

DETERMINAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO, HISTOLOCALIZAÇÃO E ANATOMIA FOLIAR DE *CITRUS X AURATIUM* L. (RUTACEAE) E *GENIPA AMERICANA* L. (RUBIACEAE)

Andréa Vidal dos Santos¹; Karina Perrelli Randau²

¹Estudante do Curso de Farmácia – CCS – UFPE; E-mail: deamarcelino@gmail.com

²Docente/pesquisador do Depto de Farmácia – CCS – UFPE. E-mail: krاندau@hotmail.com

Sumário: Dentre as plantas da flora brasileira, as espécies frutíferas, como a laranja amarga e o jenipapo, vem ocupando um lugar de destaque pelo crescente interesse do uso destas para fins medicinais. Este projeto tem como propósito caracterizar a anatomia foliar, determinar o perfil fitoquímico e a histoquímica de *Citrus x aurantium* e *Genipa americana*. Foram confeccionadas e analisadas em microscópio óptico lâminas semipermanentes contendo secções transversais e paradérmicas de folhas; utilizou-se ainda o microscópio eletrônico de varredura (MEV) para observar a ultraestrutura foliar. Os principais grupos de metabólitos presentes nas folhas das espécies foram caracterizados por Cromatografia em Camada Delgada. Por fim, foram realizados testes histoquímicos em secções transversais das folhas. Com a análise microscópica foi possível identificar caracteres úteis para sua identificação. Através da fitoquímica, foram detectados nas folhas de ambas as espécies mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteroides, saponinas, flavonoides e derivados cinâmicos. Alguns desses metabólitos e outros compostos, como lignina e amido, puderam ser visualizados em seus locais de acúmulo nas células vegetais. O estudo farmacognóstico de *Citrus x aurantium* e *Genipa americana* possibilita o estabelecimento de parâmetros de qualidade para as espécies estudadas, visto que as mesmas não apresentam monografias apropriadas em códigos oficiais atuais.

Palavras-chave: anatomia vegetal; *Citrus x aurantium*; fitoquímica; *Genipa americana*; histoquímica

INTRODUÇÃO

Dentre as plantas da flora brasileira, as espécies frutíferas vem ocupando um lugar de destaque pelo crescente interesse do uso destas para fins medicinais (FERREIRA; FERREIRA; CARVALHO, 1987). *Citrus aurantium* L., membro da família Rutaceae, conhecida por suas espécies cítricas fortemente aromáticas, é popularmente usada contra insônia, ansiedade e também como anticonvulsivante (CARVALHO-FREITAS; COSTA, 2002; PERVEEN; QAISER, 2005). Pertencente à família Rubiaceae, uma das maiores famílias de Angiospermas e uma das principais da flora brasileira, *Genipa americana* L. é utilizada comumente na população com finalidade terapêutica, apresentando ações antidiarreica, antissifilítica e anti-anêmica (CORRÊA, 1984; SOUZA; LORENZI, 2005). O uso terapêutico dessas espécies frutíferas reforçam a ideia de padronizar suas características, assunto não muito contemplado, do ponto de vista farmacognóstico, em trabalhos científicos (FERREIRA; FERREIRA; CARVALHO, 1987). Diante do exposto, este projeto tem como objetivo caracterizar o perfil fitoquímico, histoquímico e botânico de *Citrus x aurantium* L. (laranja amarga) e *Genipa americana* L. (jenipapo), determinando sua composição qualitativa por cromatografia em camada delgada, a localização de seus metabólitos por microscopia de luz e a descrição das estruturas que compõe sua anatomia por microscopia óptica de luz e microscopia eletrônica de varredura.

MATERIAIS E MÉTODOS

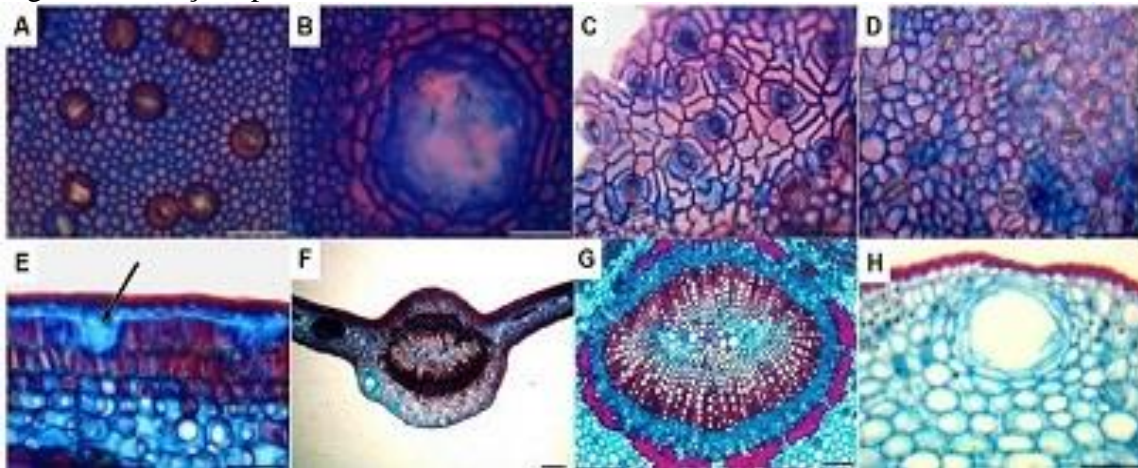
As folhas das espécies frutíferas foram coletadas em Recife-PE, Brasil. Exsicatas foram encaminhadas ao Herbário Dárdano de Andrade Lima, na Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA), para legitimação da identificação botânica, sob os números de tombamento 89972 (*Citrus x aurantium* L.) e 89999 (*Genipa americana* L.).

Foram confeccionadas e analisadas em microscópio óptico lâminas semipermanentes contendo secções transversais e paradérmicas de folhas, seguindo procedimentos usuais em anatomia vegetal (JOHANSEN, 1940); utilizou-se ainda o microscópio eletrônico de varredura (MEV) para observar a ultraestrutura foliar, no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). Os principais grupos de metabólitos presentes nas folhas das espécies foram caracterizados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando o extrato metanólico obtido por decocção. Por fim, testes histoquímicos permitiram localizar os constituintes químicos em secções transversais das folhas (JOHANSEN, 1940; JENSEN, 1962).

RESULTADOS

Em vista frontal, a epiderme superior das folhas de *Citrus x aurantium* não possui estômatos. Entretanto, apresenta idioblastos contendo cristais prismáticos (Fig. 1A) e cavidades secretoras (Fig. 1B). Na face abaxial, entre as células de contorno variando de poligonal a sinuoso, estão presentes estômatos classificados como anomocíticos (Fig. 1C). Além de estômatos, estão presentes nesta face inclusões em forma de cristais prismáticos (Fig. 1D). Em corte transversal as células da única camada de epiderme apresentam uma cobertura espessa de cutícula. O mesofilo dorsiventral apresenta dois estratos de parênquima paliçádico, cujas células apresentam idioblastos, onde estão inseridos cristais prismáticos (Fig. 1E). No parênquima lacunoso são vistas de quatro a oito camadas celulares.

Figura 1 – Secções paradérmicas e transversais de folhas de *Citrus x aurantium*

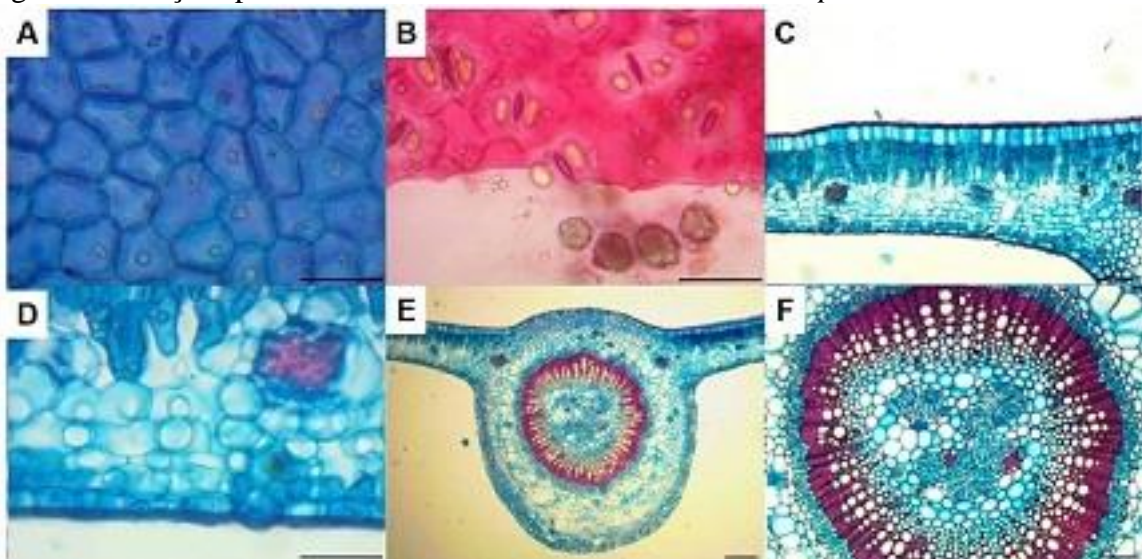


A – Idioblastos contendo cristais prismáticos; B – Cavidade secretora; C – Células de contornos variáveis e estômatos anomocíticos; D – Idioblastos contendo cristais prismáticos; E – Mesofilo; a seta aponta estrutura onde cristais prismáticos estão contidos; F – Nervura principal da folha; G – Organização central dos feixes vasculares; H – Detalhe dos canais secretores próximos à epiderme superior. Barras: A, B, C, D, E e H - 50 µm; F e G - 100 µm. Fonte: autor próprio.

A nervura central possui formato biconvexo, onde a face inferior apresenta maior proeminência (Fig. 1F). Sequencialmente à camada de epiderme, um colênquima angular com aproximadamente quatro camadas está presente. Na região central, os feixes vasculares colaterais são organizados em um círculo central (Fig. 1G). Ao redor do floema,

de forma protetora, está uma bainha de fibras esclerenquimáticas. Na região do parênquima medular, cristais prismáticos intracelulares estão presentes (Fig. 1G). Próximo às epidermes, cavidades secretoras de tamanhos variados estão distribuídas (Fig. 1H). Em corte paradérmico, as células epidérmicas adaxiais de *Genipa americana* apresentam contornos poligonais a pouco sinuosos (Fig. 2A). Já na face abaxial, as células têm contornos pouco sinuosos e pode-se notar a presença de estômatos do tipo anisocíticos (Fig. 2B). Cristais do tipo drusa também aparecem na epiderme abaxial (Fig. 2B). Em corte transversal, a epiderme, coberta por uma cutícula espessa, é composta apenas por uma camada de células e o mesofilo é dorsiventral, munido de duas camadas de parênquima paliádico e aproximadamente cinco camadas de parênquima lacunoso (Fig. 2C). Alguns feixes vasculares secundários podem ser vistos no mesofilo, bem como drusas (Fig. 2D). A nervura principal das folhas de *G. americana* apresenta formato plano convexo, sendo a parte proeminente a inferior (Fig. 2E). Após a monocamada epidérmica, seguem-se, aproximadamente, cinco camadas de colênquima angular. No parênquima, nota-se a presença de inclusões cristalinas do tipo drusa (Fig. 2E). Os feixes vasculares colaterais estão organizados em forma de um grande cilindro central. Ao centro do cilindro vascular principal, há uma vascularização medular acessória (Fig. 2F). Através do MEV foi possível observar a ultra-estrutura foliar das duas espécies estudadas, mostrando com mais detalhes os aspectos observados na microscopia de luz.

Figura 2 – Secções paradérmicas e transversais de folhas de *Genipa americana*



A – Células de contorno poligonal contendo inclusões irregulares; B Estômatos anisocíticos e drusas; C Mesofilo dorsiventral; D Inclusão presente na região inferior do mesofilo; E Nervura principal; F Cilindro central formado pelos sistemas de condução e em seu interior uma vascularização mais jovem junto da qual observam-se inclusões. Barras: A, B, C e D - 50 μm ; C, E e F - 100 μm . Fonte: autor próprio.

Na prospecção fitoquímica, foram identificados em ambas as espécies mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteroides, saponinas, flavonoides e derivados cinâmicos. Os testes foram negativos também em ambas as espécies para cumarinas, taninos condensados e hidrolisáveis e antraquinonas. Com relação aos testes histoquímicos em secções transversais de folhas de *Citrus x aurantium*, observa-se a presença de compostos fenólicos na região do mesofilo, principalmente no parênquima paliádico e ao redor de canais secretores. Há lignificação de vasos lenhosos e esclerênquima. Compostos lipídicos são evidentes, estando na forma de gotículas próximas aos canais secretores, bem como dispersas no mesofilo e recobrando a epiderme. Os óleos essenciais foram evidenciados próximos à epiderme, concentrando-se na região interna e ao redor dos canais secretores.

Pode-se confirmar a natureza dos cristais como sendo de oxalato de cálcio após a adição do reagente específico. Nas secções transversais de *Genipa americana* grãos de amido foram identificada na nervura principal e mesofilo. Os compostos fenólicos estão presentes nas células que constituem o parênquima paliçádico. Os vasos lenhosos mostram-se lignificados. Compostos lipofílicos foram evidenciados na cutícula e no parênquima paliçádico. O teste com ácido clorídrico confirmou que os cristais são de oxalato de cálcio.

DISCUSSÃO

Embora os estômatos típicos das Rutaceae sejam do tipo paracítico (METCALFE; CHALK, 1979), nas folhas de *Citrus x aurantium* foram observados estômatos anomocíticos. A presença de cristais prismáticos e de cavidades secretoras é comum em espécies cítricas (OLIVEIRA; OLIVEIRA; AKISUE, 2009). A vascularização medular acessória visualizada em *Genipa americana* corrobora os estudos de Metcalfe e Chalk (1979). A prospecção fitoquímica revelou a presença de vários grupos de metabólitos secundários já reportados na literatura que podem contribuir para a identificação de marcadores químicos para as espécies estudadas.

CONCLUSÕES

O estudo farmacognóstico de *Citrus x aurantium* e *Genipa americana*, frutíferas utilizadas no Nordeste com ação medicinal, possibilita o estabelecimento de parâmetros de qualidade para as espécies estudadas, visto que as mesmas não apresentam monografias apropriadas em códigos oficiais atuais.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq e à professora orientadora Profa. Dra. Karina Perrelli Randau.

REFERÊNCIAS

- Carvalho-Freitas, M. I. R. & Costa, M. 2002. Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25: 1629-1633.
- Corrêa, P. M. 1984. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. IBDF. Rio de Janeiro.
- Ferreira, F. R., Ferreira, S. A. N. & Carvalho, J. E. U. 1987. Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 9: 11-22.
- Jensen, W. A. 1962. *Botanical histochemistry, principles and practice*. W. H. Freeman. San Francisco.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Co. Inc. New York.
- Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons*. Claredon Press. Oxford.
- Oliveira, F., Akisue, G. & Akisue, M. K. 1996. *Farmacognosia*. Atheneu. São Paulo.
- Perveen, A. & Qaiser, M. 2005. Pollen Flora of Pakistan -XIV. Rutaceae. *Pakistan Journal of Botany*, 37: 495-501.