

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho
Instituto Federal Goiano – IF Goiano
astronomoamadorgoias@gmail.com

Carlos Frederico de Souza Castro
Instituto Federal Goiano – IF Goiano
carlofffscastro@gmail.com

ANÁLISE MORFOLÓGICA FOLIAR DE *Anacardium humile* A. St.-Hil. (*Anacardiaceae*)

RESUMO

Anacardium humile conhecido por cajuzinho-do-campo é encontrado em áreas de Cerrado. Esta espécie é utilizada como fitoterápica, e as folhas apresentam importantes ações farmacológicas. Com isso o estudo morfológico foliar contribui para os estudos de taxonomia, ecologia e da farmacologia. Este estudo teve por objetivo descrever as características morfológicas das folhas do cajuzinho-do-campo a partir da técnica de diafanização com azul de toluidina e safranina. As folhas apresentam-se tamanho média entre 10-25 cm, simples, coriáceas e discoloras, com apenas um tipo de tricoma glandular na face abaxial, nervuras salientes na face abaxial, com apenas 1 nervura primária, sendo observadas nervuras até 4ª ordem de grandeza, aréolas completas, estômatos diaclíticos com disposição randômica, F.E.V.S bifurcados com duas ramificações, não há presença de veia fimbrial na margem foliar. O estudo morfológico foliar de *A. humile*, apresentou importantes resultados para que possam ser utilizados na identificação do material foliar no estudo taxonômico e farmacológico evitando assim, fraudes e processamento de material fitoterápico inconsistente.

Palavras-chave: Diafanização. Azul de toluidina. Aréolas. Nervura primária. F.E.V.S.

MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF THE LEAVES OF *Anacardium humile* A. St. – Hil. (*Anacardiaceae*)

ABSTRACT

Anacardium humile known as *cajuzinho-do-campo* is found in *Cerrado* areas. This species is used as phytotherapeutic, and the leaves present important pharmacological actions. With this, the leaf morphological study contributes to the taxonomy, ecology and pharmacology studies. The objective of this study was to describe the morphological characteristics of the leaves of the field *cajuzinho-do-campo* from the technique of diaphanization with toluidine blue and safranin. The leaves had a mean size between 10-25 cm, simple, coriaceous and discolors, with only one type of glandular trichoma on the abaxial surface, ribs protruding on the abaxial face, with only 1 primary vein, and veins up to the 4th order of magnitude, complete areolas, diactic stomates with a random disposition, bifurcated FEVS with two branches, there is no fimbrial vein in leaf margin. The foliar morphological study of *A. humile* presented important results so that they can be used in the identification of foliar material in the taxonomic and pharmacological study, thus avoiding fraud and processing of inconsistent phytotherapeutic material.

Keywords: Diaphanization. Toluidine blue. Areolas. Primary vein. F.E.V.S.

1. INTRODUÇÃO

O domínio Cerrado é o segundo maior em variedade de fauna e flora do Brasil, onde esse importante banco de biodiversidade apresenta inúmeras espécies vegetais frutíferas que servem de alimento para a fauna local, de transição e para o homem (SANO et al., 2019).

Dentre as espécies vegetais do Cerrado, encontra-se o *Anacardium humile*, conhecido popularmente por “cajuzinho-do-campo ou cajuzinho-rasteiro”.

O *Anacardium humile* pertence à família Anacardiaceae, sendo uma espécie frutífera anual, sendo um arbusto com altura entre 30 a 90 cm de altura, raízes longas, inflorescências, apresentando cálice esverdeado, pétalas vermelhas listradas e pseudofruto de coloração avermelhada com aroma agradável, sendo consumidos *in natura*, na forma de suco, doce, licor e vinho (NERY et al., 2010; LUIZ-FERREIRA et al., 2008). A família *Anacardium* apresenta inúmeras espécies com ações fitoterápicas, apresentando efeito anti-inflamatório, adstringente, gastroprotetora, antitumoral e anti-helmíntica (MOTA et al., 1985). O extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale* apresenta atividade antibactericida de largo espectro, apresentando importantes resultados em espécies bacterianas como em *Klebsiella pneumoniae* que são resistentes à estreptomicina (MELO et al., 2006).

As folhas representam papel importante como órgão vegetal da planta, onde ocorrem as atividades de fotossíntese, produção de

metabólitos primários e secundários de grande importância para o vegetal como óleos essenciais, alcaloides, flavonoides, esteroides, taninos e saponinas. Ainda, as folhas também apresentam para a taxonomia morfológica importante fonte de estudo para identificação dos táxons dentro e dentre as famílias botânicas (AQUINO et al., 2019).

O estudo morfológico foliar através de artifícios com o uso de corantes proporciona imagens importantes a respeito das estruturas morfológicas foliares, sendo de grande importância no estudo taxonômico de uma espécie. Além disso, várias plantas são utilizadas na fitoterapia, sendo importante o estudo foliar tanto *in natura* quanto seca, para que se evitem fraudes ou mesmo coleta de material vegetal erroneamente (SIMÕES et al., 2007).

Este estudo teve por objetivo avaliar a morfologia foliar de *Anacardium humile* aplicando a técnica de diafanização foliar para identificação das estruturas morfoestruturais desta espécie em risco de extinção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As folhas adultas de *Anacardium humile*, foram coletadas em uma área de Cerrado ralo localizado na Universidade de Rio Verde, Campus Rio Verde, Goiás. A localização apresenta as seguintes coordenadas geográficas: 17°47'12.9''S 50°57'56.3''W. A espécie foi identificada pelo Biólogo Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho. Uma exsicata foi herborizada e depositada no Herbário do Instituto Federal de

Educação, Ciência e Tecnologia Goiano com o seguinte número de registro HRV: 842.

Foram coletadas cerca de 20 folhas maduras, sem ataque de herbívoros e sem ferimentos ocasionados por fitopatógenos. As folhas foram diafanizadas inteiras para que não ocorresse qualquer alteração na venação, decorrente durante o processo de montagem. A técnica de diafanização seguiu conforme descrito por Fonsêca et al. (2007) adaptado. As folhas foram estocadas em 150 mL de uma solução de álcool etílico 70% (m/v) com 15 mL de detergente líquido comercial, até que os pigmentos naturais fossem completamente removidos em um período de 60 dias. Logo em seguida, as folhas foram lavadas em água destilada. O material vegetal foi imerso em 100 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 5% (m/v) e deixado em descanso por 12 horas. Em seguida o material foi lavado em água destilada (4 lavagens por 10 minutos). Logo após a lavagem, adicionou-se uma solução de hipoclorito de sódio a 5% (v/v) e deixou-se em descanso por 12 horas.

Após esse tempo, o material foi lavado em água destilada. Em seguida o material vegetal foi desidratado em uma série de concentrações etanólicas (10, 30, 50, 70, 95%) em cada série, o material ficou em descanso por 1 hora. Em seguida, foram coradas em soluções aquosas de azul de toluidina 1% (m/v) e safranina 1% (m/v) separadamente. Para cada corante foram diafanizadas 10 folhas, os dois procedimentos ficaram imersos em descanso por 30 minutos. O material foi diferenciado na solução de Xilol-Etanol (1:1) (v/v) por 72 horas. Em seguida, o material foliar foi submerso em Xilol (P.A – ACS) por 1 hora.

Para detalhamento acurado da venação e demais estruturas morfológicas, foram realizadas fotomicrografias em diferentes ampliações, utilizando uma câmera digital acoplada ao microscópio óptico. As fotomicrografias foram tratadas digitalmente com auxílio do programa computacional ImageJ. Para descrição e classificação dos padrões de nervação e análise acurada da morfologia, foi utilizado *Manual of Leaf Architecture* (1999) do Instituto Smithsonian, bem como material proposto por Hickey (1973).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 está apresentado um exemplar de *Anacardium humile* em ambiente de cerrado.



Figura 1. Em A, indivíduo de *Anacardium humile* em área de Cerrado ralo. Foto da pesquisa.

As folhas de *A. humile* são simples e coriáceas, geralmente apresentam em forma de tufos, as nervuras são salientes na face abaxial apresentando coloração amarela, em ambas as faces são observadas tonalidades (discolor) no limbo foliar, Figura 1 (pranchas A e B). As folhas de *A. humile* apresentam tamanho médio entre 10-25 cm. O mesmo foi observado por Lorenzi e Matos (2008). Não há veia fimbrial na margem foliar. A base foliar é do tipo obovadas,

simetria da lâmina inteira, forma da base cuneada, posição do pecíolo marginal, ápice da base arredondada, o tipo da margem foliar é erosa e unilobulada.

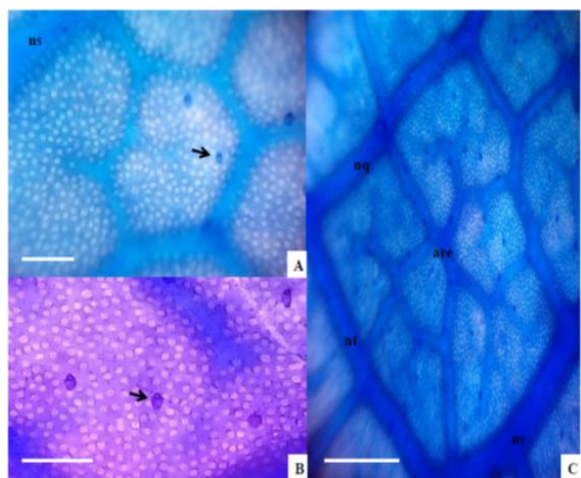


Figura 2. Em A, B e C, lâmina foliar face abaxial de *Anacardium humile* corada com azul de toluidina. **ns** = nervura secundária, **nt** = nervura terciária, **nq** = nervura quaternária, **are** = aréola, **seta** = tricoma glandular. Barras em A 90µm, B 100 µm e em C 45 µm. Fotos da pesquisa.

A parede celular em ambas as faces em *A. humile* apresentam-se sinuosas. O mesmo foi observado por Ramos et al. (2016) em *A. occidentale*. Os detalhes morfoanatômicos são facilmente observados apenas na face abaxial, onde é possível verificar as estruturas do padrão de nervação até 4ª ordem, numerosos estômatos e tricomas glandulares Figura 2 (pranchas A, B e C). Os F.E.V.S apresentam 2 ramificações Figura 2 (prancha C). Apresenta apenas uma nervura primária do tipo pinada Figura 3 (prancha B), a nervura secundária do tipo broquidódroma Figura 3 (prancha C), nervuras secundárias contínuas do tipo semicraspedódroma, espaçamento das nervuras secundárias do tipo uniforme, e intersecundárias fracas.

As nervuras terciárias são do tipo alternado percorrentes, as nervuras quaternárias são do tipo percorrentes alternadas. As aréolas são do tipo completas Figura 3 (pranchas A e C).

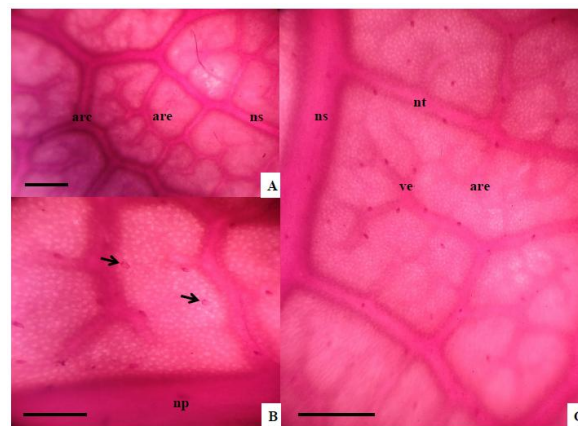


Figura 3. Em A, B e C, lâmina foliar face abaxial de *Anacardium humile* corada com safranina. **are** = aréola, **arc** = arco, **np** = nervura primária, **ns** = nervura secundária, **nt** = nervura terciária, **ve** = vênula, **seta** = tricomas glandulares. Barras em A 80 µm, B 95 µm e C 68 µm. Fotos da pesquisa.

Na análise da face abaxial foliar de *A. humile* foram observados inúmeros tricomas glandulares unicelulares dispostos sobre toda a área da lâmina foliar, exceto nas nervuras Figura 3 (pranchas B e C).

Os tricomas são descritos morfologicamente em glandulares e tectores, estando presentes na superfície da epiderme foliar, galhos e flores. Estas estruturas apresentam funções específicas, como, refletir a radiação solar, evitar a perda de água pelo vegetal, equilibrar a temperatura das plantas, como defesa contra insetos bem como secretar compostos químicos (aromas) para o processo de polinização (RAMOS et al., 2016; MARIN et al., 2010; BOSABALIDIS; TSEKOS, 1982).

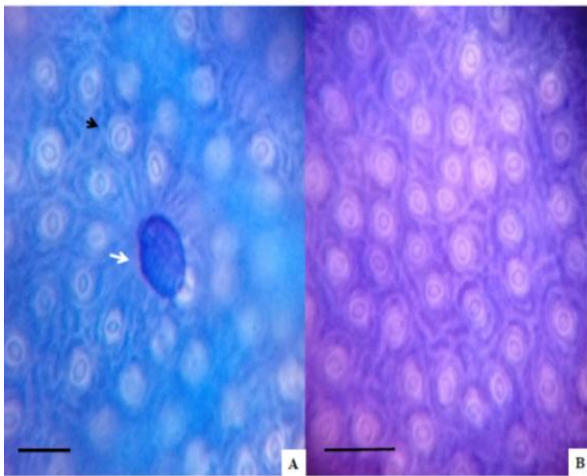


Figura 4. Lamina foliar face abaxial corada com azul de toluidina em *Anacardium humile*. **Seta** (preta) = estômato e **seta** (branca) = detalhe do tricoma glandular cheio. Barras em **A** 100 μ m e em **B** 150 μ m. Fotos da pesquisa.

A folha é do tipo hipostomática com estômatos do tipo diacíticos, inseridos ao nível da epiderme, sendo acompanhadas de duas células subsidiárias que apresentam estrias epidérmicas na sua porção lateral, com orientação paralela as células guardas Figura 4 (pranchas A e B). Em *Anacardium occidentale* Rocha et al. (2015) e Ramos et al. (2016), observaram para esta espécie, estômatos paracíticos, sendo observados apenas na face abaxial foliar.

Os estômatos possuem grande relevância para o estudo taxonômico de uma espécie. Sua morfoanatomia é constituída por um poro, conhecido por ostíolo e um par de células guardas; estas estruturas formam o complexo estomatal, sendo rodeados por células subsidiárias (RAMOS et al., 2015).

Azevedo (2015) avaliou a morfologia foliar de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*) onde a morfologia dos estômatos apresentam estrias epidérmicas com diferenciação entre as demais espécies da família Anacardiaceae.

4. CONCLUSÃO

O estudo da morfologia foliar de *A. humile* apresentou importantes dados para a taxonomia vegetal, além de fornecer informações importantes para os estudos de fisiologia vegetal, fitoterapia e ecologia desta espécie, bem como compor maiores informações para comparação entre as demais espécies da família *Anacardiaceae*. As análises morfológicas realizadas neste estudo para as folhas de *A. humile* contribuirão para a correta identificação da espécie através deste órgão vegetal, complementando o estudo por chaves de identificação da família *Anacardiaceae*.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, GO; aos Laboratórios de Microscopia Óptica, Microbiologia de Alimentos e Química Tecnológica; a CAPES, CNPq, FINEP e FAPEG pela bolsa de mestrado para o primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, A. J.; ALVES, T. da C.; OLIVEIRA, R. V.; FERREIRA, A. G.; CASS, Q. B. Chemical secondary metabolite profiling of *Bauhinia longifolia* ethanolic leaves extracts. **Industrial Crops & Products**, v.132, p. 59-68, 2019.
- AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G. M.; BRUNO, R. L. A. Estudo farmacobotânico de partes vegetais de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p. 26-35, 2015.
- BOSABALIDIS, A.; TSEKOS, I. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. **Planta**, v.156, p. 496-504, 1982.

- FONSÊCA, L. C. M.; PROENÇA, C. E. B.; GONÇALVES, E. G. Descrição do padrão de venação foliar em *Spathicarpa* Hook. (*Araeae*). **Acta Botânica Brasileira**, v.21, n.1, p. 213-221, 2007.
- HICKEY, L. J. Classification of architecture of dicotyledonous leaves. **Botanical Gazette**, v.60, n.1, p. 17-33, 1973.
- Leaf Architecture Working Group. Manual of leaf Architecture – Morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous angiosperms. Washington, DC., Department of Paleobiology, Smithsonian Institution, p. 1-67, 1999.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. 2ª Ed., Nova Odessa, SP. 544 pp. 2008.
- LUIZ-FERREIRA, A.; COLA-MIRANDA, M.; BARBASTEFANO, V.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W.; BRITO, A. R. M. S. Should *Anacardium humile* St. Hil. Be used as na antiulcer agent? A scientific approach to the traditional knowledge. **Fitoterapia**, v.79, p. 207-209, 2008.
- MARIN, M.; JANIC, N.; LAKUSIC, D.; DULETIC-LAUSEVIC, S.; ASCENSÃO, L. The micromorphological, histochemical and confocal analysis of *Satureja subspicata* Bartl. ex Vis. Glandular trichomes. **Archives of Biological Science Belgrade**, v.62, n.4, p. 1143-1149, 2010.
- MELO, A. F. M de.; SANTOS, E. J. V.; SOUZA, L. F. C de.; CARVALHO, A. de A. T.; PEREIRA, M. do S. V.; HIGINO, J. S. In Vitro antimicrobial activity of na extract of *Anacardium occidentale* L. against *Streptococcus* species. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n.2, p. 202-205.
- MERRIL, E. K. Comparison of mature leaf architecture of three types in *Sorbus* L. (*Rosaceae*). **Botanical Gazette**, v.139, n.4, p. 447-453, 1978.
- MOTA, M. L. R.; THOMAS, G.; BARBOSA-FILHO, J. M. Antiinflammatory actions of tannins isolate from the bark of *Anacardium occidentale* L. **Journal Ethnopharmacology**, v.13, p. 289-300, 1985.
- NERY, P. S.; NOGUEIRA, F. A.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Effects of *Anacardium humile* leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.171, n.3-4, p. 361-364, 2010.
- RAMOS, G. Q.; COTTA, E. A.; FILHO, H. D. da F. Análise morfológica das folhas de *Anacardium occidentale* L. **Biota Amazônia**, v.6, n.1, p. 16-19, 2016.
- ROCHA, L. A.; ROCHA, A. M.; PACHECO, A. C. L.; ABREU, M. C de. Diferenças foliares morfoanatômicas de quatro espécies da família *Anacardiaceae*. **Caderno de Pesquisa**, v.27, n.2, p. 35-48, 2015.
- SANO, E. E.; RODRIGUES, A. A.; MARTINS, E. S.; BETTIOL, G. M.; BUSTAMANTE, M. M. C.; BEZERRA, A. S.; COUTO Jr, A. F.; VASCONCELOS, V.; SCHÜLER, J.; BOLFE, E. L. Cerrado ecoregions: A spatial framework to assess and prioritize Brazilian savana environmental diversity for conservation. **Journal of Environmental Management**, v.232, p. 818-828, 2019.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHEKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª Ed., Porto Alegre: UFRGS/Florianópolis: UFSC, 2007.

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho

Mestrando em Agroquímica pelo IF Goiano, Rio Verde (GO)

Carlos Frederico de Souza Castro

Docente pelo IF Goiano, Rio Verde (GO)
