

## DIAGNOSE ANATÔMICA FOLIAR E CAULINAR DE FRUTO-DE-POMBO: *RHAMNUS SPHAEROSPERMA* SW. VAR. *PUBESCENS* (REISSEK) M.C. JOHNST.

### Descritores

camada subepidérmica,  
canal secretor,  
mucilagem, *Rhamnus*  
*sphaerosperma*, tricoma  
tector

Márcia R. Duarte<sup>1</sup>  
Jane M. Budel<sup>2</sup>  
Márcia M. Ramos<sup>3</sup>

### Descriptors

mucilage, non-glandular  
trichome, *Rhamnus*  
*sphaerosperma*, secretory  
canal, sub-epidermal layer

### Biografia

1. Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná.
2. Coordenadora do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas do Brasil -UniBrasil.
3. Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná,

### RESUMO

O gênero *Rhamnus* compreende espécies arbóreas e arbustivas inermes, de folhas simples peninérveas e frutos drupáceos. Dentre os representantes de uso medicinal do táxon, destacam-se cáscara-sagrada (*R. purshiana*) e frângula (*R. frangula*), com propriedades laxantes devido à presença de antraquinonas. Este trabalho trata da diagnose anatômica de folha e caule da mesma, com a finalidade de caracterizá-la microscopicamente. O material botânico foi preparado em microscopia fotônica e eletrônica de varredura. A folha é hipostomática, apresentando estômatos do tipo anomocítico. Tricomas tectores longos, pluricelulares e unisseriados, predominam na face abaxial. O mesófilo é dorsiventral e há uma camada subepidérmica parenquimática junto à superfície adaxial, drusas e células mucilaginosas. A nervura central e o pecíolo são percorridos por um feixe vascular colateral. No caule, no nível analisado, a epiderme persiste, o felogênio tem instalação periférica e ocorrem fibras gelatinosas, fibras lignificadas e um cilindro floemático externo ao xilemático. Canais secretores, drusas e células com compostos fenólicos estão presentes na nervura central, no pecíolo e no caule.

### ABSTRACT

The genus *Rhamnus* comprehends trees and shrubs bearing no thorns, with pinnate and simple leaves and drupe-like fruits. Among the medicinal species of this taxon, it occurs cascara (*R. purshiana*) and frangula (*R. frangula*), which have laxative properties due to anthraquinones. In folk medicine, *R. sphaerosperma* var. *pubescens* is viewed as having similar activity

and is indicated for treating constipation. The botanical material was prepared according to standard methods for light and scanning electron microscopy. The leaf is hypostomatic, presenting anomocytic stomata. Non-glandular trichomes, long, multicellular and uniseriate, predominate on the abaxial side. The mesophyll is dorsiventral and it is encountered a parenchymatic sub-epidermal layer, druses and mucilage cells. The midrib and petiole are traversed by one collateral vascular bundle. In the stem, at the level analysed, the epidermis remains, the phellogen is formed superficially and it occurs gelatinous and lignified fibres, and a phloem cylinder external to the xylem one. Secretory canals, druses and cells containing phenolic compounds are present in the midrib, petiole and stem.

## INTRODUÇÃO

A família Rhamnaceae A.L. Jussieu compreende cerca de 45 gêneros e 850 espécies de ocorrência praticamente cosmopolita. Embora apresente maior concentração de representantes em regiões tropicais<sup>(1)</sup> é pouco freqüente no Brasil<sup>(2)</sup>. Inclui árvores, arbustos, lianas e raramente ervas, comumente produtores de mucilagem, taninos e antraquinonas<sup>(2,3)</sup>.

O gênero *Rhamnus* L. compreende espécies arbóreas ou arbustivas inermes, com folhas simples penínérveas, pedúnculos frutíferos não intumescidos e frutos drupáceos<sup>(2)</sup>. Dentre os representantes de uso medicinal, podem-se destacar cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC.) e frângula (*Rhamnus frangula* L.), reconhecidos como drogas antraquinônicas com propriedade laxante<sup>(4-6)</sup>. Dados etnofarmacológicos mostram que a população do sul do Brasil utiliza *Rhamnus sphaerosperma* Sw. var. *pubescens* (Reissek) M.C. Johnst., denominada vulgarmente de fruto-de-pombo<sup>(8c)</sup> e saguari-vermelho<sup>(8)</sup>, em razão de atividade semelhante, no tratamento de constipação intestinal.

Apesar de usada na medicina popular, *R. sphaerosperma* var. *pubescens* é pouco estudada, o que conduziu à esta investigação da diagnose anatômica foliar e caulinar, com a finalidade de se conhecer e caracterizar microscopicamente essa espécie medicinal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico foi coletado de exemplares espontâneos dos arredores de Ponta Grossa-PR (coordenadas 30° 10' S e 51° 20' W), em junho de 2003. A exsicata foi identificada como equivalente ao registro MBM 150999 do Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba.

Folhas adultas e fragmentos de caule, obtidos entre 5-20 cm do ápice foliar, foram fixados em FAA 70 (9), que foi posteriormente substituído por etanol

a 70 % (10). Secções transversais e longitudinais foram efetuadas à mão livre, sendo os cortes corados com azul de toluidina<sup>(11)</sup> ou azul de astra em combinação com fucsina básica<sup>(12)</sup>. Realizaram-se testes microquímicos, empregando-se lugol para amido<sup>(10)</sup>, cloreto férrico para compostos fenólicos<sup>(9)</sup>, floroglucina clorídrica para elementos lignificados<sup>(13)</sup>, Sudan III para substâncias lipofílicas<sup>(14)</sup>, azul de metileno para mucilagem<sup>(15)</sup> e ácido sulfúrico para evidenciar a natureza dos cristais de oxalato de cálcio<sup>(15)</sup>. Análise ultra-estrutural da superfície foliar foi conduzida com material fixado, desidratado em série etanólica crescente e ponto crítico de CO<sub>2</sub>, metalizado com ouro e examinado em microscópio eletrônico de varredura<sup>(16)</sup>.

## RESULTADOS

### *Folha*

No limbo foliar, em vista frontal, as células epidérmicas da região internervural exibem contorno poligonal na face adaxial (Fig. 1A) e levemente ondulado na superfície oposta (Fig. 1B). As células assumem formato poligonal e alongado na direção das nervuras. A epiderme é revestida por uma cutícula espessada e lisa, e consiste de um único estrato de células (Fig. 1F), que podem conter pequenos cristais de oxalato de cálcio e mucilagem. Estômatos anomocíticos ocorrem na face abaxial (Figs. 1B, 1C), sendo a folha classificada como hipoestomática. As células-guarda inserem-se no mesmo nível das células circunvizinhas e apresentam uma pequena crista cuticular externa (Fig. 1E). Numerosos tricomas tectores (Fig. 1D), pluricelulares e unisseriados, longos, isolados ou reunidos pela base em pequenos grupamentos, de ápice agudo, paredes espessadas e levemente lignificadas, predominam na superfície abaxial.

Em secção transversal, nota-se uma camada subepidérmica junto à face adaxial, de células parenquimáticas comparativamente maiores (Fig. 1F) e cujo conteúdo pode ser mucilaginoso. Na seqüência, ocorrem cerca de quatro estratos de parênquima paliçádico e três camadas de parênquima esponjoso, o qual representa aproximadamente 30 % da altura do mesofilo em arranjo dorsiventral (Fig. 1F). Pequenos feixes vasculares colaterais, envoltos por bainha parenquimática que ocasionalmente se estende até a epiderme, distribuem-se no clorênquima. Neste estão presentes vários idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (Fig. 1E) e algumas células mucilaginosas.

A nervura central possui secção levemente côncava na superfície adaxial e nitidamente convexa no lado oposto (Fig. 2A). A epiderme apresenta características semelhantes às descritas anteriormente, sendo que as células da face abaxial mostram parede periclinal externa papilosa. Em posição subjacente, encontram-se

várias camadas de colênquima com espessamento anelar. Em meio ao parênquima fundamental, há um feixe vascular do tipo colateral, tendendo ao formato de arco aberto (Fig. 2A).

O pecíolo revela contorno circular em secção transversal e apresenta epiderme unisseriada, colênquima anelar multiestratificado, algumas camadas de parênquima fundamental e um feixe vascular colateral, em arco fechado (Fig. 2C).

Idioblastos com drusas de oxalato de cálcio e numerosos canais secretores ocorrem na nervura central (Figs. 2A, 2B) e no pecíolo (Fig. 2C), bem como idioblastos com compostos fenólicos ao redor do feixe vascular da nervura central e do pecíolo.

### Caule

No nível analisado, o caule tem secção transversal ovalada (Fig. 3A) e é revestido pela epiderme uniestratificada recoberta por uma cutícula espessada. Ocorrem vários tricomas tectores de aspecto similar aos da folha. O felogênio tem instalação subepidérmica. No córtex (Fig. 3B), são observadas várias camadas de colênquima anelar e esparsas áreas de parênquima cortical contendo cloroplastos. Grupamentos de fibras gelatinosas, com lúmen reduzido e paredes espessadas e lameladas, constituem uma bainha esclerenquimática incompleta (Figs. 3B, 3C).

O câmbio vascular forma um cilindro floemático externo ao xilemático (Fig. 3B), sendo ambos atravessados por raios parenquimáticos estreitos. No floema, encontram-se células parenquimáticas, elementos crivados, fibras gelatinosas e alguns cordões de fibras lignificadas. No xilema, aparecem elementos traqueais isolados ou distribuídos em fileiras (Fig. 3B).

Diversos canais secretores estão presentes no limite interno do córtex (Figs. 3A, 3B) e na medula (Fig. 3A). Nessas regiões ocorrem também idioblastos com drusas de oxalato de cálcio, bem como no floema. Amiloplastos são evidenciados no córtex, na medula e nos raios parenquimáticos, e células com compostos fenólicos localizam-se na zona perimedular.

## DISCUSSÃO

Os caracteres estruturais de folha de *Rhamnus sphaerosperma* var. *pubescens* observados neste estudo são coincidentes com os aspectos descritos para as Rhamnaceae, no que se refere à presença de estômatos anomocíticos, tricomas tectores pluricelulares, mesofilo dorsiventral e um único feixe vascular colateral no pecíolo<sup>(17)</sup>. Adicionalmente, Metcalfe e Chalk<sup>(17)</sup> destacam que no gênero *Rhamnus*

ocorrem células mucilaginosas na epiderme e no mesofilo, hipoderme próximo da superfície epidérmica adaxial e drusas. Essas constatações são concordantes com esta investigação, uma vez que a camada subepidérmica parenquimática de *R. sphaerosperma* var. *pubescens* pode ser interpretada como equivalente à hipoderme, não tendo sido assim designada por uma questão de rigor nomenclatural, já que não se realizaram estudos ontogenéticos que permitissem especificar a origem da mesma.

Com relação a estruturas de secreção interna, Metcalfe e Chalk<sup>(17)</sup> mencionam para o gênero “receptáculos de mucilagem” distribuídos no parênquima de nervuras de grande porte. Essas formações podem ser comparáveis aos canais secretores descritos na nervura central, bem como no pecíolo de *R. sphaerosperma* var. *pubescens*.

Os caracteres caulinares verificados nesta espécie têm correspondência ao padrão geral para a família, que apresenta células com compostos fenólicos, cordões de fibras no floema secundário e raios estreitos atravessando o cilindro xilemático. Em *Rhamnus*, relata-se a formação periférica do felogênio e a presença de drusas no córtex e na medula<sup>(17)</sup>, que foram confirmadas em *R. sphaerosperma* var. *pubescens*. Para Mauseth<sup>(18)</sup> e Fahn<sup>(19)</sup>, o gênero se caracteriza por apresentar colênquima do tipo lamelar no córtex, ao invés do anelar observado.

Tomando-se por base outras espécies do gênero e comparando-se a região compreendida entre o sistema de revestimento e o câmbio vascular, a qual corresponde à casca caulinar, *R. purshiana* difere da espécie em questão por apresentar células pétreas no córtex e raios parenquimáticos multisseriados percorrendo o floema<sup>(20)</sup>. Quanto a *R. frangula*<sup>(21)</sup> a organização da casca se mostra parcialmente semelhante à de *R. sphaerosperma* var. *pubescens*. Esta possui canais secretores não mencionados em *R. purshiana* ou *R. frangula*. De acordo com Metcalfe e Chalk<sup>(17)</sup>, em caules jovens dessas duas espécies podem ocorrer “cavidades secretoras alongadas” no córtex e na medula, que tendem progressivamente a desaparecer no decorrer do desenvolvimento caulinar. Na opinião de Fahn<sup>(19)</sup>, estruturas secretoras alongadas são denominadas de dutos ou canais secretores, termo adotado neste trabalho, em oposição a cavidades secretoras, que são aproximadamente esféricas.

As informações anatômicas deste estudo devem ser avaliadas em conjunto para auxiliar na diagnose de folha e caule de *R. sphaerosperma* var. *pubescens*, destacando-se a presença de canais secretores nesses órgãos vegetais, de fibras gelatinosas no caule, de folha hipostomática e de numerosos tricomas tectores longos predominantemente na superfície abaxial da epiderme foliar.

## Agradecimentos

Os autores são gratos ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná pelas eletromicrografias de varredura.

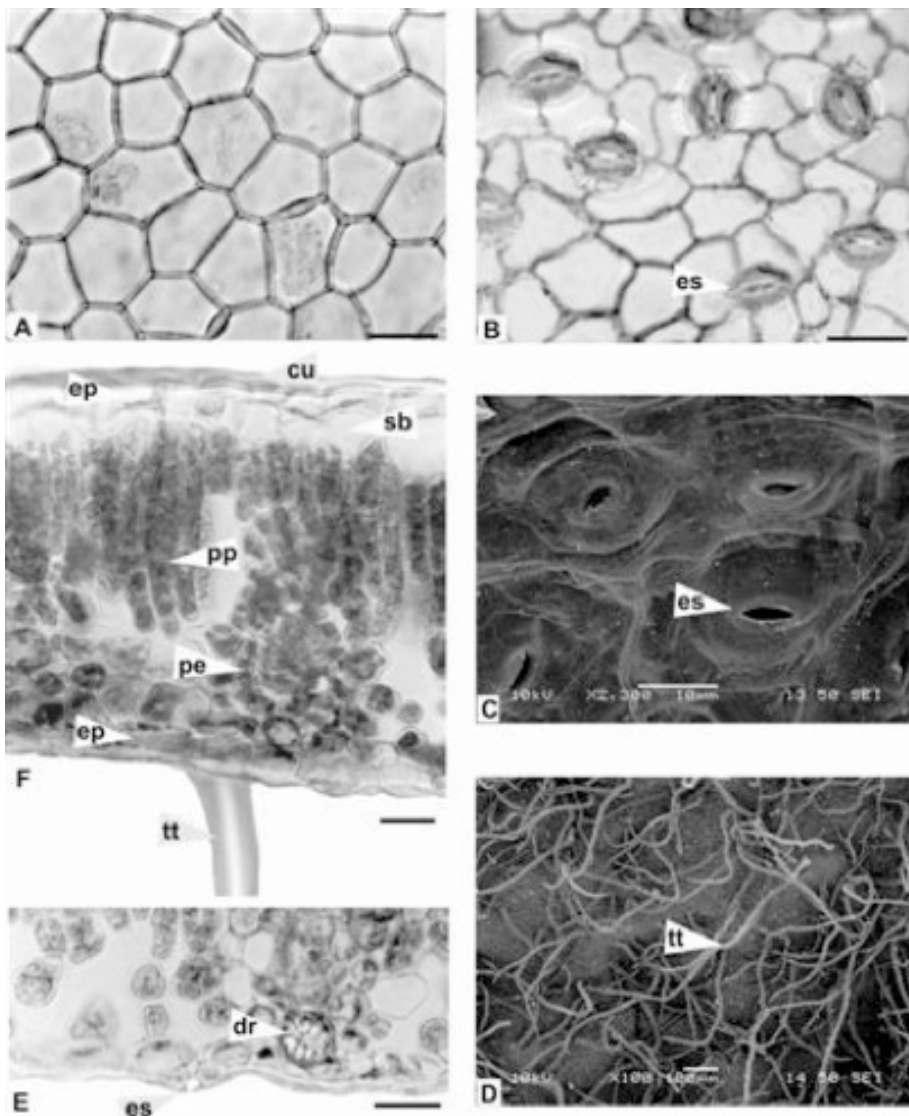
## REFERÊNCIAS

1. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sunderland (MA): Sinauer; 1999.
2. Barroso GM. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa (MG): UFV; 1991.
3. Cronquist A. An integrated system of classification of flowering plants. New York (NY): Columbia University; 1981.
4. Evans WC. Pharmacognosy. 15<sup>th</sup> ed. Edinburgh (UK): Saunders; 2002.
5. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Plantas medicinais: guia para profissional de saúde. São Paulo (SP): Premier; 2002.
6. Skidmore-Roth L. Handbook of herbs and natural supplements. 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis (MO): Mosby; 2004.
7. Zanon A, Medeiros ACS. Conservação de sementes de fruto-de-pombo (*Rhamnus sphaerosperma* Swartz). Bol Pesq Florestal 1998; 36: 29-39.
8. Espírito-Santo FB, Oliveira-Filho AT, Machado ELM, Souza JS, Fontes MAL, Marques JJGSM. Variáveis ambientais e a distribuição de espécies arbóreas em um remanescente de floresta estacional semidecídua montana no campus da Universidade Federal de Lavras – MG. Acta Bot Bras 2002; 16(3): 980-3.
9. Johansen DA. Plant microtechnique. New York (NY): McGraw Hill Book; 1940.
10. Berlyn GP, Miksche JP. Botanical microtechnique and cytochemistry. Ames (IA): Iowa State University; 1976.
11. O'Brien TP, Feder N, McCully ME. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 1964; 59: 368-73.
12. Roeser KR. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. Mikrokosmos 1972; 61: 33-6.
13. Sass JE. Botanical microtechnique. 2<sup>nd</sup> ed. Ames (IA): Iowa State College; 1951.
14. Foster AS. Practical plant anatomy. 2<sup>nd</sup> ed. Princeton (PA): Van Nostrand; 1949.
15. Oliveira F, Akisue G, Akisue MK. Farmacognosia. São Paulo (SP): Atheneu; 1991.
16. Souza W. Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às Ciências Biológicas. Rio de Janeiro (RJ): Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica; 1998.
17. Metcalfe CR, Chalk L. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford (UK): Clarendon Press; 1950.
18. Mauseth JD. Plant anatomy. Menlo Park (CA): Benjamin/Cummings; 1988.
19. Fahh A. Plant anatomy. 4<sup>th</sup> ed. Oxford (UK): Pergamon Press; 1990.
20. Farmacopéia Brasileira. 4 ed. São Paulo (SP): Atheneu; 1996.

21. British Herbal Pharmacopoeia. Bournemouth (UK): British Herbal Medicine Association; 1983.

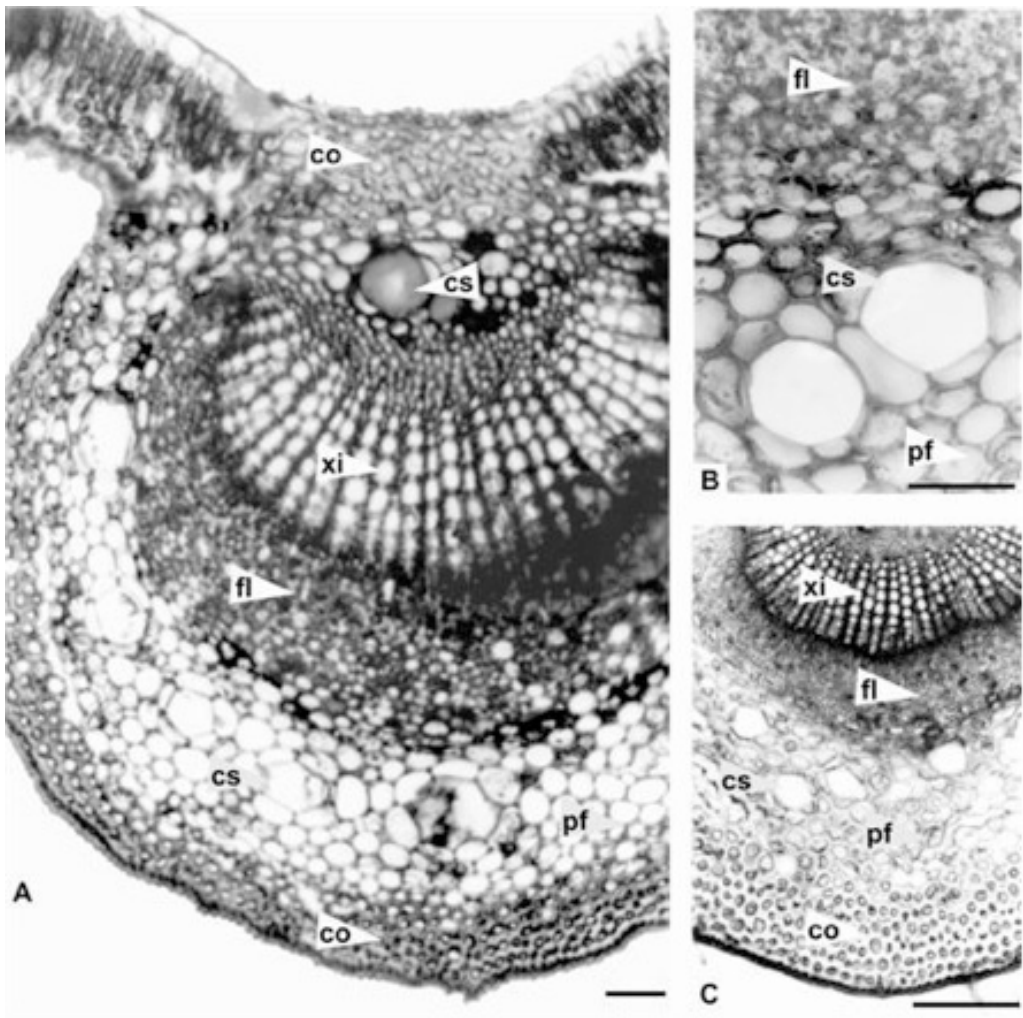
ANEXO

Figuras 1A-F. *Rhamnus sphaerosperma* Sw. var. *pubescens* (Reissek) M.C. Johnst. - folha: 1A, B – vista frontal das faces adaxial e abaxial da epiderme, respectivamente; 1C – estômatos na face abaxial da epiderme (MEV); 1D – tricomas tectores (MEV); 1E – detalhe de um estômato inserido no mesmo nível das células circunvizinhas; 1F – secção transversal do limbo, mostrando mesofilo dorsiventral. Abreviaturas: cu – cutícula, dr – drusa, ep – epiderme, es – estômato, MEV – microscopia eletrônica de varredura, pe – parênquima esponjoso, pp – parênquima paliçádico, sb – camada subepidérmica, tt – tricoma tector. Barra = 20  $\mu$ m





Figuras 2A-C. *Rhamnus sphaerosperma* Sw. var. *pubescens* (Reissek) M.C. Johnst.  
- folha: 2A – secção transversal da nervura central, onde se nota o feixe vascular colateral; 2B – pormenor da figura anterior, indicando canais secretores; 2C – pecíolo seccionado transversalmente, evidenciando o feixe vascular. Abreviaturas: co – colênquima, cs – canal secretor, fl – floema, pf – parênquima fundamental, xi – xilema. Barra = 50  $\mu$ m



Figuras 3A-C. *Rhamnus sphaerosperma* Sw. var. *pubescens* (Reissek) M.C. Johnst.  
- caule: 3A – aspecto geral da organização caulinar; 3B – secção transversal do caule, onde se observam a epiderme, o córtex e o cilindro vascular; 3C – detalhe do colênquima e das fibras gelatinosas. Abreviaturas: co – colênquima, cs – canal secretor, cv – cilindro vascular, cx – córtex, dr – drusa, ec – esclerênquima, ep – epiderme, fg – fibra gelatinosa, fl – floema, me – medula, xi – xilema. Barra = 100  $\mu$ m (A), 50  $\mu$ m (B, C)

