

## **Análise anatômica e histoquímica das folhas de *Eugenia uniflora* L.**

**Amanda Brandt Beschorner**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS)  
Campus Porto Alegre  
(mandybeschorner@hotmail.com)

**Márcia Bündchen**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS)  
Campus Porto Alegre  
(marcia.bundchen@poa.ifrs.edu.br)

**Resumo:** *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) é uma árvore nativa cujas folhas têm propriedades farmacológicas conhecidas da tradição popular. Visando complementar as abordagens anatômicas e fitoquímicas sobre a espécie, realizou-se a caracterização das suas folhas. Folhas completamente expandidas foram coletadas de dez plantas adultas, fixadas em FAA<sub>70</sub> e armazenadas em etanol 70%. Para as análises anatômicas, secções transversais e paradérmicas da lâmina foliar foram coradas e analisadas sob microscopia de luz e em microscopia eletrônica de varredura (MEV). A epiderme unisseriada é coberta com uma cutícula estriada. A folha é hipoestomática e tem estômatos paracítico com distribuição aleatória. Tricomas tectores unicelulares ocorrem predominantemente na região da nervura central somente na face abaxial da folha. O mesofilo é dorsiventral e cavidades secretoras com conteúdo lipídico adentram o parênquima clorofiliano, em posição subepidérmica. Cristais de oxalato de cálcio ocorrem distribuídos no mesofilo e nos bordos foliares. A nervura central apresenta feixe vascular bicolateral envolvido pela bainha esclerenquimática e colênquima anelar. Nossos resultados contribuem para a consolidação do conhecimento anatômico sobre *Eugenia uniflora* L.

**Palavras-chave:** Anatomia foliar; Pitangueira; Histologia vegetal.

## **Anatomical and histochemical analysis of *eugenia uniflora* L. Leaves**

**Abstract:** *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) is a native tree whose leaves have pharmacological properties that are known from the folk tradition. In order to complement the anatomical and phytochemical approaches about this species, the characterization of its leaves was carried out. Fully expanded leaves were collected from ten adult plants, fixed in FAA<sub>70</sub> and stored in 70% ethanol. For anatomic analyses leaf blade transverse and paradermal sections were stained for observations under light microscopy, by scanning electron microscopy (SEM). The uniserial epidermis is covered with a striate cuticle. The leaf is hypostomatic, with paracitic stomata randomly distributed. Simple unicellular trichomes occur predominantly on the midrib region only on the abaxial side of the leaf. The mesophyll is dorsiventral and there are secretory cavities with lipidic content sunken in the chlorophyllous parenchyma, in subepidermal position. Calcium oxalate crystals occur distributed in the mesophyll and in the leaf margins. The midrib presents bicollateral vascular bundles surrounded by the

sclerenchymatic sheath and annular collenchyma. Our results contribute to the consolidation of the anatomical knowledge about *Eugenia uniflora* L.

**Key words:** Leaf anatomy; Pitangueira; Plant histology.

## INTRODUÇÃO

As propriedades farmacológicas de *Eugenia uniflora* L., (Myrtaceae), a pitangueira, são bastante estudadas e conhecidas da cultura popular (LORENZI e ABREU, 2002). O uso empírico de pitanga é principalmente devido ao efeito hipotensor, mediado por uma atividade vasodilatadora direta e um efeito diurético fraco que pode estar relacionado a um aumento no fluxo sanguíneo renal (CONSOLINI *et al.*, 1999). As folhas de *E. uniflora* apresentam atividade antioxidante na redução da peroxidação lipídica, podendo servir como antibactericida e antifúngico (MARTINEZ-CORREA *et al.*, 2011; VICTORIA *et al.*, 2012), desempenhando atividade citotóxica (OGUNWANDE *et al.*, 2005) e atuando como fonte de nutracêuticos com atividade anti-tripanosossoma, particularidade importante como alternativa para combater a doença de chagas (SANTOS *et al.*, 2012).

Métodos histoquímicos podem auxiliar no diagnóstico de compostos do metabolismo primário e secundário dos tecidos vegetais, como por exemplo, compostos fenólicos - ligninas, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, aminoácidos, açúcares, ceras e mucilagens e ainda, na determinação da composição botânica de misturas vegetais oriundas de misturas e pós vegetais, de pastagem animal, de fardos comercializados e de misturas farmacêuticas, além de subsidiar a Botânica Sistemática na identificação e subscrição das espécies (DÔRES, 2007).

*E. uniflora* apresenta uma composição química bastante complexa, incluindo óleos essenciais, sesquiterpenos, taninos, pigmentos flavonoides e antocianicos, saponinas, sais minerais e vitamina C, tanto nas folhas como nos frutos (LORENZI e ABREU, 2002). Além disso, é comum que, nas plantas, variações anatômicas decorram dos diferentes habitats nos quais os indivíduos se desenvolvem (DONATO e MORRETES, 2009; LARCHER e BOEGER, 2009). Neste contexto, a caracterização histoquímica auxilia não só na identificação da composição de

células e tecidos e como também na detecção de variações morfoanatômicas entre indivíduos ou populações de uma mesma espécie.

No presente estudo, métodos histoquímicos combinados com técnicas de microscopia óptica e eletrônica, foram utilizados com o objetivo de caracterizar a estrutura foliar de *E. uniflora*, complementando outros estudos anteriormente publicados sobre a espécie.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Folhas maduras de dez plantas crescendo em condições naturais na região de Porto Alegre, RS (30°01'59" S; 51°13'48" W) foram coletadas, fixadas em FAA<sub>70</sub> no momento da coleta e, após 48 horas, mantidas em álcool 70%.

Secções paradérmicas e transversais foram obtidas manualmente, com auxílio de lâmina de aço. As secções obtidas à mão livre foram clarificadas com hipoclorito 40% e neutralizadas com água acidificada. Já neutralizadas, foram coradas a fim de identificar estruturas relevantes para os estudos histológicos e histoquímicos. Para vista paradérmica foi ainda utilizada a dissociação da epiderme e diafanização das folhas, de acordo com o protocolo de Franklin (1945).

Secções transversais foram também obtidas por meio de inclusão em glicol metacrilato, seguindo o protocolo do fabricante, seccionamento em micrótomo rotativo, coloração e montagem de lâminas permanentes.

Para análise histoquímica, foram utilizados os seguintes corantes: sudan III (lipídios), azul de toluidina (celulose, lignina, pectinas), reativo de lugol (amido), floroglucinol acidificado (lignina) e vermelho de rutênio (pectina) de acordo com os protocolos sugeridos por Kraus e Arduin (1997), Johansen (1940) e Venning (1954).

Após o processo de coloração, as amostras foram analisadas em microscópio óptico (MO) com luz polarizada modelo Diaghtech e os registros microfotográficos foram realizados no mesmo equipamento, munido de equipamento fotográfico.

Para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV), amostras das folhas foram desidratadas em série ascendente de acetona, transferidas para o ponto crítico de CO<sub>2</sub> e aderidas ao suporte antes de serem submetidas ao processo de metalização com ouro. O material foi visualizado em microscópio JEOL JSM 6060 no Centro de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – CMM/UFRGS.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A folha é hipostomática com estômatos que apresentam distribuição aleatória (Figura 1). As faces da epiderme são distintas, sendo que a face abaxial (Figura 2) apresenta células com paredes anticlinais com contorno sinuoso enquanto nas células da face adaxial (Figura 3), predomina o contorno levemente sinuoso a poliédrico, concordando com a descrição de Alvarez e Silva (2012) e Fiuza e colaboradores (2008).

Os estômatos paracíticos (Figura 4) de *E. uniflora* apresentam nos polos um espessamento cutinizado em “T” (Figura 4) não proeminente, indicado por Haron e Moore (1996) como típico das espécies de *Eugenia* do Novo Mundo e descrito por Machado, Costa e Fontenelle (1988) em *E. sulcata*.

A partir da dissociação da epiderme, observou-se a presença de tricomas tectores unicelulares (Figura 5) na face abaxial da lâmina foliar, conforme descrito por Alvarez e Silva (2012) que verificaram a presença deste tipo de tricoma ou suas cicatrizes em várias espécies do gênero. Alves Tresmondi e Longui (2008), no entanto, descrevem a folha como glabra. Raros tricomas unicelulares foram descritos por Donato e Morretes (2009) na face abaxial da lâmina foliar de *Eugenia florida*.

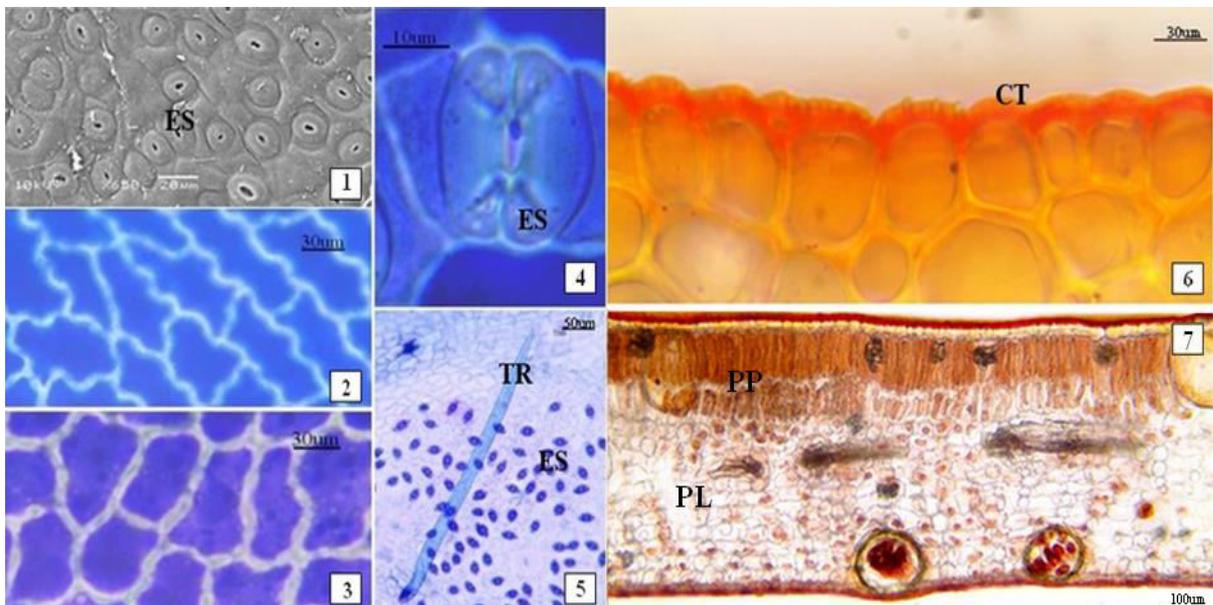
A epiderme foliar de *Eugenia uniflora* é unisseriada e recoberta com uma espessa cutícula estriada evidenciada com Sudan III em vista transversal (Figura 6). A maioria das características foliares evidenciadas foram anteriormente descritas por Alvarez e Silva (2012) e Alves, Tresmondi e Longui (2008), no entanto, a ocorrência de estômatos paracíticos contrasta com Fiuza e colaboradores (2008), que citam estômatos predominantemente, anomocíticos.

O mesofilo é dorsiventral (Figuras 7, 8 e 10) e, transversalmente, o parênquima paliçádico pode apresentar-se uni ou biestratificado (Figuras 10 e 7, respectivamente).

Com floroglucinol acidificado evidenciou-se a nervura central e o feixe vascular bicolateral. O feixe encontra-se circundado por fibras esclerenquimáticas (Figura 9) em processo de lignificação, indicado pela reação mais intensa evidenciada no xilema. Pectinas foram identificadas com vermelho de rutênio no floema (Figura 11). Na região da nervura central não há parênquima clorofiliano e,

entre a epiderme e as fibras. são visualizadas camadas de colênquima anelar (Figuras 9 e 11).

**Figura 1-7** - Distribuição aleatória dos estômatos na face abaxial da epiderme foliar de *E. uniflora* em MEV (1). Vista paradérmica das células da face abaxial (2) e adaxial (3) da epiderme foliar. Detalhe do estômato paracítico (4) e tricoma tector unicelular na face abaxial da epiderme foliar (5), coloração: Azul de toluidina; Detalhe da cutícula espessa (6). Vista transversal do limbo foliar com reação positiva para lipídios e parênquima paliçádico biestratificado (7), coloração: Sudan III. Legenda: Legenda: CT – cutícula, ES – estômatos, PL – parênquima lacunoso, PP – parênquima paliçádico, TR – tricoma.

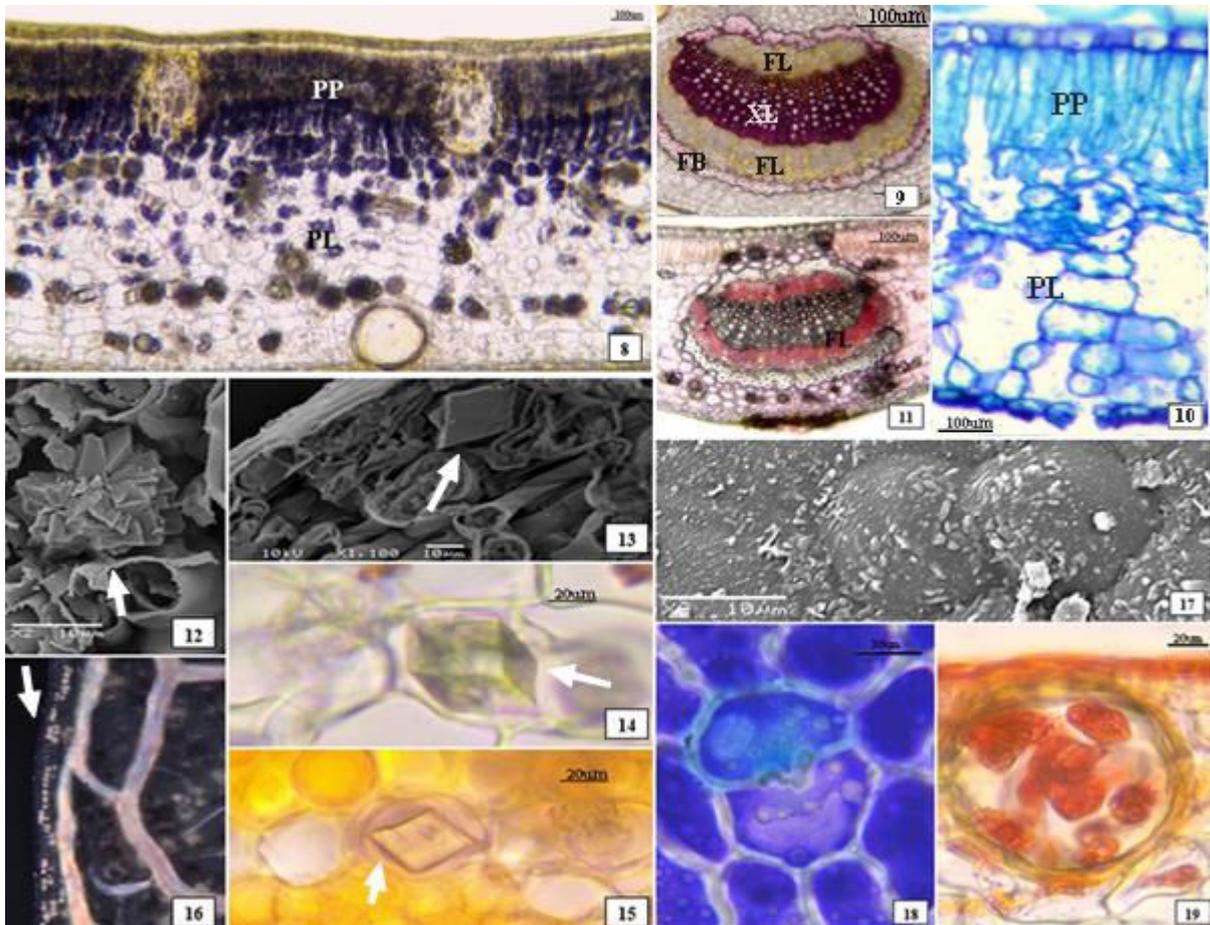


Idioblastos cristalíferos são encontrados nos parênquimas paliçádico e lacunoso, bem como, no floema e no colênquima anelar que ladeia a nervura central. Os cristais de oxalato de cálcio, testados quimicamente com ácido acético, apresentam-se na forma de drusas (Figura 12) ou cristais prismáticos (Figuras 13, 14 e 15). Os cristais também foram evidenciados sob luz polarizada, concentrados nos bordos foliares (Figura 16). Idioblastos cristalíferos são descritos por Alvarez e Silva (2012) em outras espécies de *Eugenia*.

As cavidades secretoras ocorrem predominantemente em posição subepidérmica, incluídas no parênquima clorofiliano (paliçádico e lacunoso), conforme descrito por Alvarez e Silva (2012). De acordo com Fiuza e colaboradores (2008), a composição química dos óleos essenciais dessas cavidades varia de

acordo a espécie de Myrtaceae. Quando observadas em vista paradérmica as cavidades secretoras exibem duas células de revestimento (Figura 17 e 18). Tais células, dispostas na epiderme sobre as cavidades secretoras são denominadas células sobrejacentes (*overlying cells*) e foram descritas nas espécies de *Eugenia* estudadas por Fontenelle e colaboradores (1994). O conteúdo das cavidades secretoras apresenta reação positiva para compostos lipídicos com Sudan III (Figura 19).

**Figura 8-19** - Vista transversal do limbo foliar e detalhe do parênquima paliçádico reação positiva para amido (8), coloração: Lugol. Feixe anficriaval circundado por fibras (9), coloração: Floroglucinol. Aspecto do mesofilo dorsiventral (10), coloração: Azul de Toluidina; Reação positiva para pectinas no floema (11), coloração: Vermelho de Rutênio; Cristais do tipo drusa em MEV (12); Cristais prismáticos em MEV (13) e em MO (14 e 15). Detalhe dos cristais dispostos no bordo foliar em luz polarizada (16). Cavidades secretoras em vista paradérmica destacando as duas células sobrejacentes em MEV (17) e MO (18), coloração: Azul de toluidina. Cavidade secretora em vista transversal com reação positiva para lipídios (19), coloração: Sudan III. Legenda: FB – fibras esclerenquimáticas, FL – floema, XL – xilema, PL – parênquima lacunoso, PP – parênquima paliçádico.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As características verificadas nas folhas de *Eugenia uniflora* L. auxiliam a consolidar o conhecimento anatômico e histológico da espécie e incluem: folhas hipostomáticas, estômatos paracíticos, epiderme unisseriada com cutícula estriada e raros tricomas unicelulares na face abaxial. O mesofilo é dorsiventral, o feixe vascular da nervura central é circundado por esclerênquima e colênquima anelar. Cavidades secretoras subepidérmicas distribuem-se pelo mesofilo e idioblastos cristalíferos de oxalato de cálcio concentram-se nos bordos foliares.

## REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, A.S; SILVA, R.J.F. **Anatomia foliar de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) oriundas da restinga de Algodual/Maiandeuá-Pará.** *INSULA Revista de Botânica*, n. 41, p. 83-94, 2012.
- ALVES, E.S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E.L. **Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil.** *Acta Botanica Brasílica*. v.22, n.1, p. 241-248, 2008.
- CONSOLINI, A.E; BALDINI, O.A.N; AMAT, A.G. **Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive.** *Journal of Ethno-Pharmacology*, v. 66, p. 33-39, 1999.
- DONATO, A.M.; MORRETES, B.L. **Anatomia foliar de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae).** *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.19, n.3, p.759-770, 2009.
- DÔRES, R.G.R. **Análise morfológica e fitoquímica da Fava D'Anta (*Dimorphandra mollis* Benth.).** 2007. 374p.Tese. (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- FIUZA, T. S.; REZENDE, M.H.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T.; BARA, M.T.F.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R. **Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae).** *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 5, p 21-31, 2008.
- FONTENELLE, G. B.; COSTA, C. G.; MACHADO, R. D. **Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae).** *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 115, p. 111-133, 1994.

FRANKLIN, G.L. **Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood.** *Nature*, v. 51, n., p. 39-24, 1945.

HARON, N.W.; MOORE, D.M. **The taxonomic significance of leaf micromorphology in the genus *Eugenia* L. (Myrtaceae).** *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 120, p.265-277, 1996.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique.** New York: McGraw-Hill, 1940.

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

LARCHER, L.; BOEGER, M.R.T. **Arquitetura foliar de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae) em duas condições de luminosidade.** *Hoehnea*, v. 36, n.2, p. 321-327, 2009.

LORENZI, H.; ABREU, F.J.M. **Plantas Medicinais do Brasil.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MARTINEZ-CORREA, H.A.; MAGALHÃES, P.M.; QUEIROGA, C.L.; PEIXOTO, C.A.; OLIVEIRA, A.L.; CABRAL, F.A. **Extracts from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves: Influence of extraction process on antioxidant properties and yield of phenolic compounds.** *Journal of Supercritical Fluids*, v. 55, p. 998–1006, 2011.

OGUNWANDE, I.A.; OLAWORE, N, O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T.M.; SCHMIDT, J.M.; SETZER, W.N. **Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L.** *The International Journal of Aromatherapy*, v.15, p. 147-152, 2005.

SANTOS, K.A.; MATIAS, E.F.F.; TINTINO, S.R.; SOUZA, C.E.S.; BRAGA, M.F.B.M.; GUEDES, G.M.M.; ROLÓN, M.; VEGA, C.; ARIAS, A.R.; COSTA, J.G.M.; MENEZES, I.R.A.; COUTINHO, H.D.M. **Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L..** *Experimental Parasitology*, v. 131, p 130-132, 2012.

VENNING, F.D. **Manual of advanced plant microtechnique.** Dubuque: WM.C. Brown, 1954.

VICTORIA, F.N.; LENARDÃO, E.J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R.G.; ALVES, D.; SILVA, V.P.; MOTTA, A.S.; NASCENTE, P.S. **Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, p 2668-2674, 2012.