**, v.581, p.21–46.

LOZA-CORNEJO, S.; TERRAZAS, T., 2003. Epidemal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). **Journal Plant Resvist**, v.11, p. 27-35.

LUCAS, P.W.; TURNER, I.M.; DOMINY, N. J. *at al.*, 2000. mechanical deferences to Herbivory, **Annals of Botany**, Oxford, v.86, n5, p.913-920.

MAUSETH, J.D., 1984b. Introduction to cactus anatomy. Part 8. Inner body. **Cactus and Succulent Journal (U.S.)**, v.56, p.131–136.

MAUSETH, J.D., 1984a. Introduction to cactus anatomy. Part 7. Epidermis. **Cactus and Succulent Journal (U.S.)**, v.56, p.33–37.

MAUSETH, J.D. 1995a. Ontogenetic mechanisms and the evolution of Cactaceae. **Giornale Botanico Italiano**, v.129, p.429–435.

MELO, A.A.S.; FERREIRA, M.A.; VERAS, A.S.C. *et al.*, 2003. Substituição parcial do farelo de soja por ureia e palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Digestibilidade. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v.25 n.2, p.339-345.

MOURA, J.G. *et al.*, 2012. **Valor nutritivo e características anatômicas de variedades de palma forrageira (*Nopalea sp.* e *Opuntia sp.*) com diferentes níveis de resistência á cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae cockerell*).** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife –PE, p.34.

NASCIMENTO-JUNIOR, J.B.; ANDRADE, A.P.; SILVA, D.S. *et al.*, 2015. Caracterização Morfológica de Palma Forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*). **IV Congresso Brasileiro de Palma e outras cactáceas.** Salvador-BA.

NEFZAOU, A., BEN SALEM, H., 2002. Cacti: efficient tool for rangeland rehabilitation, drought mitigation and to combat desertification. *Acta Horticulturae*, v.581, p.295–315. Nobel, P.S., 1994. Remarkable Agaves and Cacti. Oxford University Press, New York.

NIEDDU, G.; PAU, L. de; SATTA, D., 2002. Changes in the Morphology and Structure of *Opuntia ficus-indica* (Mill.) Cladodes Surface. Proc. 4th IC on Cactus Pear and Cochineal. Eds. *Acta Horticulturae*, p.581, ISHS

NOBEL, P.S. *et al.*, 1988. Environmental Biology of Agaves and Cacti. **Cambridge University Press**, New York.

NOBEL, P.S. *et al.*, 1991a. Environmental productivity indices and productivity for *Opuntia ficus-indica* under current and elevated atmospheric CO<sub>2</sub> levels. **Plant, Cell and Environment**, v.14, p.637–646.

NOBEL, P.S. *et al.*, 1994. Remarkable Agaves and Cacti. **Oxford University Press**, New York.

NOBEL, P.S. *et al.*, 1991b. Tansley Review No. 32. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C3 and C4 plants. **New Phytologist**. v.119, p.183–205.

Nobel, P.S.; CASTAÑEDA, M. *et al.*, 1998. Seasonal, light and temperature influences on organ initiation for unrooted cladodes of the prickly pear cactus *Opuntia ficus-indica*. **Journal of the American Society for Horticultural Science** v.123, p.47–51.

NULTSCH, W., 2005. **Botânica Geral**. Trad. OLIVEIRA, P.L., editora Artmed, v 10, p. 67 – 108, Porto Alegre.

PADILLA M.C; REZ-TORRERO, E.P.; MARGARITA I. *et al.*, 2010. Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus-indica* var. redonda) at different maturity stages. **Journal of Food Composition and Analysis** see front matter. 2010. Elsevier Inc. All rights reserved. doi:10.1016/j.jfca. 03.028.

PADILLA, M.C.; MUÑOZ, E.M.R.; CORTEZ, E.G., *et al.*, 2014. Characterization of crystalline structures in *Opuntia ficus-indica*. **Journal BiolPhys**, v.41, p.99–112, DOI 10.1007/s10867-014-9368-6.

PENG, M. *et al.*, 1999. Separation and characterization of A- and B- type starch granules in wheat endosperm. **Cereal Chemistry Journal**, v.76, n. 3, p. 375-379.

PIMIENTA-BARRIOS, E.M.; LOERA-QUEZADA, L.; LÓPEZ-AMEZCUA *et al.*, 1993. Estudio anatómico comparativo em colectas del subgénero *Opuntia*. **Agrociencia serie Fitociencia** v.4, p.7–21.

POLESI, N.P.E. *et al.*, 2011. REVISÃO: Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas. **Revista Brasileira de Biociências Brazilian Journal of Biosciences**-Instituto de Biociências UFRGS, Porto Alegre. ISSN 1980-4849, v. 9, n.4, p. 533-541.

PURVIS, M.; COLLIER, D.; WALLS, D., 1964. Laboratory techniques in botany. **Butterworths**, London.

ROLÉE, A.; LE MESTE, M. 1997. Thermomechanical behavior of concentrated starch-water preparations. **Cereal Chemistry Journal**, v.74, n. 5, p.581-588.

RYKACZEWSKI, K.; JORDAN, J. S.; LINDER, R., 2016. Microscale Mechanism of Age Dependent Wetting Properties of Prickly Pear Cacti (*Opuntia*). **American Chemical Society- Langmuir** DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b02173. p.32.

SASS JE. 1951. **Botanical microtechnique**. 2a Ed. Ames, The Iowa State College Press, p.391.

SATTLER, R. *et al.*, 1988. Homeosis in Plants. **American Journal of Botany**. v.75, p.1606–1617.

SHEDBALKAR, U.U.; ADKI, V.S.; JADHV, J.P. *et al.*, 2010. *Opuntia* and other cacti: applications and biotechnological insights. **Tropical Plant Biology**, v.3, n.3, p.136-150.

SHINDE, S. V.; NELSON, J. E.; HUBER, K. C. 2003. Soft wheat starch pasting behavior in relation to A- and B-type granule content and composition. **Cereal Chemistry Journal**, v.80, n. 1, p.91-98.

SILVA, M.G.S.; DUBEUX-JÚNIOR, J.C.B.; ASSIS, L.C.S. *et al.*, 2010. Anatomy of different forage cacti with contrasting insect resistance. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p.118-122.

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

VAN FLEET, D.S. *et al.*, 1942. Development and distribution of the endodermis and an associated oxidase system in monocotyledonous plant. **American Journal of Botany**. v.29, p.1-15.

VASCONCELOS, A.G.V. *et al.*, 2011. **Resistência á cochonilha do carmim em clones de palma forrageira**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, p.70.

YONEMOTO, P.G.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; FRANCO C.M.L. *et al.*, 2007. Effect of granule size on the structural and physicochemical characteristics of wheat starch. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.27(4): p. 761-771.

## 2.7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As variedades de palma forrageira apresentaram características morfo-anatômicas bem como histoquímicas importantes para a delimitação taxonômica das espécies e variedades estudadas, tais como: aspectos da cera epicuticular, presença de tricomas, tipos de estômatos, aspectos de células da hipoderme, estruturas secretoras de mucilagem e do parênquima paliçádico, bem como das propriedades estruturais das drusas.

Dentre os principais caracteres que permitiram a clara separação das espécies estão: tricomas não-glandulares, presentes em representantes do gênero *Opuntia* (IPA-100003 e IPA-200008); além do registro inédito de estômatos tetracíticos e hexacíticos na variedade IPA-200021 (*Nopalea*), que podem representar respostas às modificações genéticas promovidas ao longo do processo de produção das variedades bem como plasticidade fenotípica para o caráter estudado; dimorfismo nas células do parênquima paliçádico e armazenador, permitindo novos registros ao gênero *Opuntia* e *Nopalea*.

Corroborando a literatura específica para a família, os principais aspectos relacionados ao grau de resistência e susceptibilidade à *Dactylopius opuntiae* (cochonilha do carmim), certamente, estão associados à estrutura e espessura do ‘*skin*’, que inclui tecidos como a epiderme e a hipoderme, atuando como barreiras físicas e químicas ao ataque desses insetos.

Além disso, a resistência das variedades de palma forrageira a cochonilha do carmim está associada ainda à presença de compostos fenólicos produzidos e armazenados nos diferentes tecidos das espécies e variedades estudadas no presente trabalho, sobretudo, nas variedades IPA-200008 e IPA-100003, cujas características morfológicas são relativamente semelhantes mesmo apresentando diferenças quanto ao grau de susceptibilidade.

No mais, a presença acentuada de lipídeos e amido, sobretudo, nas variedades IPA-100003, IPA-200021 e IPA-200149, na região basal bem como no sistema vascular podem refletir aspectos relacionados à nutrição como a palatabilidade

dessas variedades, uma vez que se observa variações na densidade, no formato e na área dos grãos de amido nas diferentes regiões analisadas do cladódio.

Este estudo reforça a importância de análises morfoanatômicas e histoquímicas, tanto na diferenciação taxonômica das variedades quanto para a compreensão das diferentes estratégias de defesa ao ataque de insetos e outros organismos muito comum em cactos como os aqui estudados. No mais, estudos como este, aliados a análises fitoquímicas, permitirão identificar as substâncias presentes nos diferentes tecidos vegetais e se sua localização e teor interferem em questões nutricionais e produtivas das diferentes variedades.

## APÊNDICE I

**Tabela 8.** Resumo das principais características morfo-anatômicas observadas no seguimento caulinar em variedades do gênero *Opuntia* e *Nopalea*

Gêneros espécies	Resistência cochonilha-do-carmim	Coloração	Cutícula	Início periderme	Epiderme secção transversal	Epiderme vista frontal	Tipos de tricomas	Tipos de estômatos	Localização estômatos	Estrutura secretoras	Formato células P. paliçádico	Camada células hipoderme	Espessura células hipoderme	Drusas hipoderme
<i>Opuntia</i>														
IPA-100003	Susceptível	Verde opaco	Espessa	Região Medial	Ondulada	Paredes sinuosas	Não glandulares	Ciclocíticos	Abaixo do nível	Células, cavidades e canais	Quadrangular e retangular	4 a 5	Espessa	Grande concentração unidas
IPA-200008	Baixa resistência	Verde escuro envernizado	Espessura média	Região Medial	Ondulada	Paredes sinuosas	Não glandulares	Hexacíticos	Levemente acima do nível	Células e cavidades	Quadrangular e retangular	2 a 3	Espessa	Grande concentração unidas
IPA-200016	Resistente	Verde esc. pálido com nerv. claras	Espessura média	Região Apical	Plana	Paredes retas	--	Ciclocíticos	Ao mesmo nível	Células, cavidades e canais	Quadrangular e retangular	2 a 3	Espessa	Média concentração e espaçadas
IPA-200149	Resistente	Verde azulado opaco	Espessa	Região Apical	Plana	Paredes retas	--	Ciclocíticos	Levemente acima do nível	Células, cavidades e canais	Quadrangular e retangular	4 a 5	Espessa	Média concentração e espaçadas
<i>Nopalea</i>														
IPA-100004	Resistente	Verde com nerv. claras	Delgada	Região Apical	Ondulada	Paredes sinuosas	--	Hexacíticos	Ao mesmo nível	Células e canais	Quadrangular e retangular	3 a 4	Delgada	Pouquíssimas e bem espaçadas
IPA-200021	Baixa resistência	Verde claro com nerv. amareladas	Delgada	Região Medial	Ondulada	Paredes sinuosas	--	Tetracíticos e Hexacíticos	Ao mesmo nível	Células e canais	Quadrangular e retangular	3 a 4	Delgada	Pouquíssimas e bem espaçadas
IPA-200205	Resistente	Verde esc. opaco tons amarelo queimado	Delgada	Região Basal	Plana	Paredes retas	--	Ciclocíticos	Ao mesmo nível	Células e cavidades	Quadrangular e retangular	3 a 4	Delgada	Média concentração e espaçadas

Cutícula delgada (1 a 5,0 µm); cutícula média espessura (5,0 a 10 µm); cutícula espessa (10 a 17 µm). Hipoderme delgada (1 a 52 µm); hipoderme média espessura (53 a 90 µm); hipoderme espessa (91 a 145 µm). (-) Não encontrado.

**Tabela 9.** Resumo das principais estruturas anatômicas relacionadas ao mecanismo de defesa das variedades de palma forrageira à *Dactylopius opuntiae* (cochinilha-do-carmim)

Gêneros e espécies	Nível de resistência a cochonilha-do-carmim	Cutícula	Tricomas	Formação periderme	Paredes epiderme	Espessura da hipoderme	Drusas hipoderme	Acúmulo compostos fenólicos	Nº de amidos nas células
<b>Opuntia</b>									
IPA-100003	Susceptível	Espessa	Não glandulares	Região Medial	Sinuosas	Espessa	Grande concentração unidas continuamente	Células do parênquima cortical	Média produção
IPA-200008	Baixa resistência	Média espessura	Não glandulares	Região Medial	Sinuosas	Média espessura	Grande concentração unidas continuamente	Células do parênquima cortical	Baixa produção
IPA-200016	Alta resistência	Delgada	-	Região Apical	Retas	Média espessura	Média concentração e espaçadas	Células da epiderme e hipoderme	Média produção
IPA-200149	Alta resistência	Espessa	-	Região Apical	Retas	Espessa	Média concentração e espaçadas	Células do parênquima cortical	Alta produção
<b>Nopalea</b>									
IPA-100004	Alta resistência	Delgada	-	Região Apical	Sinuosas	Delgada	Pouquíssimas e bem espaçadas	Células da epiderme, hipoderme e Parênquima cortical	Baixa produção
IPA-200021	Baixa resistência	Delgada	-	Região Medial	Sinuosas	Delgada	Pouquíssimas e bem espaçadas	Células da epiderme, hipoderme e Parênquima cortical	Alta produção
IPA-200205	Alta resistência	Delgada	-	Região Basal	Retas	Delgada	Média concentração e espaçadas	Células da epiderme, hipoderme e Parênquima cortical	Baixa produção

Cutícula delgada (1 a 5,0 µm); cutícula média espessura (5,0 a 10 µm); cutícula espessa (10 a 17 µm).

Hipoderme delgada (1 a 52 µm); hipoderme média espessura (53 a 90 µm); hipoderme espessa (91 a 145 µm).

(-) Não encontrado. < 10unidades – baixa produção; 10-16 unidades - média produção; > 17 unidades - alta produção de amido.

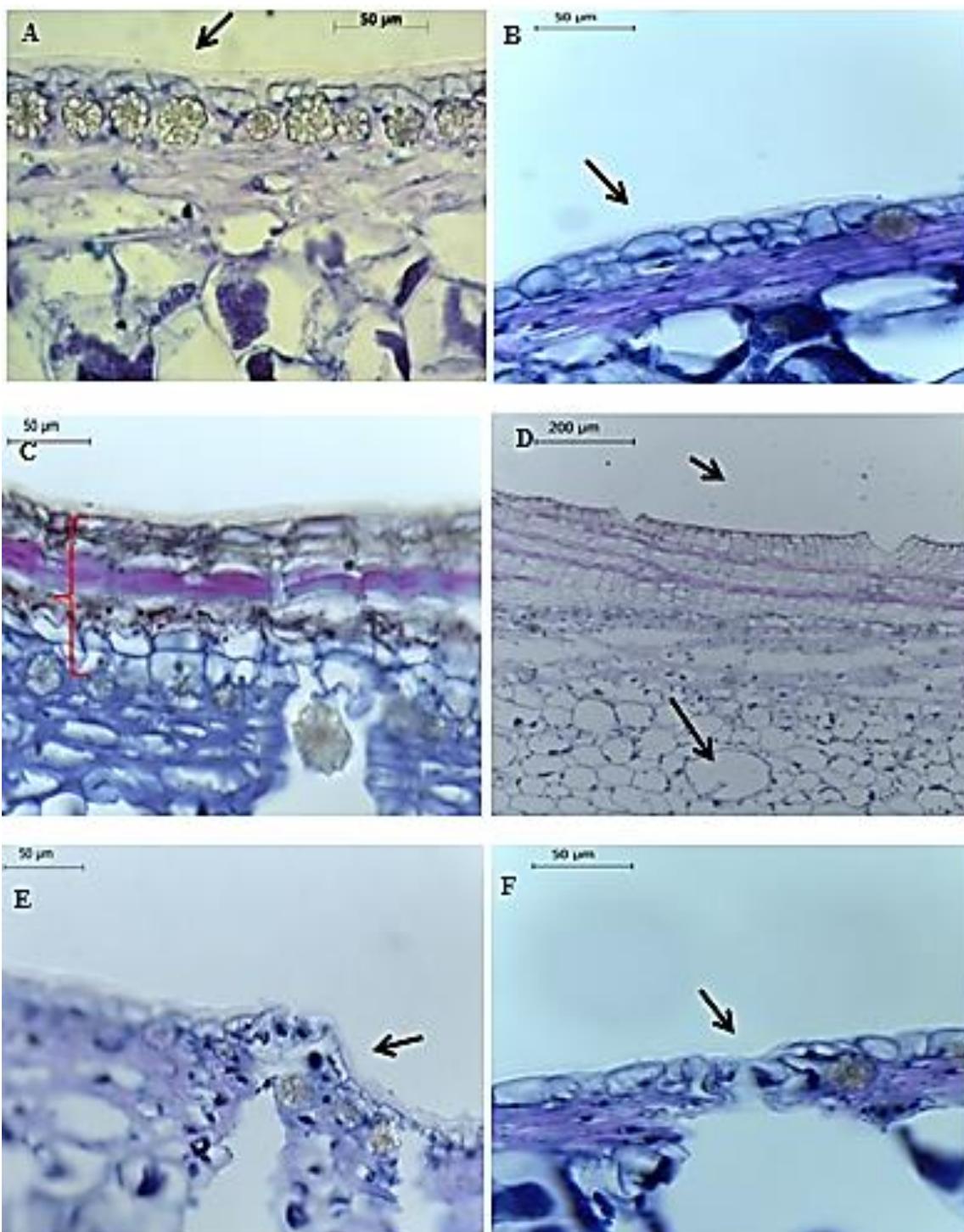
## APÊNDICE II



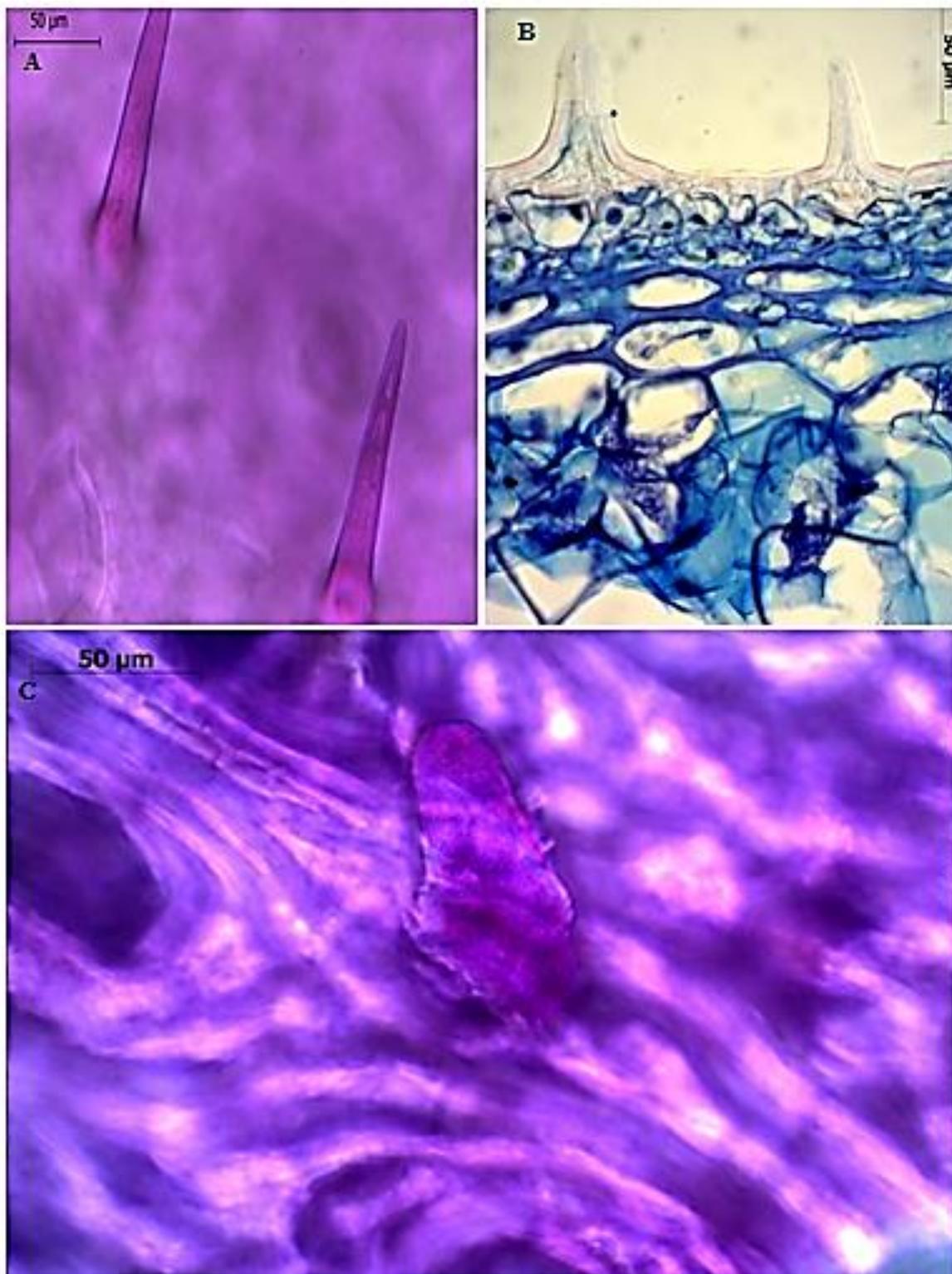
**Figura 4.** Material para coleta. **A:** Palmal estabelecido; **B:** Amostras coletadas nas regiões apical, medial e basal.



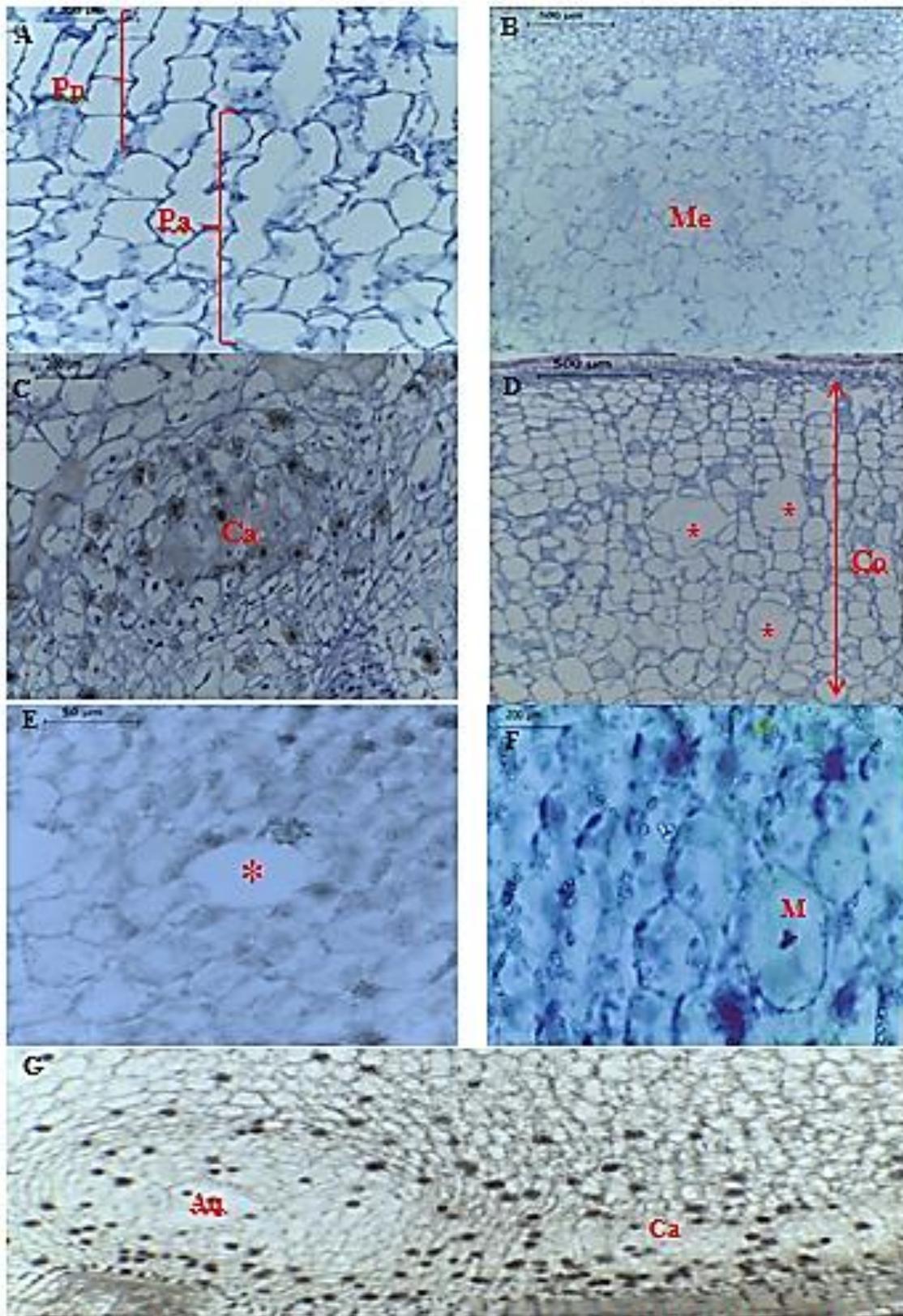
**Figura 5.** Variedades trabalhadas. **A:** *Opuntia ficus-indica* Mill-IPA-100003/IPA-20; **B:** *Opuntia atropes* Rose-IPA-200008/F-08; **C:** *Opuntia strica* Haw-IPA-200016/Orelha de Elefante Mexicana; **D:** *Opuntia larreri* -IPA-200149/ Palma Azul; **E:** *Nopalea cochenillifera* -IPA-10004/Miúda; **F:** *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck - IPA-200021/F-21; **G:** *Nopalea cochenillifera* -IPA-200205/Sertânia.



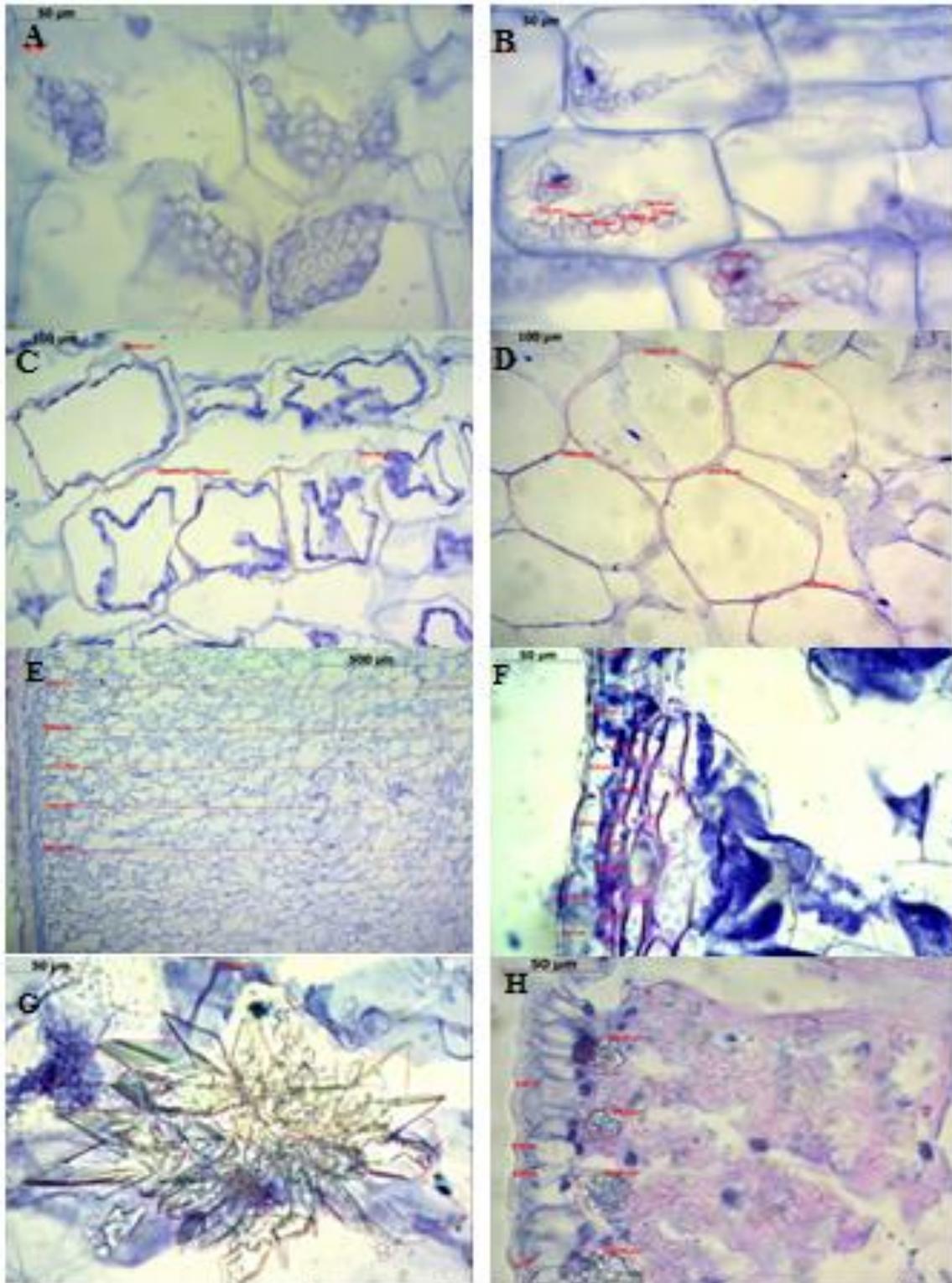
**Figura 6.** Estruturas anatômicas do segmento caulinar em seções transversais. **A:** Cutícula espessa (seta), epiderme levemente ondulada, barreira de drusas e hipoderme composta por cinco camadas células; em *Opuntia ficus-indica* Mill IPA-100003 **B:** Cutícula delgada (seta), epiderme com divisão celular, hipoderme composta por quatro camadas de células em *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck IPA-100004; **C:** Periderme (chave), divisão do felogênio e feloderme em *Opuntia atropes* Rose IPA-200008; **D:** Súber em *Opuntia stricta* Haw IPA-200016; **E:** Estômato acima do nível das células da epiderme e câmara subestomática (setas) em *Opuntia atropes* Rose IPA-200008; **F:** Estômato ao mesmo nível das células da epiderme em *Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck IPA- 100004.



**Figura 7.** Material de dissociação. **A:** Tricomas com base robusta e ápice fina em *Opuntia atropes* Rose IPA-200008 na região basal (vista frontal); **B:** Tricomas na região medial (seção transversal) em *Opuntia atropes* Rose IPA-200008. **C:** Tricomas todo robusto na região basal (vista frontal) em *Opuntia ficus-indica* Mill IPA-100003.



**Figura 8.** Estruturas anatômica do sistema fundamental em *Opuntia ficus-indica* Mill IPA-100003. **A:** Subdivisão no parênquima: (Pp) parênquima paliçádico, (Pa) parênquima armazenador; **B:** Medula; **C:** Canal secretor de (Ca) envolvido por drusa; **D:** Organização das células no córtex (Co); **E:** Cavidades de mucilagem (\*); **F:** Células de mucilagem; **G:** Aquífero e canal mucilaginoso.



**Figura 9.** Biometria em seção transversal. **A:** Número de amido armazenado nas células da medula em IPA-200205 *Nopalea cochenillifera*; **B:** Biometria dos grãos de amido na mesma variedade. **C:** Avaliação das células do parênquima paliádico em IPA-200016 *Opuntia strica* Haw. **D:** Medidas das células do parênquima armazenador. **E:** Avaliação da área do córtex em IPA-200021 **F:** Medição da epiderme e hipoderme da mesma variedade. **G:** Avaliação de drusas no parênquima armazenador. IPA-200205. **H:** Medidas da cutícula na variedade IPA-200149 Barras: 20 µm (A e B); 40µm.

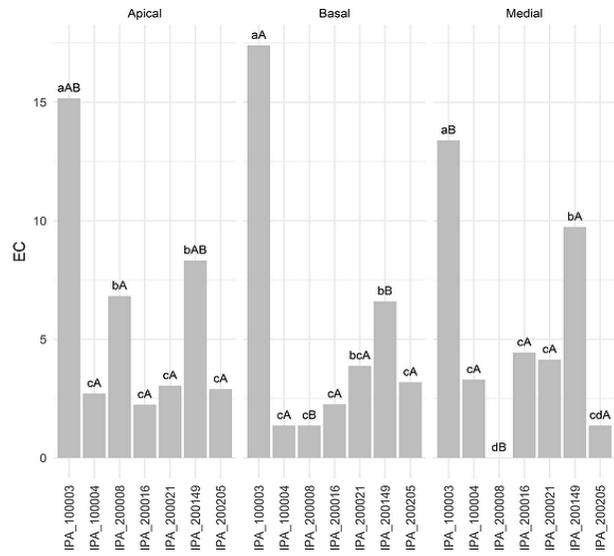


Figura 10. Espessura de cutícula

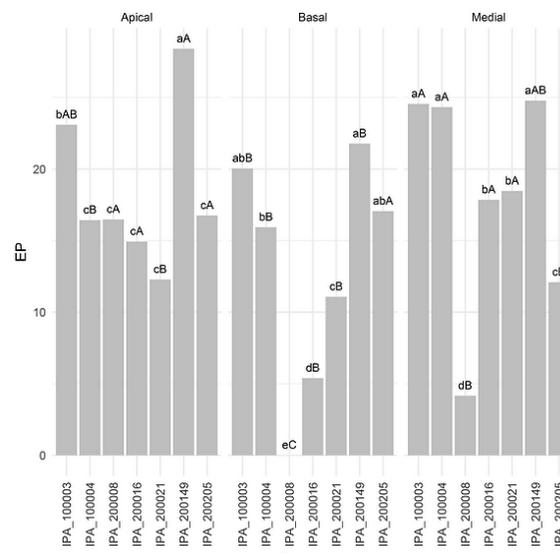


Figura 11. Espessura da epiderme

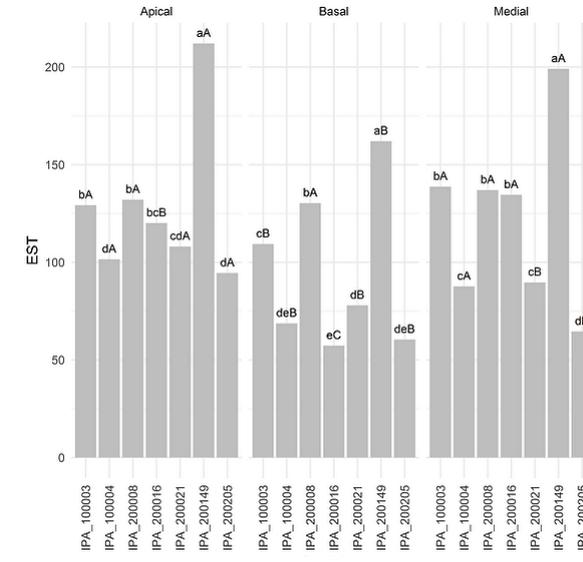


Figura 12. Número de estômatos na epiderme.

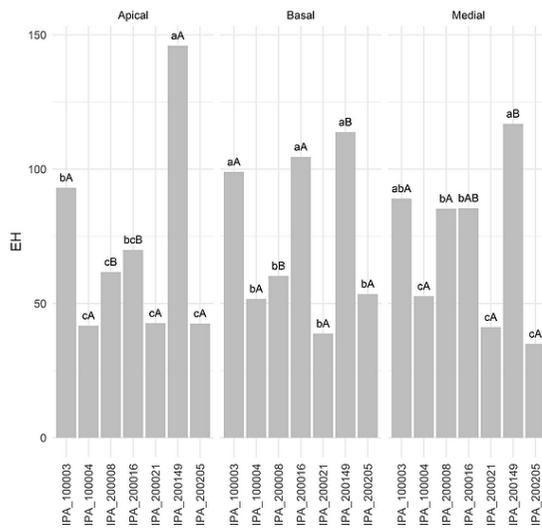


Figura 13. Espessura de hipoderme

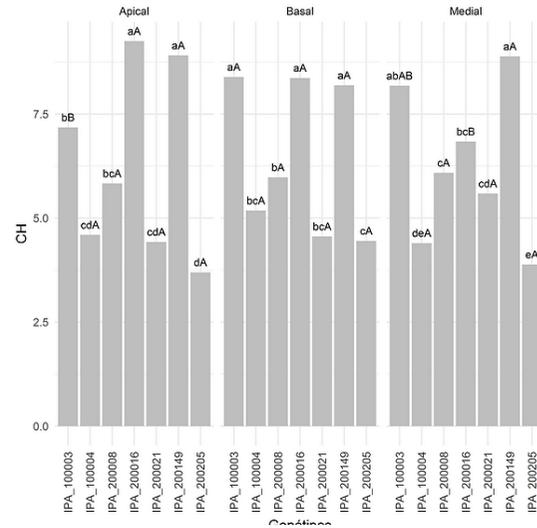


Figura 14. Espessura das células na hipoderme

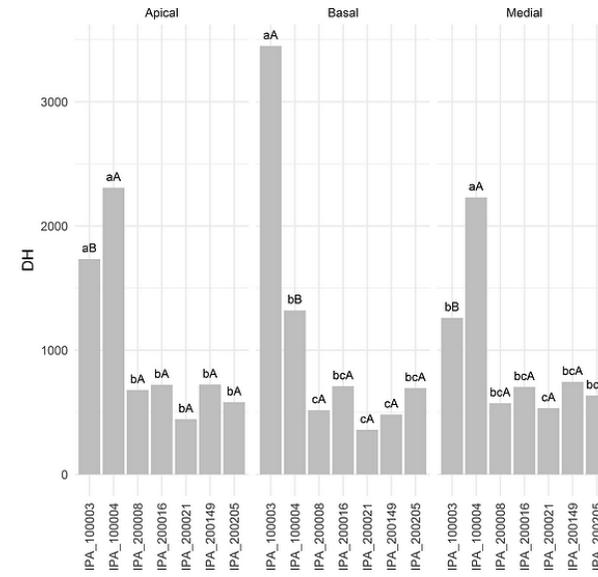


Figura 15. Diâmetro das drusas na hipoderme

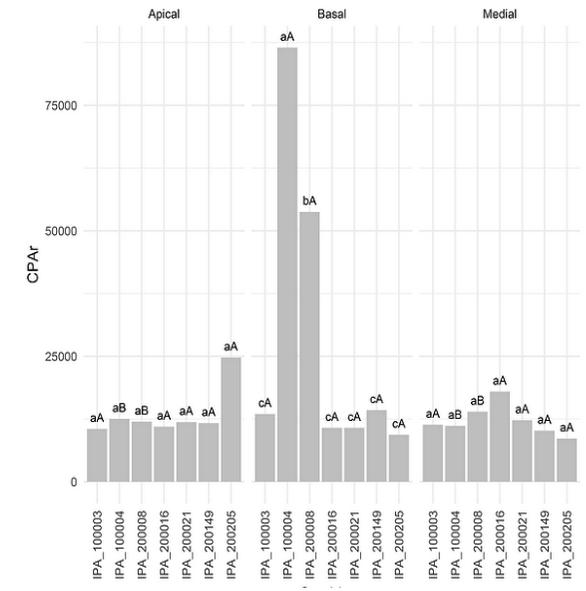
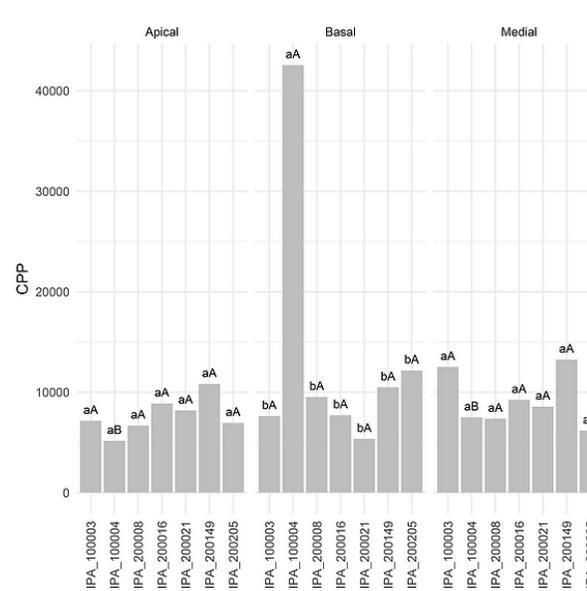
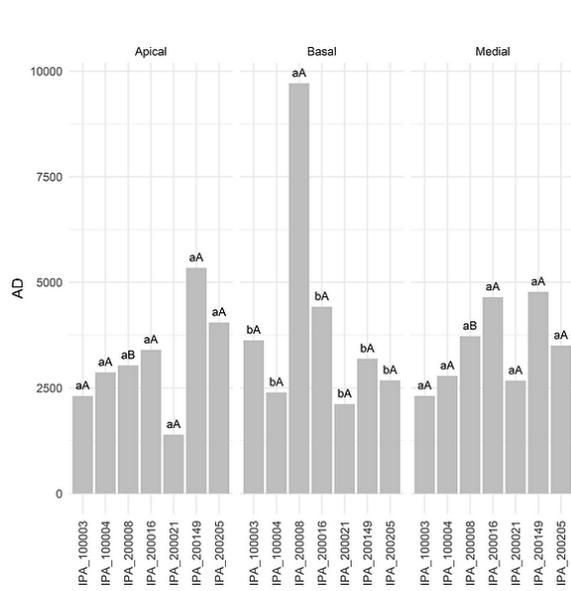


Figura 16. Diâmetro da drusa no córtex. Figura 17. Diâmetro das células do parênquima paliçádico. Figura 18. Diâmetro das células do parênquima armazenador

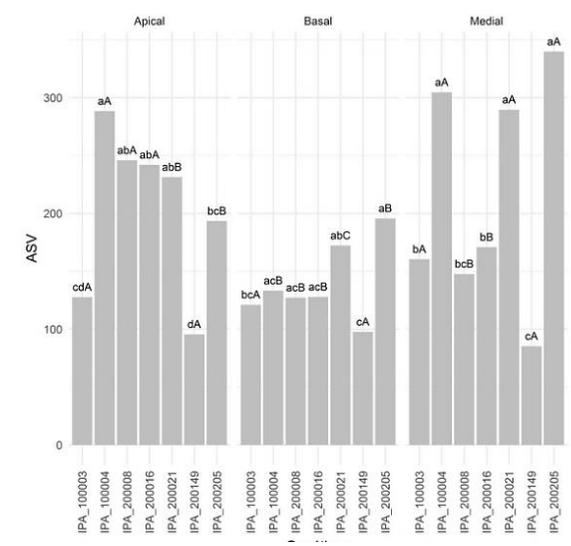
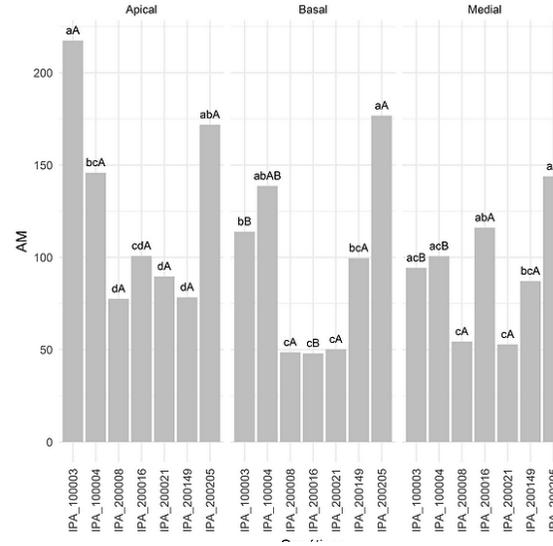
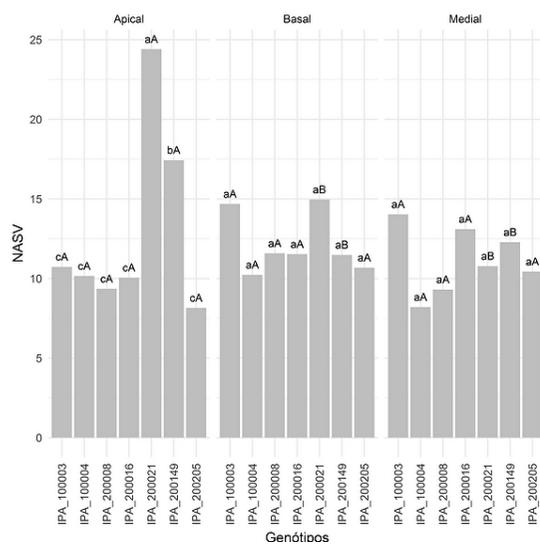


Figura 19. Número de amido nas células do sistema vascular

Figura 20. Diâmetro do amido da medula

Figura 21. Diâmetro do amido no sistema vascular

## ANEXO

Normas para submissão de trabalhos científicos na revista *Nature Plants*

### **Brief guide for submission to Nature Plants**

This guide outlines key points for preparing primary research manuscripts for submission to *Nature Plants*. The corresponding author should be familiar with the *Nature* journals' editorial policies and is solely responsible for communicating with the journal and managing communication between coauthors. Before submission, the corresponding author ensures that all authors are included in the author list and agree with its order, and that they are aware the manuscript is to be submitted. For more information on editorial and authorship policies please review our Guide to Authors.

#### **Cover letter**

Although optional, the cover letter is an excellent opportunity to briefly discuss the context and importance of the submitted work and why it is appropriate for the journal. Please avoid repeating information that is already present in the abstract and introduction. The cover letter is not shared with the referees, and should be used to provide confidential information, such as conflicts of interest, and to declare any related work that is in press or submitted elsewhere.

#### **Main manuscript**

The *Nature* journals are flexible with regard to the format of initial submissions. Within reason, style and length will not influence consideration of a manuscript. If revisions are requested, the editor will provide detailed formatting instructions at that time. For information on length and formatting consult *Nature Plants*' content types.

#### **Title**

Titles should be 100 characters including spaces or less and avoid technical terms, abbreviations, punctuation and active verbs.

#### **Authors**

Corresponding author(s) should be identified with an asterisk.

### **Abstract**

Provide a general introduction to the topic and a brief nontechnical summary of your main results and their implication.

### **Methods**

The Methods section appears in all online original research articles and should contain all elements necessary for interpretation and replication of the results. Methods should be written as concisely as possible and typically do not exceed 3,000 words. Methods-only references do not count against your reference limit. We encourage you to deposit any step-by-step protocols used in your study in Protocol Exchange, an open resource maintained by NPG. These protocols are linked to the Methods section upon publication.

### **References**

These may only contain citations and should list only one publication with each number. Include the title of the cited article or dataset.

### **Acknowledgements** (optional)

Keep acknowledgements brief and do not include thanks to anonymous referees or editors, or effusive comments. Grant or contribution numbers may be acknowledged.

### **Author contributions**

You must include a statement that specifies the individual contributions of each co-author. For example: "A.P.M. 'contributed' Y and Z; B.T.R. 'contributed' Y," etc. See our authorship policies for more details.

### **Competing financial interests**

Submission of a competing financial interests statement is required for all content of the journal.

### **Materials & Correspondence**

Indicate the author(s) to whom correspondence and material requests should be addressed.

### **Tables**

Each table should be submitted as a word document and accompanied by a short title sentence describing what the table shows. Further details can be included as footnotes to the table.

### **Figures**

High-resolution image files are not required at initial submission, but please ensure that images are of sufficient resolution for referees to properly assess the data. If necessary, supply separate image files or deposit image data in a suitable repository (e.g. figshare) for this purpose. Should your manuscript be accepted, you will receive more extensive instructions for final submission of display items. However, some guidelines for final figure preparation are included below and here if you wish to minimize later revisions and possible delays.

- Provide images in RGB color and at 300 dpi or higher resolution.
- Use the same typeface (Arial or Helvetica) for all figures. Use symbol font for Greek letters.
- Use distinct colors with comparable visibility and avoid the use of red and green for contrast. Recoloring primary data, such as fluorescence images, to color-safe combinations such as green and magenta or other accessible color palettes is strongly encouraged. Use of the rainbow color scale should be avoided.
- Figures are best prepared at the size you would expect them to appear in print. At this size, the optimum font size is 7pt.
- We prefer vector files with editable layers. Acceptable formats are: .ai, .eps, .pdf, .ps and .svg for fully editable vector-based art; layered .psd and .tif for editable layered art; .psd, .tif, .png and .jpg for bitmap images; .ppt if fully editable and without styling effects; ChemDraw (.cdx) for chemical structures.

Figure legends of < 300 words each should begin with a brief title sentence for the whole figure and continue with a short statement of what is depicted in the figure, not the results (or data) of the experiment or the methods used. Legends should be

detailed enough so that each figure and caption can, as far as possible, be understood in isolation from the main text.

### **Statistical information**

Comprehensive information on the statistical analyses used must be included in the paper. The Methods must include a statistics section where you describe the statistical tests used and whether they were one- or two-tailed. Please ensure that the error bars are defined throughout the figures. For all statistics (including error bars), provide the EXACT n values used to calculate the statistics (reporting individual values rather than a range if n varied among experiments). For representative results, report the number of times that the measurements were repeated. Where relevant, provide exact values for both significant and non-significant P values. For ANOVAs, provide F values and degrees of freedom. For t-tests, provide t-values and degrees of freedom. Please specifically define the replicates.

### **Supplementary information**

Please submit supplementary figures, small tables and text as a single combined pdf (with the pieces in the order: text, figures, tables). Please limit figures to 10 or less. Tables longer than one page should be provided as an Excel or similar file type. For optimal quality video files please use H.264 encoding, the standard aspect ratio of 16:9 (4:3 is second best) and do not compress the video. We encourage submission of step-by-step synthesis procedures for chemical compounds and data on compound characterization. Supplementary information is not copy-edited, so please ensure that it is clearly and succinctly presented, and that the style and terminology conform to the rest of the manuscript.

### **Computer code**

Any previously unreported custom computer code used to generate results reported in the manuscript that are central to the main claims must be made available to editors and referees upon request. Any practical issues preventing code sharing will be evaluated by the editors who reserve the right to decline the manuscript if important code is unavailable. At publication, Nature journals consider it best practice to release custom computer code in a way that allows readers to repeat the published results. For all studies using custom code that is deemed central to the

conclusions, a statement must be included in the Methods section, under the heading "Code availability", indicating whether and how the code can be accessed, including any restrictions.

### **Life sciences reporting guidelines**

Life sciences research manuscripts sent for external review must include relevant details about several elements of experimental and analytical design. These requirements aim to improve the transparency of reporting and the reproducibility of published results. They focus on elements of methodological information that are frequently poorly reported. You must complete a reporting checklist to indicate where these details are presented in your manuscript prior to peer review. The completed checklist will be provided to the referees. Guidance and resources related to the use and reporting of statistics are available.

### **Related manuscripts**

It is a requirement of submission that you alert us to any related manuscripts with overlapping authorship that are under consideration (including under appeal) or in press at other journals. Copies of these manuscripts should be clearly marked and included as separate files with your submission. Abstracts or other unrefereed preprints do not compromise novelty.

### **Preprint servers**

The Nature journals support the posting of submitted manuscripts on non-commercial preprint servers such as arxiv and biorxiv. We do, however, ask you to respect the following summaries of our policies:

- The original submitted version may be posted at any time.
- The accepted version may be posted 6 months after publication.
- The published version—copyedited and in Nature journal format—may not be posted on a preprint server or other website.

### **Double-blind peer review**

To participate in double-blind peer review, please prepare your manuscript in a way that conceals the identities of all the authors (see checklist) and tick the appropriate

box during online submission. Please note that editors do not ensure that the paper is properly anonymized; that is the responsibility of the authors.

### **Transferring your manuscript**

If an editor is unable to offer publication of your manuscript, you have the opportunity to transfer all manuscript materials, the decision letter and any referee comments to a selection of Springer Nature journals without re-entering submission information. Use the link in your decision letter to explore suggested alternative journals. You may then initiate the transfer process to the journal of your choice or submit elsewhere. Please see this page for more information.

### **Appeals**

Authors who feel that they have strong grounds for appealing a decision may contact the journal to request the opening of an appeal, after which they may upload a cogently argued rebuttal letter that addresses the referees' and/or editor's comments in a point-by-point manner. Decisions are reversed on appeal only if the editors are convinced that the original decision was made in error, or if critical new information or data has been added.

### **Comments on published articles**

Important scientific comments and clarifications on content published in Nature Plants may be submitted as Correspondence.

### **Questions and manuscript submission**

General editorial enquiries should be addressed to the Editor at [plants@nature.com](mailto:plants@nature.com). Manuscripts should be submitted through our online submission system. Further submission details are available [here](#).