# ANATOMIA FOLIAR DE ALGODÃOZINHO-DO-CERRADO: Cochlospermum regium (SCHRANK) PILG., BIXACEAE

# LEAF ANATOMY OF YELLOW COTTON TREE: Cochlospermum regium (SCHRANK) PILG., BIXACEAE

DUARTE, M. R.<sup>1\*</sup>; OLIVEIRA, R. B.<sup>2</sup>; DRANKA, E. R. K.<sup>2</sup>; YANO, M.<sup>3</sup>

E-mail: marciard@ufpr.br

#### **RESUMO:**

Cochlospermum regium é uma espécie nativa encontrada no Cerrado, conhecida comumente como algodãozinho devido ao aspecto lanuginoso das sementes. É empregada na medicina popular como analgésico, anti-inflamatório e anti-infeccioso. Estudos farmacológicos comprovaram as atividades antinociceptiva, antimicrobiana e antipirética, justificando a sua utilização na terapêutica. Este trabalho objetivou investigar os caracteres anatômicos foliares, úteis para a caracterização e o controle de qualidade farmacognóstico dessa espécie medicinal, bem como para o conhecimento da flora brasileira. O material botânico foi preparado de acordo com técnicas de microscopia fotônica e eletrônica de varredura, incluindo-se testes microquímicos. A folha é anfiestomática, possuindo estômatos anomocíticos na face abaxial e raros estômatos do tipo paracítico na superfície oposta. Tricomas tectores pluricelulares, com células apicais longas, e glandulares peltados estão presentes. O mesofilo é dorsiventral, a nervura central é biconvexa e percorrida por diversos feixes vasculares colaterais dispostos em V, e ocorrem idioblastos com compostos lipofílicos e fenólicos, bem como drusas de oxalato de cálcio. Esses aspectos são relevantes para a caracterização da espécie, porém pesquisa complementar sobre o gênero é necessária para atribuição de valor diagnóstico aos mesmos.

Palavras-chave: controle de qualidade, microscopia, planta medicinal, tricomas

#### ABSTRACT:

Cochlospermum regium is a native species found in Cerrado, the Brazilian savanna, commonly known as yellow cotton tree due to the hairy aspect of the seeds. It is used in folk medicine as analgesics, anti-inflammatory and anti-infectious. Pharmacological assays have demonstrated the antinociceptive, antibiotics and febrifuge activities. This work has aimed to investigate leaf anatomical characters, useful for the pharmacognostic characterization and quality control assays, as well as for the knowledge of the Brazilian flora. The botanical material was prepared for light and scanning electron microscopy, including microchemical tests. The leaf is amphistomatic, showing anomocytic stomata on the abaxial surface and rare paracytic stomata on the opposite side. Non-glandular trichomes, multicellular with long apical cell, and peltate glandular ones are present. The mesophyll is dorsiventral, the midrib is biconvex and traversed by various collateral vascular bundles arranged in V-shape, and it occurs idioblasts bearing lipophilic and phenolic substances, and calcium oxalate druses. These features are relevant for the characterization of the species, although further studies on the genus are required for attributing diagnostic value for them.

Keywords: medicinal plant, microscopy, quality control, trichomes

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná (UFPR),

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Bolsista PIBIC/CNPq, Curso de Farmácia, UFPR

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, Brasil

# 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Cochlospermum* pertence à família Bixaceae (= Cochlospermaceae), subordinada à ordem Malvales, e compreende cerca de doze espécies de ocorrência pantropical (APG WEB, 2014). Entre elas, destaca-se *C. regium* (Schrank) Pilg., representante típico do Cerrado, de porte arbustivo, folhas simples e palmatilobadas, flores amarelas vistosas, frutos capsulares e sementes com lanugem branca. Em razão desse aspecto peculiar das sementes, deriva o nome comum da planta, que é denominada algodãozinho, algodãozinho-do-cerrado e algodãozinho-do-campo (CASTRO et al., 2004; SOUZA, FELFILI, 2006; SOUZA, LORENZI, 2008).

Popularmente, os órgãos vegetativos da espécie, preparados geralmente na forma de decocto, são usados como analgésico, anti-inflamatório e anti-infeccioso (SOUZA, FELFILI, 2006; USTULIN et al., 2009; MACEDO, PEREIRA, SILVA, 2011; PASA, 2011; POVH et al., 2014). Ensaios farmacológicos comprovaram que extratos da planta possuem efeitos antinociceptivo, anti-inflamatório, antimicrobiano e antipirético (SANTOS NETO, 2009; SOLON et al., 2012), que podem estar relacionados à presença de compostos fenólicos (CARVALHO, 2004; SOLON et al., 2012).

Embora *C. regium* seja frequentemente utilizado na medicina tradicional pelas populações do Cerrado, poucos estudos têm enfocado a sua caracterização morfoanatômica. Esse conhecimento é fundamental para contribuir na identificação dessa espécie medicinal e tem aplicação no reconhecimento macro e microscópico dos órgãos vegetais empregados. Portanto, este trabalho objetivou investigar as estruturas anatômicas foliares de *C. regium*, com propósitos farmacognósticos de caracterização e controle de qualidade, além de agregar informações às plantas nativas brasileiras.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

## 2.1. MATERIAL BOTÂNICO

Amostras de *C. regium* foram coletadas de exemplares da flora espontânea de área ensolarada e aberta, no município de Alcinópolis, localizado no Mato Grosso do Sul, nas proximidades da divisa com Mato Grosso (coordenadas 18º08'10"S e 53º41'15"W, altitude de 572m), em março de 2008. Material testemunho referencial encontra-se depositado no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob registro CGMS 25354.

#### 2.2. METODOLOGIA

Folhas plenamente desenvolvidas, selecionadas a partir do quarto nó caulinar,

foram inicialmente desidratadas para conservação. Ao serem processadas para o estudo anatômico, foram reidratadas em água e preparadas de acordo com técnicas de microscopia fotônica (MF) e eletrônica de varredura (MEV).

O terço inferior da lâmina foliar foi seccionado à mão livre, nos sentidos transversal e longitudinal, incluindo paradérmico. Os cortes foram submetidos à dupla coloração com azul de astra-fucsina básica (ROESER, 1972) e montados em lâminas semipermanentes (MF). Alternativamente, fragmentos foliares foram desidratados em gradiente alcoólico crescente, infiltrados e emblocados com resina sintética, seccionados em micrótomo de rotação (KRAUS, ARDUIN, 1997) e corados com azul de toluidina (O'BRIEN, FEDER, McCULLY, 1964) para a confecção de lâminas permanentes (MF).

Testes microquímicos (MF) foram realizados para confirmação da natureza dos cristais de oxalato de cálcio por meio de ácido sulfúrico diluído (OLIVEIRA, AKISUE, 1997) e para verificação do conteúdo intracelular e da impregnação das paredes celulares com Sudan para detecção de substâncias lipofílicas (SASS, 1951), cloreto férrico para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940), floroglucina clorídrica para lignina (FOSTER, 1949), azul de metileno para mucilagem (OLIVEIRA, AKISUE, 1997) e lugol para amido (BERLYN, MIKSCHE, 1976).

A investigação da ultraestrutura da superfície foliar foi conduzida com fragmentos vegetais desidratados sequencialmente em etanol e pelo ponto crítico de dióxido de carbono, aderidos a suporte, recobertos com fina camada de íon metálico e examinados em alto vácuo em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (SOUZA, 1998).

#### 3. RESULTADOS

A folha é revestida por uma epiderme, cujas células na face adaxial possuem contorno poligonal (Figura 1A) e na superfície abaxial são sinuosas (Figura 1C), em vista frontal. Ocorrem idioblastos com conteúdo fenólico (Figura 1A) detectado pela reação com cloreto férrico. Estômatos são frequentes na face abaxial (Figura 1C) e raros na superfície oposta (Figura 1A). Nesta, encontram-se paracíticos, enquanto que na face abaxial o tipo predominante é anomocítico. A cutícula é lisa e, nas proximidades das células-guarda, mostra-se com ornamentações estriadas (Figura 1B).

Ocorrem tricomas glandulares e tectores, sendo estes últimos numerosos na face abaxial. São pluricelulares, unisseriados e possuem uma célula apical alongada (Figuras 1D-F, 2A-D). Os tricomas glandulares são peltados, consistindo de um pedicelo curto e glândula ovoide pluricelular (Figuras 1C, 1D, 2A, 2D), podendo estar inseridos em leve depressão epidérmica (Figuras 2E, 3B). O produto secretado revela natureza lipofílica e fenólica pela reação com Sudan e cloreto férrico, respectivamente.

Em secção transversal, a região internervural (Figuras 3A, 3B) mostra uma epiderme unisseriada revestida por cutícula delgada. As células epidérmicas são alongadas periclinalmente e comparativamente maiores na superfície adaxial (Figura 3B). Os estômatos estão localizados praticamente no mesmo nível das células circunvizinhas e têm cristas cuticulares externas evidentes (Figura 3C). O mesofilo é formado aproximadamente de uma camada de parênquima paliçádico e de cinco estratos de parênquima esponjoso, assumindo arranjo dorsiventral típico (Figura 3B). Percorrendo os clorênquimas, há feixes vasculares colaterais, tendo os de médio porte calotas esclerenquimáticas.

A nervura central revela contorno biconvexo, quando seccionada transversalmente, com leve curvatura na face adaxial e maior proeminência na superfície oposta (Figura 3A). A epiderme possui as mesmas características descritas previamente e, subjacente à mesma, encontram-se algumas camadas de colênquima angular (Figuras 3A, 3D). Em meio ao parênquima fundamental, existem vários feixes vasculares dispostos em V (Figuras 3A, 4A). Estes são ovalados e colaterais, possuem calotas esclerenquimáticas apostas ao floema e ao xilema, e individualmente são envoltos por endoderme (Figuras 4A, 4C, 4D). Na região central da nervura, algumas células parenquimáticas exibem paredes celulares levemente lignificadas.

Pequenos cristais prismáticos de oxalato de cálcio, tendendo ao formato de drusa (Figura 4B), amiloplastos e alguns idioblastos com conteúdo lipofílico e fenólico (Figura 3A) estão presentes no mesofilo e na nervura central.

#### 4. DISCUSSÃO

Em razão de aspectos em comum, que tendem a não sustentar a segregação de Bixaceae e Cochlospermaceae, as espécies desta última família foram incluídas na primeira (APG WEB, 2014). Embora em meados do século XX, Metcalfe e Chalk (1950) tenham tratado esses dois grupos taxonômicos como distintos, à luz do conhecimento da época já anteviam a necessidade de reposicionamento taxonômico. Assim, com base nos caracteres apontados para as duas famílias por esses autores, observa-se que as estruturas anatômicas de folha de *C. regium* observadas neste trabalho são compatíveis com Cochlospermaceae e, por extensão, com Bixaceae, a saber: presença de tricomas tectores e glandulares peltados, mesofilo dorsiventral, feixes vasculares colaterais, cristais de oxalato de cálcio e células secretoras com conteúdo resinífero. Estas se mostram equivalentes aos idioblastos contendo produtos lipofílicos e fenólicos observados na espécie em questão.

Ainda, com base nesses autores (METCALFE, CHALK, 1950), nota-se divergência quanto ao fato de mencionarem a ocorrência de folhas hipoestomáticas nas duas famílias. Em *C. regium*, registrou-se a predominância de estômatos na face

abaxial, todavia foram observados raros na face adaxial, o que a rigor leva à classificação da folha como anfiestomática. De acordo com Keating (1970), autor que estudou diferentes espécies de *Cochlospermum*, porém sem incluir *C. regium*, o padrão encontrado foi de folha hipoestomática com estômatos anomocíticos. Essas diferenças podem ser atribuídas à influência ambiental, que pode modificar alguns padrões anatômicos (MAUSETH, 1988). Quanto ao tipo de estômato, tanto paracítico quanto anomocítico são descritos para Bixaceae (METCALFE, CHALK, 1988), em concordância ao observado nesta investigação.

A ocorrência de células mucilaginosas na epiderme é frequentemente mencionada para a família (METCALFE, CHALK, 1950; 1988). No entanto, as mesmas não foram verificadas no material em estudo, nem após utilização de azul de metileno para evidenciação de mucilagem. Por outro lado, a presença de compostos fenólicos foi confirmada como esperado, já que células taniníferas são reportadas em Bixaceae (CRONQUIST, 1981).

Com relação à importância taxonômica atribuída aos tricomas, embora a densidade e o tamanho dos mesmos possam variar em resposta às condições ambientais, o tipo do tricoma é de considerável valor diagnóstico (METCALFE, CHALK, 1988). Desse modo, a constatação de tricomas glandulares peltados e tectores pluricelulares terminando em célula apical alongada em *C. regium* enquadra-se no táxon. Corroborando esses resultados, Keating (1970) observou que no gênero podem ocorrer representantes que exibem tricomas unicelulares curtos e pluricelulares longos, podendo estes ser numerosos na face abaxial, a exemplo de *C. religiosum* (L.) Aston. Folha com elevada densidade de tricomas tectores longos na face abaxial confirmou-se nesta análise.

Comparativamente ao trabalho de Vasconcelos Filho et al. (2014), autores que estudaram a mesma espécie medicinal, enfocando principalmente estruturas secretoras, observa-se parcial divergência de resultados. Esses pesquisadores mencionam que a folha de *C. regium* é hipoestomática e que as células epidérmicas da face abaxial são poligonais em vista frontal. Adicionalmente, as ilustrações mostram que a nervura central é côncavo-convexa, sendo percorrida por um único feixe vascular, e que ocorrem dutos secretores no parênquima fundamental. Entretanto estes, em exame mais detalhado das imagens publicadas de folha, parecem se assemelhar a células secretoras, diferindo das estruturas secretoras multicelulares do caule. Para Keating (1970), no gênero ocorrem idioblastos que acompanham os feixes vasculares. Embora sejam ramificados e longos, se tratam de estruturas unicelulares.

Diante desses resultados contraditórios e do pouco conhecimento a respeito de *C. regium* e das demais espécies do gênero, para efeitos de comparação e atribuição de valor diagnóstico a caracteres microscópicos, pode-se concluir que o táxon necessita de maiores investigações morfoanatômicas. A constatação dos

diferentes tipos de tricomas, de idioblastos com conteúdo lipofílico e fenólico e de cristais de oxalato de cálcio constitui aspectos que auxiliam na caracterização da espécie. Porém, a aplicação dos mesmos como caracteres distintivos depende de maior conhecimento das espécies afins.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME-UFPR) pelas micrografias de varredura e ao PIBIC/CNPq pelas bolsas concedidas aos acadêmicos R.B. Oliveira e E.R.K. Dranka.

## 6. REFERÊNCIAS

APG WEB. **Angiosperm Phylogeny Website**. 05 Aug 2014 <a href="http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/welcome.html">http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/welcome.html</a> 2014.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry.** Ames: Iowa State University Press, 1976. 326 p.

CARVALHO, A. R. Popular use, chemical composition and trade of Cerrado's medicinal plantas (Goiás, Brazil). **Environ. Dev. Sustainab.**, New York, v. 6, p. 307-316, 2004.

CASTRO, D. B.; SANTOS, D. B.; FERREIRA, H. D.; SANTOS, S. C.; CHEN-CHEN, L. Atividades mutagênica e citotóxica do extrato de *Cochlospermum regium* Mart. (algodãozinho-do-campo) em camundongos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 6, n. 3, p. 15-19, 2004.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants.** New York: Columbia University Press, 1981. 1262 p.

FOSTER, A. S. Practical plant anatomy. 2<sup>nd</sup> New York: D. Van Nostrand, 1949. 228 p.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KEATING, R. C. Comparative morphology of the Cochlospermaceae. II. Anatomy of the young vegetative shoot. **Am. J. Bot.**, St. Louis, v. 57, n. 8, p. 889-898, 1970.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Rio de Janeiro: Edur, 1997. 198 p.

MACEDO, M.; PEREIRA, M. L. S.; SILVA, F. H. B. Plantas com provável ação antifúngica utilizadas pelos moradores do bairro Cidade Verde, Cuiabá, Mato Grosso. **Flovet**, v. 3, *s.p.*, 2011.

MAUSETH, J. D. Plant anatomy. Menlo Park: Benjamin/Cummings, 1988. 560 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons:** leaves, stem, and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Oxford: Clarendon, 1950. 2 v., 1500 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons:** systematic anatomy of the leaf and stem. 2<sup>nd</sup>. Oxford: Clarendon, 1988. v. 1, 276 p.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; Mc CULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Vienna, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1997. 178 p.

PASA, M. C. Saber local e medicina popular: a etnobotânica em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi - Cien. Hum.**, Belém, v. 6, n. 1, p. 179-196, 2011.

POVH, J.; ASSUNÇÃO, E. F.; ROCHA, L. M.; FERREIRA, G. L. S. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela população da comunidade Boa Vista, Prata, MG. **Braz. Geogr. J.**, Ituiutaba, v. 5, n. 1, p. 46-59, 2014.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, n. 2, p. 33-36, 1972.

SANTOS-NETO, M. Avaliação das atividades antinociceptiva, antiinflamatória e antipirética do extrato hidroalcoólico bruto de *Cochlospermum regium* (Mart & Schrank) Pilger em ratos. Goiânica, 2009. 70 f. Centro Universitário de Anápolis, Universidade Estadual de Goiás.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique.** 2<sup>nd</sup> Ames: Iowa State College Press, 1951. 228 p.

SOLON, S.; CAROLLO, C. A.; BRANDÃO, L. F. G.; MACEDO, C. S.; KLEIN, A.; DIAS-JR., C. A.; SIQUEIRA, J. M. Phenolic derivatives and other chemical compounds from

Cochlospermum regium. Quím. Nova, São Paulo, v. 35, n. 6, p. 1169-1172, 2012.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, Porto Alegre, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

SOUZA, W. **Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às Ciências Biológicas.** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, 1998. p. 1-44

USTULIN, M.; FIGUEIREDO, B. B.; TREMEA, C.; POTT, A.; POTT, V. J.; BUENO, N. R.; CASTILHO, R. O. Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande - MS. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 19, n. 3, p. 805-813, 2009.

VASCONCELOS-FILHO, S. C.; FERREIRA, A. L. L.; VASCONCELOS, J. M.; SILVA, L. S.; PEREIRA, L. C. S. Secretory structures in *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg. (Bixaceae): distribution and histochemistry. **J. Med. Plants Res.**, *s.l.*, v. 8, n. 27, p. 947-952, 2014.

## 7-FIGURAS

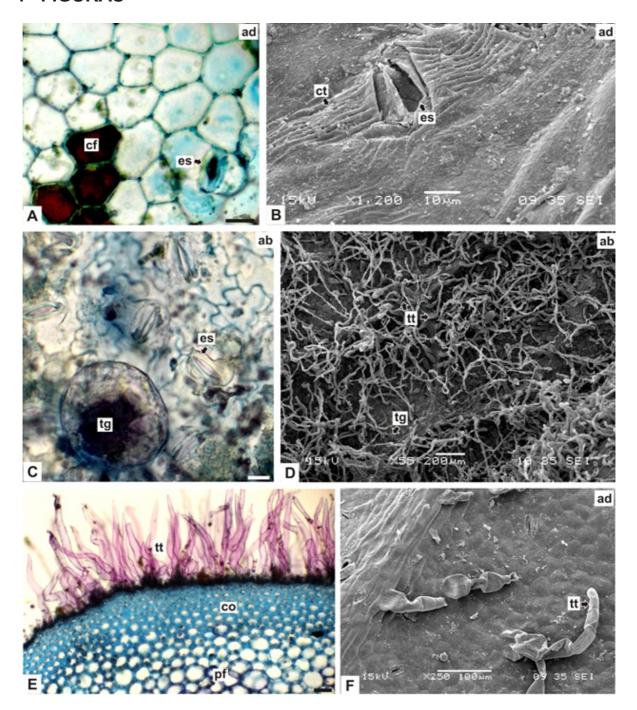
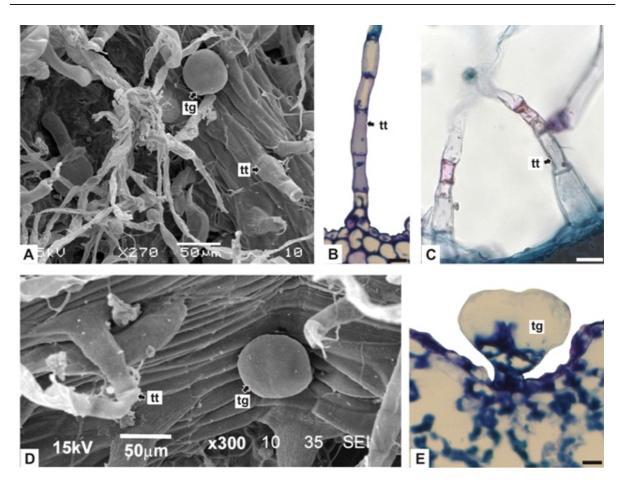


FIGURA 1A-F. Cochlospermum regium (SCHRANK) PILG., BIXACEAE, FOLHA: A, C. VISTA FRONTAL DA EPIDERME (MF); B. PORMENOR DA CUTÍCULA ESTRIADA NAS PROXIMIDADES DE ESTÔMATO (MEV); D-F. DETALHE DE TRICOMAS TECTORES E GLANDULARES (MEV E MF). ABREVIATURAS: ab - FACE ABAXIAL, ad - FACE ADAXIAL, cf - IDIOBLASTO COM COMPOSTOS FENÓLICOS, co - COLÊNQUIMA, ct - CUTÍCULA, es - ESTÔMATO, MEV - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, MF - MICROSCOPIA FOTÔNICA, pf - PARÊNQUIMA FUNDAMENTAL, tg - TRICOMA GLANDULAR, tt - TRICOMA TECTOR. BARRA = 50mm (E), 20mm (A, C)



**FIGURA 2A-E**. Cochlospermum regium (SCHRANK) PILG., BIXACEAE, FOLHA: A-E. PORMENOR DE TRICOMAS TECTORES E GLANDULARES (MEV E MF). ABREVIATURAS: **MEV** – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, **MF** – MICROSCOPIA FOTÔNICA, **tg** – TRICOMA GLANDULAR, **tt** – TRICOMATECTOR. BARRA = 50mm (B, C), 20mm (E)

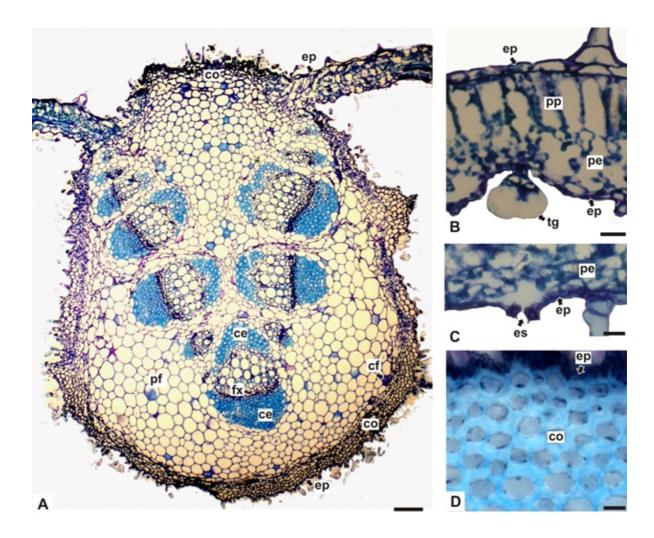


FIGURA 3A-D. Cochlospermum regium (SCHRANK) PILG., BIXACEAE, FOLHA EM SECÇÃO TRANSVERSAL (MF): A. ORGANIZAÇÃO GERAL DA NERVURA CENTRAL E DE PARTE DA REGIÃO INTERNERVURAL; B, C. DETALHE DA REGIÃO INTERNERVURAL; D. PORMENOR DO COLÊNQUIMA ANGULAR DA NERVURA CENTRAL. ABREVIATURAS: ce- CALOTA ESCLERÊNQUIMÁTICA, cf- IDIOBLASTO COM COMPOSTOS FENÓLICOS, co- COLÊNQUIMA, ep- EPIDERME, es- ESTÔMATO, fx- FEIXE VASCULAR, MF- MICROSCOPIA FOTÔNICA, pe- PARÊNQUIMA ESPONJOSO, pf- PARÊNQUIMA FUNDAMENTAL, pp- PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, tg- TRICOMA GLANDULAR. BARRA= 200mm (A), 50mm (B, C), 20mm (D)



FIGURA 4A-D. Cochlospermum regium (SCHRANK) PILG., BIXACEAE, NERVURA CENTRAL DA FOLHA EM SECÇÃO TRANSVERSAL (MF): A. DISPOSIÇÃO DOS FEIXES VASCULARES; B. CRISTAIS DE OXALATO DE CÁLCIO; C, D. PORMENOR DE FEIXES VASCULARES COLATERAIS. ABREVIATURAS: ce — CALOTA ESCLERENQUIMÁTICA, cr — CRISTAL DE OXALATO DE CÁLCIO, en — ENDODERME, fl - FLOEMA, fx — FEIXE VASCULAR, MF — MICROSCOPIA FOTÔNICA, xi — XILEMA. BARRA = 100mm (A), 20mm (B-D)