

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós Graduação em Inovação Terapêutica

ALEX LUCENA DE VASCONCELOS

**Caracterização Microscópica e Identificação da Presença de Ácido
Oxálico em Espécies Frutíferas Utilizadas no Tratamento de Hipertensão e
Diabetes**

Recife

2017

ALEX LUCENA DE VASCONCELOS

**Caracterização Microscópica e Identificação da Presença de Ácido
Oxálico em Espécies Frutíferas Utilizadas no Tratamento de Hipertensão e
Diabetes**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica, da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito para a obtenção do Título
de Doutor em Inovação Terapêutica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Karina
Perrelli Randau

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto
Lira Soares

Recife

2017

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Vasconcelos, Alex Lucena de

Caracterização microscópica e identificação da presença de ácido oxálico em espécies frutíferas utilizadas no tratamento de hipertensão e diabetes / Alex Lucena de Vasconcelos. – 2017.

204 f. : il.

Orientadores: Karina Perreli Randau, Luiz Alberto Lira Soares

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Pós-graduação em Inovação Terapêutica, Recife, 2017.

Inclui referências

1. Plantas medicinais 2. Diabetes 3 Hipertensão I. Randau, Karina Perreli (orientadora) II. Soares, Luiz Alberto Lira (coorientador) III. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2017-467

ALEX LUCENA DE VASCONCELOS

**CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA E IDENTIFICAÇÃO DA PRESENÇA
DE ÁCIDO OXÁLICO EM ESPÉCIES FRUTÍFERAS UTILIZADAS NO
TRATAMENTO DE HIPERTENSÃO E DIABETES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Inovação Terapêutica.

Aprovada em: 02/08/2017

COMISSÃO EXAMINADORA

Karina Perrelli Randau

Flávia Carolina Lins da Silva

Severino Grangeiro Júnior

Evani Lemos de Araújo

Alberício Pereira de Andrade

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR(A) DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profa. Dra. Maria Eduarda Lacerda de Larrazábal

VICE- DIRETOR(A) DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profa. Dra. Oliane Maria Correia Magalhães

**COORDENADOR(A) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

Profa. Dra. Maira Galdino da Rocha Pitta

**VICE- COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

À Josi e Ana Laura, razão de minhas vitórias.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, minha força, vitória e sustento, pois sem o seu amor nada seria possível.

À profa. Dra. Karina Perrelli Randau, pela orientação, atenção, paciência, e ajuda, onde além de grande exemplo profissional encontrei suporte e verdadeira amizade. Este trabalho não seria possível sem a sua orientação.

Ao professor Dr. Luiz Alberto de Lira Soares pelo seu apoio, ajuda, amizade e orientação sempre à disposição.

Aos colegas do Laboratório de Farmacognosia pela inestimável contribuição, parceria e luta compartilhada.

Aos meus pais, Aurilene Lucena e José Alves, aos meus avós Maria de Lourdes e José Severino e a toda a minha família pelo suporte, amor e torcida, essenciais em todo esse processo.

Aos amigos presentes em minha vida e a todos que fazem parte do grupo refúgio, pelo compartilhamento dos momentos difíceis e alegrias vividas.

Ao meu amor, minha esposa Josi Lima, por toda compreensão, pelas angustias divididas, pelo suporte nas noites escuras, por vivificar a minha fé, por ser a razão e corresponsável de todas as minhas conquistas.

Ao nosso maior tesouro, nossa filha Ana Laura, razão e motivação para conclusão desta pesquisa.

“Quem tem um porquê enfrenta
qualquer como.”

(Victor Frankl)

RESUMO

Diversas espécies frutíferas são utilizadas tradicionalmente no tratamento de Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT). Algumas dessas espécies vegetais são ricas em ácido oxálico, podendo favorecer o desenvolvimento de nefropatias, acentuando assim o desajuste metabólico destes pacientes. Esta tese tem como objetivo identificar e caracterizar a presença de cristais de oxalato de cálcio em nove espécies vegetais frutíferas utilizadas para o tratamento de hipertensão e diabetes e otimizar metodologia para quantificação de ácido oxálico. As espécies selecionadas foram abacateiro, cajazeiro, cajueiro, caramboleira, jenipapeiro, laranjeira, limoeiro, romãzeira e tamarindeiro, dos quais as folhas foram utilizadas para análise. Para isso, foram utilizadas técnicas de microscopia de luz, de polarização, microscopia eletrônica de varredura acoplada a espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDS) e espectrofotometria UV/ VIS. Na análise de microscopia de luz foram observados tricomas tectores e glandulares, com maior incidência na face abaxial, estômatos dos tipos anomocíticos, anisocíticos e paracíticos, feixes vasculares colaterais e anficrivais, presença de esclerênquima na nervura central de algumas espécies e de diferentes tipos de cristais de oxalato de cálcio. As imagens obtidas por MEV/ EDS permitiram detalhar aspectos ultramicroscópicos, como forma, disposição e textura das características anatômicas, além da determinação química elementar dos cristais de oxalato de cálcio, a determinação dos macropadrões cristalográficos apresentados e detalhes das estruturas celulares em que estão alojados. Os ensaios histoquímicos revelam a presença de amido nas células parenquimáticas, evidencição de cutícula revestindo as células epidérmicas, estruturas lignificadas na nervura central da folha e em fibras esclerenquimáticas, polifenóis em células epidérmicas e parenquimáticas, óleos essenciais no interior de canais secretores ou mesmo em alguns idioblastos ao longo do mesofilo, esteroides no córtex da nervura central e proantocianidinas no parênquima paliçádico de algumas espécies. O presente estudo demonstrou que o método espectrofotométrico desenvolvido foi adequado para doseamento de ácido oxálico na solução extrativa de folhas de *Avherroa carambola*,

obtendo-se 1,7 g/ 100g de droga vegetal, demonstrando ser preciso ($CV \leq 5\%$), específico e linear ($R^2 = 0,996$). Diante disso, observou-se a importância deste estudo na caracterização anatômica e histoquímica destas espécies, na determinação dos padrões morfológicos dos cristais encontrados, sua composição e localização, além do conhecimento a respeito do conteúdo de ácido oxálico presente nas plantas medicinais. Os resultados obtidos auxiliaram no conhecimento destas espécies amplamente utilizadas no tratamento de diversas patologias, como as DCNT, mas que seu uso indiscriminado pode acarretar toxicidade e comprometimento renal.

Palavras-chave: Ácido oxálico. Doseamento. Cristais.

ABSTRACT

Several fruit species are traditionally used in the treatment of Chronic Non communicable Diseases (CNCD). Some of these plant species are rich in oxalic acid, and may favor the development of refractory diseases, thus accentuating the metabolic imbalance of these patients. This thesis aims to identify and characterize the presence of calcium oxalate crystals in nine fruit vegetable species used for the treatment of hypertension and diabetes and to optimize methodology for the quantification of oxalic acid. The selected species were abacateiro, cajazeiro, cajueiro, caramboleira, jenipapeiro, laranjeira, limoeiro, romãzeira and tamarindeiro, from which the leaves were used for analysis. For this, light microscopy polarization, scanning electron microscopy coupled to energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) and UV / VIS spectrophotometry were used. Cortical and glandular trichomes were observed, with a greater incidence on the abaxial face, stomata of the anomocytic, anisocytic and paracytic types, collateral and anficriial vascular bundles, presence of sclerenchyma in the veins of some species and different types of calcium oxalate crystals. The images obtained by MEV / EDS allowed to detail ultramicroscopic aspects, such as shape, arrangement and texture of anatomical characteristics, as well as the elemental chemical determination of calcium oxalate crystals, the determination of crystallographic macropods presented and details of the cellular structures in which they are housed. Histological assays reveal the presence of starch in parenchyma cells, evidence of cuticle lining the epidermal cells, lignified structures in the leaf vein and in sclerenchyma fibers, polyphenols in epidermal and parenchymal cells, essential oils inside secretory cannals or even in some idioblasts. Along the mesophyll, steroids in the cortex cortex and proanthocyanidins in the palisade parenchyma of some species. The present study showed that the spectrophotometric method developed was adequate for the determination of oxalic acid in the extractive solution of leaves of *Avherroa carambola*, obtaining 1.7 g / 100 g of vegetal drug, demonstrating to be precise ($CV \leq 5\%$), specific and Linear ($R^2 = 0.996$). Therefore, the importance of this study in the anatomical and histochemical characterization of these species, in the determination of the morphological patterns of the crystals found, their composition and location, and

the knowledge about the oxalic acid content present in the medicinal plants are observed. The results obtained aid in the knowledge of these species widely used in the treatment of diverse pathologies, like the DCNT, but that their indiscriminate use can lead to toxicity and renal compromise.

Keywords: Oxalic acid. Quantifying. Crystals

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Persea americana</i> Mill.	45
Figura 2 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Spondias mombin</i> L.	50
Figura 3 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.	54
Figura 4 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Averrhoa carambola</i> L.	57
Figura 5 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Genipa americana</i> L.	61
Figura 6 – Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Citrus x aurantium</i> L.	65
Figura 7 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jiménez.	69
Figura 8 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de <i>Punica granatum</i> L.	73
Figura 9 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas de <i>Tamaridus indica</i> L.	77
Figura 10 – Histolocalização de metabólitos em folhas de <i>Persea americana</i> Mill.	82
Figura 11 - Histolocalização de metabólitos presentes em folíolos de <i>Spondias mombim</i> L.	86
Figura 12 - Histolocalização de metabólitos presentes em folíolos de <i>Anacardium occidentale</i> L.	90
Figura 13 - Histolocalização de metabólitos presentes em folíolos de <i>Averrhoa carambola</i> L.	93
Figura 14 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de <i>Genipa americana</i> L.	98
Figura 15 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de <i>Citrus x aurantium</i> L.	101
Figura 16 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de <i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jiménez.	104
Figura 17 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de <i>Punica granatum</i> L.	108

Figura 18 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de <i>Tamarindus indica</i> L.	112
Figura 19 – Secções transversais das folhas das espécies analisadas sob Microscopia de Luz Polarizada.	117
Figura 20 – Secções transversais das folhas das espécies analisadas sob Microscopia de Luz Polarizada.	120
Figura 20 – Macropadrões Cristalográficos observados nas espécies analisadas.	124
Figura 21 – Macropadrões cristalográficos observados nas espécies analisadas.	128
Figura 22 – Difractogramas obtidos na determinação da composição química elementar dos cristais das espécies analisadas.	131
Figura 23 – Varredura dos espectros de absorção na determinação do comprimento de onda.	134
Figura 24 – Estudo de cinética para o padrão de Ácido Oxálico	135
Figura 25 – Curva de calibração para o Ácido Oxálico.....	137
Figura 26 – Estudo de estabilidade da Solução Reagente (SR).....	139
Figura 27 – Varredura dos espectros de absorção na determinação do comprimento de onda	143
Figura 28 – Estudo de cinética reacional para a a solução extrativa das folhas de <i>Avherroa carambola</i> L.....	144
Figura 29 - Curva de calibração para a solução extrativa das folhas de <i>Avherroa carambola</i> L.	145

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Legitimação botânica das espécies utilizadas na pesquisa.	35
Quadro 2 – Resumo das principais características anatômicas e ultra-anatômicas observadas nas espécies analisadas.....	78
Quadro 3 – Resumo dos ensaios histoquímicos realizados nas espécies analisadas.	113
Quadro 4 –Resumo dos resultados obtidos na análise morfológica e composição elementar dos cristais presentes nas espécies analisadas.	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ensaio de repetibilidade do método para o Ácido Oxálico. 140

Tabela 2 – Ensaio de precisão intermediária do método para o Ácido Oxálico
..... 141

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DCNT	Doenças Crônicas não Transmissíveis
GA	Glutaraldeído
MLP	Microscopia de Luz Polarizada
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PPGIT	Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica
SL	Solução de Leitura
SR	Soluções Reagentes
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	23
2.1 GERAL	23
2.2 ESPECÍFICOS	23
3 REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1 <i>Persea americana</i> Mill	25
3.2 <i>Spondias mombin</i> L.	25
3.3 <i>Anacardium occidentale</i> L.	26
3.4 <i>Averrhoa carambola</i> L.	27
3.5 <i>Genipa americana</i> L.	27
3.6 <i>Citrus aurantium</i> L.	28
3.7 <i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jiménez	29
3.8 <i>Punica granatum</i> L.	30
3.9 <i>Tamarindus indica</i> L.	30
3.10 ASPECTOS GERAIS	31
4 METODOLOGIA	35
4.1 MATERIAL VEGETAL	35
4.2 CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA	36
4.3 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA	36
4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA E COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DOS CRISTAIS	37
4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	37
4.6 OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO NA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO	38
4.6.1 Preparação das Soluções Reagentes (SR)	38

4.6.2	Preparação da amostra.....	38
4.6.3	Seleção do comprimento de onda para leitura.....	39
4.6.4	Estudo de cinética reacional	39
4.6.5	Construção da Curva de Calibração.....	39
4.6.6	Avaliação da estabilidade da Solução de Leitura (SL) para o padrão	40
4.6.7	Ensaio de Precisão para o padrão de Ácido oxálico.....	40
4.6.8	Ensaio de Exatidão.....	41
5	RESULTADOS.....	41
5.1	CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA	41
5.1.1	<i>Persea americana</i> Mill.....	41
5.1.2	<i>Spondias mombin</i> L.	46
5.1.3	<i>Anacardium occidentale</i> L.....	51
5.1.4	<i>Averrhoa carambola</i> L.....	55
5.1.5	<i>Genipa americana</i> L.	58
5.1.6	<i>Citrus x aurantium</i> L.....	62
5.1.7	<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jiménez	66
5.1.8	<i>Punica granatum</i> L.	70
5.1.9	<i>Tamarindus indica</i> L.....	74
5.2	CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA	79
5.2.1	<i>Persea americana</i> Mill.....	79
5.2.2	<i>Spondias mombin</i> L.	83
5.2.3	<i>Anacardium occidentale</i> L.....	87
5.2.4	<i>Averrhoa carambola</i> L.....	91
5.2.5	<i>Genipa americana</i> L.	94
5.2.6	<i>Citrus x aurantium</i> L.....	99
5.2.7	<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jiménez	102

5.2.8 <i>Punica granatum</i> L.	105
5.2.9 <i>Tamarindus indica</i> L.	109
5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA E COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DOS CRISTAIS	114
5.3.1 Determinação da distribuição tissular dos cristais através de Microscopia de Luz Polarizada (MLP)	114
5.3.2 Caracterização dos macropadrões cristalográficos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e de Transmissão (MET)	121
5.3.3 Determinação da composição química elementar dos cristais por Análise de Raios X por Dispersão de energia (EDS) acoplado à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)	129
5.4 METODOLOGIA ANALÍTICA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO	134
5.4.1 Seleção do comprimento de onda	134
5.4.2 Estudo de cinética reacional para o ácido oxálico	135
5.4.3 Linearidade	136
5.4.4 Avaliação da estabilidade da Solução de Leitura (SL)	138
5.4.5 Precisão	140
5.4.6 Quantificação de Ácido Oxálico em amostras vegetais.	142
5.4.7 Seleção do comprimento de onda para leitura da amostra de Avehorroa Carambola L.	142
5.4.8 Estudo de cinética reacional para amostra da amostra de Avehorroa Carambola L.	144
5.4.9 Curva de calibração da amostra de Avehorroa Carambola L.	145
5.4.10 Exatidão	147
6 CONCLUSÃO	147
REFERÊNCIAS	149

1 INTRODUÇÃO

Historicamente utilizada como recurso essencial no tratamento dos diferentes distúrbios relacionados à saúde humana, as plantas medicinais passaram hoje a designar um papel alternativo e coadjuvante às dispendiosas terapias farmacológicas convencionais. Observa-se atualmente por parte da população um resgate do conhecimento empírico, acumulado por anos, e uma nova tendência mundial na busca pelo natural.

Por ser considerado como um dos países de maior biodiversidade do planeta, além de apresentar uma rica diversidade étnica e cultural, o Brasil apresenta grande potencial para o desenvolvimento de pesquisas relacionadas a produtos de origem vegetal como fonte para pesquisa de novas biomoléculas de interesse terapêutico. Apesar de apresentar essa grande diversidade vegetal, apenas 10% do total de espécies catalogadas foi estudada do ponto de vista químico e/ou farmacológico (MIGUEL, 2004).

As espécies frutíferas apresentam considerável importância social e econômica, devido ao caráter alimentício de seus frutos, além de seu emprego na medicina tradicional. Diversas espécies endêmicas, com frutos de sabores exóticos e de grande apelo comercial, também são conhecidas pelo poder terapêutico de suas folhas, no tratamento de diversos tipos de patologia. Diferentes espécies frutíferas são utilizadas popularmente por suas ações antidiabéticas, anti-hipertensivas, problemas decorrentes da obesidade e diversos processos inflamatórios (KHANDARE et al., 2000, AMJAD, 2005, ANITA et al., 2005, MILLER, 2005, AGRA 2008, ARUL, 2011, CABRINI, 2011, SURYAWANSHI, 2011, CHACKO e ESTHERLYDIA, 2014).

Muitas dessas espécies são usadas no tratamento das Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT), consideradas hoje como grandes responsáveis pela morbimortalidade em muitos países. Pode-se dizer que em todos os lugares no mundo estas doenças constituem o principal problema de saúde pública, tanto para homens quanto para mulheres, e no Brasil representam em torno de 72% das doenças que acometem a população (GOULART, 2011).

Na tentativa de aumentar o êxito no tratamento de uma DCNT, muitos pacientes acabam optando pelo uso indiscriminado de plantas medicinais, na maioria das vezes sem nenhuma orientação ou conhecimento médico. Algumas dessas espécies vegetais são ricas em ácido oxálico, podendo favorecer o comprometimento renal, acentuando assim o desajuste metabólico destes pacientes.

A Hipertensão Arterial e/ou *Diabetes mellitus* estão intimamente relacionadas com a função renal, podendo ser tanto a causa como a consequência de uma DCNT (BORTOLOTTI, 2008). O agravamento destas doenças pode estar associado à ingestão de ácido oxálico. Esta ingestão pode se dar através da dieta com alimentos ricos em ácido oxálico, a exemplo de espinafre, ruibarbo, acelga, beterraba, tomate, nozes e cacau (KRAUSE; MAHAN, 1998; MASSEY; ROMAN-SMITH; SUTTON, 1993); ou juntamente com a água utilizada para a preparação do chá ou decocto, onde os cristais de oxalato de cálcio estão presentes. Estes cristais encontram-se nos tecidos das plantas utilizadas, principalmente se a droga vegetal estiver pulverizada ou com alto grau de cominuição (SCARDELATO; LEGRAMANDI; SACRAMENTO, 2013).

Os oxalatos se encontram na maioria das plantas em maior ou menor proporção. Alimentos de origem vegetal contêm quantidades variáveis destas substâncias. Porém, algumas espécies podem apresentar concentrações elevadas de oxalatos, podendo provocar intoxicações em animais e em seres humanos (PIOLA, 2013). Um exemplo disto são as espécies que compõem Oxalidaceae, onde a abundância no conteúdo de ácido oxálico é uma característica comum entre elas, responsável pelo nome dado a esta família (LOURTEIG, 1983; KISSMANN e GROTH, 1991). Estes metabólitos podem ser encontrados em quantidades que variam de 2 a 8% nas plantas estudadas por Nguyen e Savage (2013), como produtos resultantes do seu metabolismo, sendo bastante relatados de forma geral nas Angiospermas, encontrados em vários tecidos e órgãos (POUROPOULOS; WEINER; ADDADI, 2001).

Os cristais de oxalato de cálcio podem ser classificados como solúveis ou insolúveis e o grau de toxicidade varia de acordo com o tipo e a quantidade presente. Eles ocorrem como sais solúveis em água na forma de sais de sódio,

potássio e amônia. Os sais insolúveis ocorrem por meio da ligação com cálcio, ferro e magnésio. Os ácidos solúveis tendem a provocar injúria renal e hipocalemia, enquanto os insolúveis causam um efeito local, em especial no trato gastrointestinal, visto que os íons cálcio impedem a formação do ácido oxálico presente no trato alimentar, originando assim os cristais insolúveis de oxalato (SILVA e TAKEMURA, 2006).

Quando absorvido em sua forma solúvel, o ácido oxálico irrita as mucosas do estômago e do intestino. Em seguida, é rapidamente absorvido pela mucosa intestinal e reage com o cálcio sérico, formando o oxalato de cálcio insolúvel, que não é metabolizado pelo organismo humano, sendo excretado na urina. Por ser pouco solúvel, aumenta o risco da formação de cálculos nos rins, depositando-se e obstruindo os néfrons, ocasionando sérias lesões renais e causando um desajuste metabólico (MANDEL, 1996; COSTA, 2002).

Nas últimas décadas, pouco interesse foi dado ao quantitativo de oxalato presente nos alimentos, uma vez que o paradigma vigente era que oxalato dietético contribuía apenas com 10% da excreção diária desta substância. A partir dos estudos de Holmes e colaboradores (2001), essa visão mudou, quando foi comprovado que quase metade do conteúdo de oxalato urinário é decorrente de um consumo dietético de 10 a 250 mg de oxalato por dia. Esses autores evidenciaram ainda que a absorção e excreção de uma dieta rica em oxalato podem ser consideradas como um fator importante no desenvolvimento de cálculos renais (HOLMES; ASSIMOS, 2004). Segundo Massey (2007), para que se tenha uma dieta consciente com redução do consumo de oxalato presente na alimentação, é necessário inicialmente o conhecimento dos teores presentes nas espécies em questão.

Dessa forma, é imperativo o conhecimento a respeito do conteúdo de ácido oxálico presente nas plantas medicinais, uma vez que são amplamente utilizadas pela população como adjuvantes no tratamento das DCNT. Verificou-se assim a importância de estudos como este, que visam à caracterização morfológica de cristais de oxalato de cálcio, indicativos do acúmulo de ácido oxálico pela planta, além da determinação de seu teor.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Caracterizar microscopicamente os cristais de oxalato de cálcio e quantificar o ácido oxálico presente nas folhas de espécies vegetais frutíferas utilizadas para o tratamento de Hipertensão Arterial e *Diabetes mellitus*.

2.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar anatomicamente as espécies;
- Utilizar técnicas combinadas de microscopia ótica, de polarização, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão para determinar as características anatômicas vegetais e caracterizar morfolologicamente os cristais de oxalato de cálcio;
- Identificar a histolocalização *in situ* (sítios de secreção e/ou acúmulo) dos cristais de oxalato de cálcio presentes nas espécies vegetais;
- Determinar a composição elementar dos cristais por microanálises utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV - EDS)

Otimizar metodologia analítica para quantificação de ácido oxálico por espectrofotometria UV-Vis.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Ao longo de milênios o homem vem acumulando empiricamente conhecimentos a respeito do manejo de plantas, seja com a finalidade de melhorar sua alimentação, seja para tratar de suas enfermidades, criando uma inter-relação estreita entre o uso das plantas e sua evolução (SANTOS, 2008).

O conhecimento que o uso de espécies frutíferas vai além da alimentação humana é bastante antigo. Registros datados de 571 a.C. apontam a utilização medicinal de espécies frutíferas, onde o profeta Ezequiel relata em seu livro (cap. 47, vers. 12) que das várias espécies frutíferas existentes, além de seus frutos comestíveis, o uso de suas folhas é também utilizado como uma importante fonte medicinal.

Muitas espécies medicinais têm sido utilizadas tradicionalmente como adjuvantes no tratamento de diversas patologias, entre elas as DCNT, consideradas como as de maior incidência na população mundial. Na maioria dos casos, estas doenças não ocorrem de forma isolada, geralmente associando-se a problemas mais amplos. A concomitância de distúrbios metabólicos e hemodinâmicos, como hipertensão arterial, obesidade e *Diabetes mellitus* caracterizam a chamada Síndrome Metabólica (PINHO et al., 2014). Segundo a Sociedade Brasileira de Nefrologia, pacientes hipertensos e/ou diabéticos são mais propensos a desenvolverem problemas renais, como consequência dos distúrbios e agravos provocados por esta síndrome (CABRAL, 2014). Segundo pesquisa realizada em 2016 nas principais capitais brasileiras sobre a frequência e distribuição de doenças crônicas, constatou-se que mais da metade da população das capitais analisadas encontra-se acima do peso. Esta condição tende a aumentar com a idade, sendo a incidência maior em homens. Observou-se também que 25,7% da população apresentam hipertensão; 8,9% diabetes e 22,6% dislipidemia (BRASIL, 2017).

No Nordeste do Brasil, as plantas medicinais são comumente usadas na preparação de remédios caseiros para tratar várias enfermidades. São comercializadas livremente em feiras, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al., 2002). Além do fácil preparo das formulações caseiras, muitas vezes as plantas suprem a falta de medicamentos nos serviços de saúde, estando presentes em diversas comunidades (OLIVEIRA et al., 2010; SANTOS et al., 2011, ALBUQUERQUE et al., 2009).

Diversas plantas são utilizadas tradicionalmente como adjuvantes no tratamento de algumas dessas DCNT, como hipertensão e diabetes. Diante disso, realizou-se um levantamento bibliográfico dentre as principais plantas

medicinais frutíferas utilizadas com uso medicinal no tratamento de hipertensão e/ou diabetes nas principais bases de dados eletrônicos, selecionando-se nove espécies vegetais que passaram por etapas posteriores de análise ao longo do projeto, a saber, *Persea americana* Mill., *Spondias mombin* L., *Anacardium occidentale* L., *Averrhoa carambola* L., *Genipa americana* L., *Citrus aurantium* L., *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez, *Punica granatum* L., *Tamarindus indica* L.

3.1 *Persea americana* Mill

Trata-se de uma espécie pertencente à família Lauraceae, que compreende em torno de 3000 espécies de angiospermas agrupadas em 50 gêneros, apresentando distribuição em regiões de clima temperado a tropical, especialmente sudeste da Ásia e América do Sul (CHANDERBALI et al, 2001). O gênero *Persea* compreende aproximadamente 150 espécies arbóreas perenes, onde *P. americana* é o representante mais conhecido, pois além de seu uso como alimento, o abacateiro é utilizado tradicionalmente com diversas finalidades medicinais, como hipotensivo, hipoglicêmico, diurético, antiviral, no tratamento de úlceras e doenças cardiovasculares (ANITA et al., 2005; NAYAK et al., 2008; RAHARJO et al., 2008; ANAKA et al., 2009; KOSIŃSKA et al., 2012). Considerando a variedade de usos etnobotânicos que são atribuídos a esta espécie, vários estudos têm sido realizados para comprovar suas atividades, como antimicrobiana (GOMEZ-FLORES et al., 2008); hipoglicêmica (BRAI, 2007; PAHUA-RAMOS et al., 2012; EZEJIOFOR et al., 2013), antihiperlipidêmica (BRAI, 2007; EDEM, 2010), antihipertensiva (OJEWOLE, 2007; DZEUFLET, 2014), antilarvívica (TORRES, 2014), anticolinesterase e antioxidante (VINHA, 2013; OBOH, 2016), dentre outras.

3.2 *Spondias mombin* L.

Diferentes frutíferas de grande importância econômica para o Brasil estão presentes em Anacardiaceae. No Brasil estão catalogados 14 gêneros com 57 espécies dessa família, sendo 14 delas restritas a este país (DUVALL, 2006) enquanto que 108 espécies são encontradas exclusivamente na África e América do Sul (SILVA, 2010). Quatro espécies de *Spondias* são economicamente importantes na América tropical: *S. mombin*, *S. dulcis*, *S. purpurea* e *S. tuberosa*, sendo a primeira a mais popular e de maior importância no Brasil. *S. mombin* L. é uma fruteira nativa da América Tropical que apresenta ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrada por toda a América Latina e em algumas regiões da Ásia e da África. Na medicina popular, o infuso das folhas é usado no tratamento de febres biliosas, constipação e inflamações na boca, garganta estômago e órgãos genitais e quadros infecciosos (MILLER, 2005; UCHENDU, 2004). Diversas pesquisas com extrato das folhas do cajazeiro apontam uma diversidade de promissoras atividades farmacológicas, dentre elas a atividade antihipertensiva, antidiabética (OLUGBUYIRO et al., 2009; FRED-JAIYESIMI, 2009), antibacteriana (ABO et al., 1999), atividade contra o vírus da dengue tipo 2 (SILVA et al., 2011), atividade anti-helmíntica (ADEMOLA et al., 2005) e atividade leishmanicida (ACCIOLY, 2012).

3.3 *Anacardium occidentale* L.

Anacardiaceae é uma grande família de eudicotiledôneas na qual estão inseridos 76 gêneros com aproximadamente 600 espécies, distribuídas principalmente em regiões tropicais. No Brasil, os gêneros de maior predomínio são *Anacardium*, *Mangifera*, *Spondias* e *Schinus* (MABBERLEY, 1997; CORREIA et al., 2006). Conhecido popularmente como cajueiro, *A. occidentale* L. é uma árvore que pode alcançar até 15 m de altura e, além de seu apelo nutricional, devido a seus frutos de sabor marcante, muitas de suas partes são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de doenças, tais como hipertensão, infecções bucais, gastrointestinais, urogenitais e de pele (ARUL, 2011). Diversas pesquisas têm sido realizadas, confirmando seu potencial

farmacológico com efeitos analgésico e anti-inflamatório (ONASANWO et al., 2012), sobre problemas de pigmentação da pele (ABDUL et al., 2008), anti-ácido (AJIBOLA et al., 2010), antihiperglicêmico (SOKENG et al., 2001, FAGBOHUN et al., 2010), antihipertensivo (SILVA, 2006b), antimicrobiano (DAHAKÉ et al., 2009; DOSS, 2011; TAN, 2014), anti-*Aedes aegypti* (GUISSENI et al., 2013), dentre outros.

3.4 *Averrhoa carambola* L.

A família Oxalidaceae compreende 6 gêneros e cerca de 950 espécies distribuídas largamente pelo mundo, em áreas tropicais e em regiões mais frias (SOUZA, 2005). O gênero *Averrhoa* abrange apenas duas espécies, *A. carambola* e *A. bilimbi*, que são bastante distribuídas e cultivadas nas regiões tropicais. A caramboleira (*A. carambola* L.) é uma frutífera que atinge até dez metros de altura, sem, contudo, apresentar copa muito fechada. É originária da Ásia Tropical e foi introduzida no Brasil em 1811, em Pernambuco, distribuída em diversos Estados brasileiros (PAUL, 1998; BASTOS, 2005). Além de sua importância na alimentação, por conta de seu fruto de sabor exótico, suas folhas são largamente utilizadas na medicina tradicional devido às suas propriedades sedativa, anti-hipertensiva, antianêmica e antidiabética, estando inscrita na Farmacopéia Indiana (CORREA, 1931, GONÇALVES e MARTINS, 1998). Diversos estudos têm sido realizados devido ao seu potencial farmacológico, como as atividades anti-inflamatória (CABRINI, 2011), antimicrobiana (WAKTE, 2011), hipoglicemiante (CHAU, 2004a; RODRIGUES, 2010), hipocolesterolêmica e hipolipidêmica (CHAU, 2004b), hipotensivo (SONCINI et al., 2011), antioxidante (SHUI, 2006), antiulcerogênica (GONÇALVES, 2006; AZEEM et al., 2010), dentre outras.

3.5 *Genipa americana* L.

Considerada como uma das maiores famílias dentre as Angiospermas, Rubiaceae compreende o quarto lugar em número de espécies, possuindo aproximadamente 13.000 espécies distribuídas em 550 gêneros. Dentre estes, 10% das espécies são nativas do Brasil (BARBOSA et al. 2015, ZINI 2016). O gênero *Genipa* é caracterizado por possuir duas espécies: *G. americana* L. e *G. infundibuliformis* Zappi & Semir (DELPRETE et al. 2005). Dentre os poucos estudos realizados sobre o gênero, as pesquisas estão concentradas sobre a espécie *Genipa americana*. Trata-se de uma planta nativa do Brasil, de porte arbóreo, podendo alcançar até 30 metros de altura (CORREA 1984, DELPRETE et al. 2005, ZAPPI 2015). Tradicionalmente, diversos usos medicinais têm sido atribuídos a esta espécie, como antidiarreico, antissifilítico, contra doenças do fígado (CORREA 1984, AGRA 2008), anti-inflamatório, antifebril (DELPRETE et al. 2005), tratamento da tosse, anemia e como depurativo (SOUZA et al., 2013). Diversos estudos farmacológicos indicam sua possibilidade de uso no tratamento da asma (DENG et al. 2013), doenças oftálmicas (KORIYAMA et al. 2013, SONG et al. 2013), ação antiviral (LIN et al. 2013), desordens cardiovasculares (JIANG et al. 2013, ZHANG et al. 2013), atividade antidepressiva (TIAN et al. 2010), no tratamento de Alzheimer (NAM et al. 2013; GAO et al. 2014), atividade antidiabética (GUO et al. 2012, QIU et al. 2012, LIU et al. 2012, 2013a,b, GUAN et al. 2013, MA et al. 2013), anti-inflamatória (ZHANG et al. 2012, KHANAL et al. 2014), anticancerígena (DANDO et al. 2013, YANG et al. 2013), dentre outras.

3.6 *Citrus aurantium* L.

A família Rutaceae possui 156 gêneros e 1.800 espécies distribuídas por todo o mundo, especialmente em regiões tropicais quentes e temperadas (CRONQUIST, 1988). No Brasil foram encontrados 32 gêneros nativos de Rutaceae com 154 espécies (PIRANI, 1999). O gênero *Citrus* é oriundo do sudeste tropical e subtropical da Ásia, conhecido por conter apenas três espécies, porém numerosos híbridos naturais e cultivados, incluindo as frutas conhecidas por cítricas (COSTA, 2010). Conhecida popularmente como

laranjeira amarga, *C.aurantium* L. é uma espécie arbórea de porte médio, que pode alcançar até 8 metros de altura, amplamente distribuída na América Central e países Mediterrâneos (Abderrezak et al., 2014). Tradicionalmente é utilizada para o alívio de diversas situações como antiséptico, antitérmico, laxante, anti-inflamatório, calmante, problemas urogenitais, vermífugo e supressor de apetite (ALEXANDER e PAUL, 1995; SURYAWANSHI, 2011). Diversas atividades farmacológicas têm sido realizadas devido ao seu potencial terapêutico, como atividade ansiolítica e sedativa (FREITAS, 2002), antiulcerogênica (JEONG et al., 2002); antifúngica (METOUI et al., 2015), antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2014), anticonvulsivante (AZANCHI et al., 2014), hipoglicêmica e hipolipidêmica (JIA et al., 2015), inibição da adipogênese (KIM et al., 2012), dentre outras.

3.7 *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez

Os membros da família Rutaceae são fortemente aromáticos devido à presença de óleos essenciais e possuem importância considerável como fonte de frutas cítricas e algumas ornamentais (PERVEEN e QAISER, 2005). Dentre os gêneros pertencentes a esta família, *Citrus* é composto por árvores pequenas, com espécies distribuídas em regiões tropicais por todo o mundo (SWINGLE e REECE, 1967; REUTHER, 1973). *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez, com os frutos popularmente conhecidos como limão persa ou limão Tahiti, o limoeiro é uma árvore de tamanho médio, podendo alcançar entre 4,5 a 6 metros de altura, que produz a espécie de limão mais comum e vendida no mundo. Esta espécie possui uma origem híbrida, mais comumente obtida de um cruzamento entre *C. aurantifolia* e *C. limon* (KAHN et al. 2001; RACOWSKI et al., 2017). Tradicionalmente os frutos e as folhas desta espécie têm sido usada no tratamento de gripes e resfriados, infecções, inflamações, escorbuto (CHACKO e ESTHERLYDIA, 2014), usado como antitérmico e ação sedativa (GARGANO et al., 2008). Muitas pesquisas têm sido realizadas a fim de evidenciar o seu potencial farmacológico, com atividades anti-inflamatória (KUMMER et al. 2013, AMORIM et al., 2016), antifúngica (RUIZ-PÉREZ et al.,

2016), antihipertensiva (CASQUETE et al. 2015), antimicrobiana (RACOWSKI et al., 2017), inseticida (LOSS, 2008), dentre outras.

3.8 *Punica granatum* L.

A família Lythraceae possui 31 gêneros e aproximadamente 600 espécies, com distribuição pantropical e alguns representantes herbáceos de regiões temperadas (CAVALCANTI e GRAHAM, 2002). Nove gêneros ocorrem no Brasil, onde se destaca o gênero *Punica*, composto por representantes arbustivos ou pequenas árvores, podendo alcançar de 5 a 10 metros de altura. É formado por apenas duas espécies: *P.granatum* L. e, menos conhecida, *P. protopunica* L (AMJAD, 2005).

P. granatum, é uma espécie distribuída em todo o mundo, conhecida popularmente no Brasil como romãzeira. É considerada como o membro predominante desta família, devido aos fatores históricos, étnicos medicinais e mitológicos associados a esta espécie (AMJAD, 2005). Diversos usos medicinais têm sido atribuídos às diferentes partes desta espécie como hemostático, antibacteriano, antifúngico, antiviral, cicatrizante, no tratamento de bronquite, diarreia, problemas digestivos, impotência sexual e diabetes (LANSKY et al., 2007; PIRBALOUTI et al. 2010). Paralelamente, suas potencialidades farmacológicas têm sido confirmadas mediante diferentes atividades como anti-inflamatória (RAHIMI et al., 2011), antioxidante (NODA et al., 2002), anticarcinogênica (SHISHODIA et al., 2006) neuroprotetora (AKHLAGHI et al., 2009), antiaterogênica (AVIRAM et al., 2008), hipoglicêmica (AKHLAGHI et al., 2009), antihipertensiva (ASGARY et al., 2013) antiulcerativa (MOGHADDAM et al., 2014), dentre outras.

3.9 *Tamarindus indica* L.

Considerada como a terceira maior família de Angiospermae, Fabaceae ou Leguminosae compreende aproximadamente 727 gêneros e 19.325

espécies (LEWIS et al., 2005). No Brasil esta é a maior família, onde podem ser encontradas 11 % do total de espécies de Fabaceae, sendo 31 gêneros endêmicos, representada em todos os biomas brasileiros. Para a família, são reconhecidas três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (ou Faboideae), sendo a primeira considerada como a mais primitiva (LIMA, 2000, LEWIS et al. 2005, BORTOLUZZI et al., 2006). Caesalpinioideae possui distribuição nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente na América do Sul, África tropical e sudeste da Ásia. No Brasil foram catalogados aproximadamente 178 gêneros e aproximadamente 1.550 espécies (LEWIS e POLHILL, 1998; BIONDO et al., 2005).

Conhecido popularmente como tamarindeiro, *T.indica* destaca-se além de seu papel na alimentação, devido ao sabor marcante de seus frutos, pois apresenta conhecidas propriedades medicinais. Os extratos dos folíolos e sementes são utilizados com propósitos catárticos, adstringentes, antissépticos e antitérmicos (KHANDARE et al., 2000). Diversos ensaios farmacológicos tem sido realizados no sentido de comprovar a suas potencialidades mediante as atividades antibacteriana (MUTHU et al., 2005; MELENDEZ et al., 2006), citotóxica (KOBAYASHI et al., 1996), antitripanossomíase (ATAWODI et al., 2002), antiofídica (USHANANDINI et al., 2006), antiinflamatória (DIGHE et al., 2009), hepatoprotetora (PIMPLE et al., 2007), antihipertensiva (IFTHEKAR et al., 2006), antilipídêmica (MARTINELLO et al., 2006; LIBRANDI et al., 2007), antidiabética (MAITI et al., 2004; 2005), antiasmática (TAYADE et al., 2009), dentre outras.

3.10 ASPECTOS GERAIS

Observa-se que muitas espécies vegetais são amplamente utilizadas por serem consagradas tradicionalmente no consumo de seus frutos. Dessa forma, suas folhas acabam sendo utilizadas medicinalmente de forma indiscriminada por acreditarem não possuir contra indicações e/ou efeitos tóxicos. Embora muitas plantas sejam amplamente utilizadas por suas propriedades antidiabética e antihipertensiva, existem poucos estudos sobre teor e

caracterização do ácido oxálico presente nessas espécies. Este fato pode acarretar riscos em seu uso, uma vez que existe uma predisposição natural desses pacientes a desenvolver nefropatias com o uso dessas plantas, devido à redução da atividade renal em decorrência da patologia de base que apresentam. Massey e colaboradores (1993) e Mandel (1996) relatam a impossibilidade do oxalato de cálcio ser metabolizado pelos humanos, aumentando-se o risco de cristalização de oxalato de cálcio nos rins ao ser excretado na urina, considerando sua pouca solubilidade. Ressalta-se ainda o aumento no risco de formação de cálculos renais em indivíduos que apresentam diminuição da função renal, como exemplo, os idosos que fazem uso de politerapia e, paralelamente, consomem chás por conta própria, raramente informando aos profissionais de saúde o seu uso (SCARDELATO; LEGRAMANDI; SACRAMENTO, 2013).

Dentre os diversos compostos que conferem a estas espécies seus efeitos farmacológicos e determinam a sua identidade química, vale destacar a presença do ácido oxálico, um ácido orgânico produzido e acumulado pelas plantas nos vacúolos intracelulares, responsável pela defesa contra ataques de predadores, mas também responsável por muitos relatos de toxicidade em humanos e em animais (MOREIRA et al, 2010; LEWANDOWSKI; RODGERS, 2004). Este ácido é o mais frequente na natureza, podendo ser encontrado em bactérias e plantas. Pode estar presente em sua forma solúvel ou insolúvel, na forma de oxalato de cálcio, encontrado no interior das células vegetais sob a forma de cristais. Quando ingerido, é rapidamente absorvido no trato gastro intestinal e, ao atingir os rins, reage com os íons cálcio presentes, que se depositam nos néfrons ocasionando sérias lesões renais (COSTA, 2002).

Nas plantas, o oxalato de cálcio pode se apresentar na forma de vários tipos de cristais que representam estoques de cálcio ou simplesmente depósitos de restos metabólicos, que de outra forma poderiam ser tóxicos para as células e para os tecidos vegetais. A presença de algumas formas destes cristais protege as plantas contra herbívoros, pois quando ingeridos, os cristais causam sensação de queimação na mucosa bucal (SILVA; TAKEMURA, 2006). As ráfides, feixes de cristais de oxalato de cálcio em forma de agulhas, são as formas mais prejudiciais. Elas são pontiagudas e perfurantes, destruindo as

células das mucosas de qualquer animal que se habilite a ingerir partes de plantas que as contenham (CUMPSTON et al., 2003). Estes cristais podem ser visualizados através de diferentes técnicas microscópicas, como microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

Na microscopia óptica a morfologia dos cristais pode ser visualizada sob as diferentes formas nos idioblastos cristalíferos, tais como ráfides, estiloides, cristais prismáticos cuneiformes, tabulares, cúbicos, rosetas cristalinas e concreções cristalinas. A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que pode fornecer rapidamente informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra sólida. O MEV é um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação e análise de características microestruturais de objetos sólidos. A principal razão de sua utilidade é a alta resolução que pode ser obtida quando as amostras são observadas. Outra característica importante do MEV é a aparência tridimensional da imagem das amostras, resultado direto da grande profundidade de campo. Permite, também, o exame em pequenos aumentos e com grande profundidade de foco, o que é extremamente útil, pois a imagem eletrônica complementa a informação dada pela imagem óptica (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

A Microscopia Eletrônica de Transmissão possibilita a aquisição de imagens com resolução muito superior às obtidas com microscópios ópticos comuns, em consequência da utilização de elétrons para a formação das imagens. Nesta técnica um feixe de elétrons atravessa a amostra sofrendo diversos tipos de espalhamento que dependem das características do material. Imagens de campo claro são formadas por elétrons que sofrem pouco desvio, enquanto as de campo escuro são formadas por elétrons difratados pelos planos cristalinos do material. Interações do feixe com o material geram raios-X característicos que fornecem informações sobre os elementos químicos presentes na amostra (GALLETI, 2003).

Testes histoquímicos revelam a natureza aproximada das substâncias secretadas pelos idioblastos, podendo indicar os sítios de secreção e/ou acúmulo de substâncias. Nas estruturas secretoras pode haver grande

variação quanto à morfologia, anatomia, função, localização e tipos de compostos que secretam sendo essenciais esses testes para correlacionar as características botânicas e químicas das espécies (ESAU, 1965, 1977).

Diversas técnicas são empregadas para o doseamento de substâncias em materiais vegetais, uma delas, a espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), alcança grande destaque devido a sua simplicidade, rapidez, baixo custo de execução e ampla disponibilidade nos laboratórios. Após o desenvolvimento de um método analítico, este deve ser submetido a uma série de experimentos capazes de avaliar sua capacidade em detectar e quantificar o analito. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação e exatidão, adequados à análise (BRASIL, 2003).

Inicialmente, as análises para doseamento de ácido oxálico baseavam-se apenas nos métodos gravimétricos (HORWITZ, 1980). Posteriormente, métodos de precipitação passaram a ser utilizados a fim de enriquecer a extração e mensurar os teores a partir de métodos colorimétricos ou cromatográficos. Muitos destes métodos, porém, apresentaram como limitação perdas desconhecidas ou etapas intensivas no processo de trabalho, diminuindo a sua viabilidade (FRANCESCHI e HORNER, 1980; AL-WAHSH et al., 2012).

O estudo a respeito dos métodos de extração sugere uma segunda fonte provável de variabilidade na análise de oxalato. Honow e Hesse (2002) mostraram que a extração ácida quente produz oxalato derivado de reação cruzada com o ascorbato. Muitos métodos prometem o almejado grau de confiança, como a eletroforese por íons, eletroforese capilar (Holmes e Kennedy, 2000), cromatografia líquida de alta eficiência (Honow et al., 1997), cromatografia em fase gasosa (OHKAWA, 1985) e ensaios enzimáticos com oxalato oxidase (Kasidas et al., 1980), esbarrando porém no fator custo e operacionalização qualificada.

O método otimizado neste trabalho é simples, de baixo custo e baseia-se no clássico princípio de titulação através de volumetria de oxido redução (VOGUEL, 2011). Desta forma, a partir dos trabalhos de Naik et al. (2014), este estudo propõe a otimização de metodologia analítica baseada no princípio da

oxidação do permanganato de potássio para quantificação de ácido oxálico através de espectrofotometria UV/ VIS em amostras vegetais.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAL VEGETAL

Exsicatas foram depositadas no Herbário Dárdano de Andrade Lima, da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA), para legitimação da identificação botânica, conforme Quadro 1.

Quadro 1- Legitimação botânica das espécies utilizadas na pesquisa.

NOME POPULAR	NOME CIENTÍFICO	FAMÍLIA	NÚMERO DE TOMBO
Abacateiro	<i>Persea americana</i> Mill.	Lauraceae	89997
Cajazeiro	<i>Spondias mombin</i> L.	Anacardiaceae	90666
Cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae	89979
Caramboleira	<i>Averrhoa carambola</i> L.	Oxalidaceae	89332
Jenipapeiro	<i>Genipa americana</i> L.	Rubiaceae	89999
Laranjeira	<i>Citrus x aurantium</i> L.	Rutaceae	89972
Limoeiro	<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jiménez	Rutaceae	89971
Romãzeira	<i>Punica granatum</i> L.	Lythraceae	89333
Tamarindeiro	<i>Tamarindus indica</i> L.	Fabaceae	89998

4.2 CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA

Folhas completamente expandidas foram coletadas do segundo ou terceiro nó e fixadas em FAA50 (JOHANSEN 1940). As secções transversais e paradérmicas da porção média das folhas foram obtidas à mão livre, submetidas ao duplo processo de coloração com astra azul e safranina (JOHANSEN 1940, KRAUS 1997) e montadas em glicerina em lâminas semi-permanentes para o estudo anatômico. A análise das estruturas foi realizada utilizando microscopia óptica de luz (Alltion) equipado com câmera digital.

Para microscopia ótica de luz polarizada, foram obtidas secções transversais, da mesma forma como citado anteriormente, porém as lâminas não passaram por processo de coloração, foram apenas descoradas com hipoclorito de sódio 10% para evidenciação dos cristais.

Na microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído a 2,5% (tamponada com cacodilato de sódio 0,1 M) e fixadas em solução de ósmio a 2% (tamponada com cacodilato de sódio 0,1 M). Posteriormente, o material foi seco em ponto crítico após dessecação por uma série etanólica graduada (Bal-Tec CPD 030). As porções adequadas foram montadas em *stubs* e revestida por pulverização com ouro (Leica EM SCD 500). As faces adaxial e abaxial da superfície foram examinadas com um microscópio eletrônico de varredura QUANTA 200 FEG.

4.3 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA

Secções transversais obtidas à mão livre, da porção mediana das folhas frescas das espécies analisadas, foram submetidas aos seguintes tratamentos: reagent de Lugol (Johansen, 1940) para determinação de amido, Sudan IV (Kraus, 1997) para detecção de compostos lipídicos e cutícula, Floroglucinol (Jensen, 1962) para ligninas, dicromato de potássio (Gabe, 1968) para compostos fenólicos, reagente de NADI (David, 1964), para óleos essenciais e óleo resinas, vanilina sulfúrica (Wagner & Bladt, 1996), para iridoides, tricloreto

de antimônio (Mace et al., 1974), para esteroides, vanilina clorídrica (Mace et al., 1974), para taninos, reagente de Dragendorff (Yoder, 1976) para alcaloides e ácido clorídrico para para cristais de oxalato de cálcio (Johansen, 1940). Para cada procedimento empregado, amostras controle foram utilizadas como parâmetro de comparação, caracterizadas como secções sem tratamento com reagentes. Observações e documentação de imagens foram realizadas com microscópio de luz (Alltion) equipado com câmera digital.

4.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA E COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DOS CRISTAIS

Para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e microanálises químicas espectroscópicas de raios-X por dispersão de energia (EDS: Energy Dispersive Spectroscopy), secções transversais obtidas manualmente foram fixadas com tampão glutaraldeído (GA) 2,5% + formaldeído 4%, durante 12h e refrigeradas até a etapa de processamento da amostra. Após fixação e lavagem, as amostras desidratadas por série etanólica crescente (JOHANSEN,1940) foram submetidas à secagem em Ponto Crítico de CO₂ (HCP-2) por 2h. Subsequentemente, as amostras foram montadas em suportes metálicos e metalizadas com camada de ouro de 20 nm, por 150 segundos em corrente de 25 mA em metalizador (Quorum Q150T ES).

As eletromicrografias de varredura foram obtidas por microscópio eletrônico (Zeiss-EVO-LS15), utilizando-se detector de elétrons secundários, aceleração eletrônica de 25 kV, distância de trabalho de 8,5 mm e alto vácuo. As microanálises químicas por EDS foram feitas com detector de raios X acoplado ao microscópio, sob as mesmas condições de operacionalidade. Foram considerados significativos, os picos de absorbância que indicavam concentração química elementar relativa $\geq 0,5\%$.

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Para análise em microscopia eletrônica de transmissão, amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato 0,1M pH 7,2, pós-fixadas na solução de tetróxido de ósmio a 2% no mesmo tampão, desidratadas em série acetônica e incluídos em Araldite. Os cortes ultrafinos, obtidos em ultramicrotomo Huxley-Cambridge, foram contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, observados e fotografados com filme Tmax Kodak Asa 100 em microscópio eletrônico de transmissão Phillips EM-300. As amostras foram processadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) da UFPE.

4.6 OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO NA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO

4.6.1 Preparação das Soluções Reagentes (SR)

A solução padrão de ácido oxálico foi preparada a partir da solubilização de 0,05 g do padrão em 50 mL de água destilada, com quantidade suficiente para completar o balão volumétrico, obtendo-se uma solução com concentração final de 1 mg/mL. Uma solução de permanganato de potássio foi preparada pela dissolução de 0,1580 g de reagente em 100 mL de água destilada, obtendo-se uma solução de concentração 0,01 M. Após conveniente diluição, foram obtidos desta solução 50 mL de solução com concentração de 0,003M. 100 mL de ácido sulfúrico 1M e de HCl 0,25 M foram preparados em água destilada.

4.6.2 Preparação da amostra

Para quantificação de ácido oxálico, a espécie *Avherroa carambola* L. foi escolhida devido ser representante da família Oxalidaceae e pressupor uma quantidade maior deste metabólito em suas folhas. Diante disto, folhas

completamente expandidas desta espécie foram secas a 40°C durante 24h e pulverizadas. A extração foi realizada seguindo protocolos convencionais de ensaio (BERGERMAN e ELLIOT, 1955; NAIK et al, 2014), onde 0,5 g do pó da droga vegetal, adicionados de 30 mL de HCl 0,25 M, foram levados a banho Maria por 15 minutos. Em seguida esta solução foi filtrada, transferida para um balão volumétrico e o volume completado com quantidade suficiente de água destilada para 50 mL, obtendo-se solução extrativa com concentração final de 10 mg/ mL.

4.6.3 Seleção do comprimento de onda para leitura

Para realização da determinação espectrofotométrica das absorbâncias, 5 mL de ácido sulfúrico (1M) , 2 mL de permanganato de potássio (0,003M) e 2 mL do padrão de ácido oxálico (0,55 mg/ mL) ou solução extrativa da amostra (1,6 mg/ mL), compondo a Solução de Leitura (SL). Esta foi submetida à varredura em espectrofotômetro em amplitude de comprimento de onda compreendida entre 200 a 900 nm, utilizando água destilada como linha de base.

4.6.4 Estudo de cinética reacional

Os efeitos do tempo de reação sobre a resposta do método foram analisados tanto para o padrão de ácido oxálico (0,55 mg/ mL), como para a amostra vegetal analisada (1,55 mg/ mL), realizados em triplicata, onde as absorbâncias foram registradas a cada cinco minutos durante uma hora e os resultados plotados em gráfico.

4.6.5 Construção da Curva de Calibração

Soluções Reagentes (SR) compostas de 5 mL de ácido sulfúrico (1M), 2 mL de permanganato de potássio (0,003 M) e 2 mL da solução padrão de ácido oxálico em diferentes concentrações (0,52; 0,54; 0,56; 0,58; 0,6 mg/mL) e da amostra (1,5; 1,6; 1,7; 1,8; 1,9 mg/mL) foram incubadas durante 20 e 30 minutos, respectivamente ao abrigo da luz em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Em seguida a absorbância foi registrada a 525 nm em espectrofotômetro Shimadzu, UV 1900. O reagente de compensação utilizado foi água destilada.

Os valores de absorbância registrados foram determinados triplicata. A curva foi construída, relacionando-se a absorbância média das três leituras com a concentração em cada nível. Foram calculados os desvios padrão e o coeficiente de correlação, parâmetros importantes para a validação do método. A equação de regressão linear foi determinada pelo método dos mínimos quadrados e os resultados obtidos analisados por ANOVA.

4.6.6 Avaliação da estabilidade da Solução de Leitura (SL) para o padrão

Com o objetivo verificar o tempo em que as soluções reagentes de ácido oxálico (0,55 mg/ mL) e permanganato de potássio (0,003 M) permanecem estáveis e passíveis de serem utilizadas, realizaram-se leituras em intervalos regulares de 5 minutos na solução de leitura, respeitando-se o tempo de reação de 30 minutos, uma vez que observou-se nos ensaios de cinética que a partir de 20 minutos obtêm-se um platô de estabilidade nas absorbâncias registradas.

4.6.7 Ensaio de Precisão para o padrão de Ácido oxálico

A solução de leitura para o padrão foi preparada conforme descrito anteriormente, e os níveis de repetibilidade e precisão intermediária foram

estudados. Os dados foram avaliados através dos coeficientes de variação e de análise de variância de duas entradas, com o auxílio do programa computacional Microsoft Excel (Microsoft, USA). Para o teste de repetibilidade nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, em três concentrações (0,54; 0,56 e 0,58 mg/ mL), realizadas em triplicata. A precisão intermediária foi determinada a partir da análise dos espectros de absorção de três amostras oriundas de pesagens distintas, com as análises realizadas em triplicata, em três dias diferentes, respeitando-se o tempo de reação de 20 minutos para leitura.

4.6.8 Ensaio de Exatidão

Foi realizada a adição de 250 µL do padrão de ácido oxálico (0,52; 0,54 e 0,56 mg/ mL) à solução de leitura da amostra a fim de se determinar o percentual do analito de interesse recuperado. Calcula-se a quantidade percentual recuperada (Rec %) pelo processo usando a fórmula:

$$Rec\% = \frac{[valor\ obtido - valor\ real]}{valor\ real} \times 100$$

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

5.1.1 *Persea americana* Mill.

Em secções paradérmicas, observam-se na face adaxial da superfície, células de contorno alongado, porém sinuosas (Figura 1 A), favorecendo assim o aumento da superfície de contato entre elas. Na face abaxial as células possuem contorno alongado e poligonal, levemente sinuosas. Diferentemente dos estudos realizados por Kofidis et al (2003) na Grécia, as células

epidérmicas de *P. americana* estão intimamente conectadas umas às outras, porém suas paredes celulares não são sinuosas. Esse fato pode ser explicado, pois as plantas cultivadas sob estresse hídrico enfrentam uma séria perda de água através da transpiração. Para reduzir essa perda, as folhas do abacateiro sofrem uma redução da sua superfície total, perdendo inclusive a forma sinuosa (CHARTZOULAKIS et al., 2002).

Na face abaxial, encontram-se estômatos anomocíticos com células-guarda abaixo do nível das demais células epidérmicas, sendo a folha do tipo hipoestomática (Figura 1 B). As imagens obtidas por microscopia óptica de varredura (MEV) evidenciam que ao contrário da face adaxial, as células que compõem o dorso da folha apresentam-se recobertas por diversas estruturas granulares que recobrem toda a superfície epidérmica, constituindo uma densa camada de cera epicuticular granulosa (Figura 1 C,D). Os estômatos, assim como as células-guarda e demais células epidérmicas, encontram-se totalmente recobertos pela espessa camada cuticular granulosa, observada nesta forma apenas na face abaxial (Figura 1 E,F). Segundo Metcalf e Chalk (1979), é comum a ocorrência de estômatos do tipo anomocítico na família Lauraceae, o que corroborou com este estudo. Mahmoud et al (2016), verificaram a presença de cutícula estriada recobrindo a epiderme foliar de *P. americana* analisadas no Egito, porém apenas uma fina camada foi descrita.

Em secção transversal, observa-se epiderme uniestratificada, em ambas as faces, com cutícula espessa e disposição dorsiventral do mesofilo. Este, formado por uma ou duas camadas de células paliçádicas alongadas no sentido anticlinal e pelo parênquima esponjoso, o qual apresenta poucas camadas irregulares com espaços intercelulares (Figura 1 G,H). Nos estudos realizados por Sharon e colaboradores (2001) e Kofidis et al (2004), também verificou-se um mesofilo formado por duas camadas sucessivas de células paliçádicas alongadas, correspondendo por aproximadamente dois terços da espessura foliar, apresentando cristais prismáticos translúcidos de forma isolada. O parênquima paliçádico apresenta idioblastos volumosos e arredondados, contendo substâncias ergásticas e presença de inclusões cristalinas (Figura 1 H). Kofidis et al (2004) também relataram a presença de células idioblásticas oleosas presentes na região subepidermal do parênquima

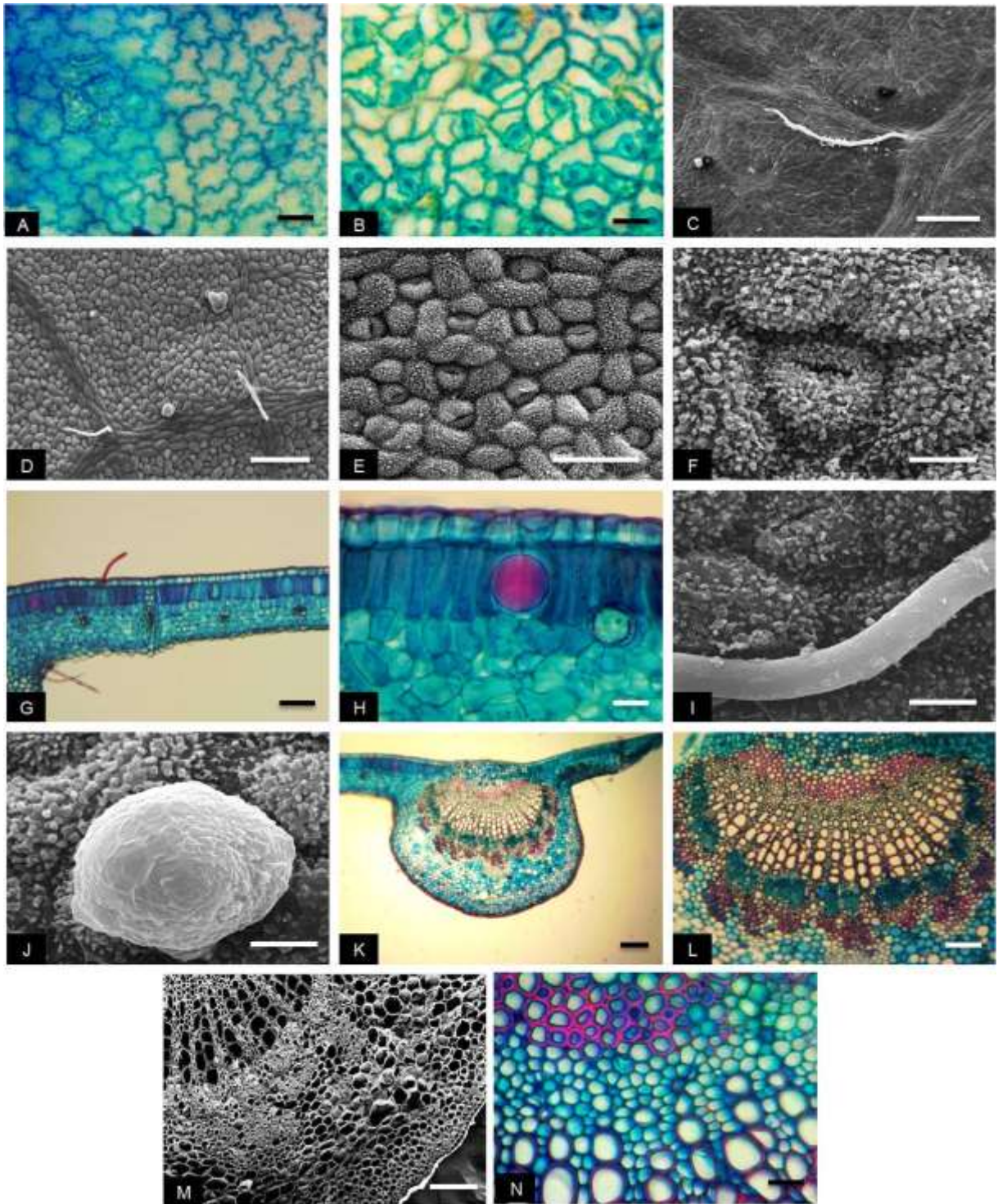
paliádico. Estas células são estruturas secretoras idioblásticas que se diferenciam na região do parênquima de angiospermas taxonomicamente diversas. Nos frutos maduros estas células estão presentes no mesocarpo e são responsáveis por 2% do volume do fruto (WEST 1969; PLATT-ALOIA 1983). Metcalfe e Chalk (1988) listaram 16 famílias de dicotiledôneas, incluindo Lauraceae, caracterizadas pela presença de células oleíferas. Estes mesmos autores citaram, ainda, que as células oleíferas, com distribuição restrita em dicotiledôneas, constituem uma particularidade taxonômica e de diagnóstico muito valioso à família Lauraceae.

Tricomas tectores, unisseriados, simples, com ápice agudo, parede espessa e cobertos com cutícula, aparecem dispostos aleatoriamente sobre toda a superfície epidérmica, com maior incidência sobre a face abaxial. As imagens de MEV evidenciam a presença de resíduos da cutícula granulosa envolvendo estes tricomas e, além disso, é possível verificar a presença de tricomas glandulares de formato elíptico a esférico, de superfície estriada, localizados tanto na superfície abaxial quanto adaxial (Figura 1 I,J). Nos estudos de Mahmoud e colaboradores (2016) foi relatada a escassa presença de tricomas tectores do mesmo tipo encontrado na espécie analisada, divergindo dos resultados por não serem detectados tricomas glandulares. No entanto, estudos ultraestruturais confirmam a presença de tricomas produtores de terpeno e glândulas de óleo em espécies de *Citrus*, onde se relataram redes extensas e interconectadas de retículo endoplasmático liso envolvidas na síntese de óleo ou no seu transporte dos plastídios para a cavidade de armazenamento (AMELUNXEN et al, 1965; THOMSON et al, 1976; BOSABALIDIS et al, 1982).

A nervura central apresenta simetria planoconvexa (Figura 1 K), colênquima angular e feixes vasculares em arranjo colateral fechado, onde a zona floemática encontra-se disposta em 10 a 12 calotas externamente ao xilema, às quais se encontram externamente camadas de esclerênquima com função protetora (Figura 1 L,M,N). Os resultados observados corroboram, em linhas gerais, com a descrição microscópica apresentada na Farmacopeia Brasileira 5ª edição para esta espécie (BRASIL, 2010). Porém, diferentemente dos resultados aqui obtidos, Mahmoud et al (2016) descreveram para esta

espécie feixes vasculares do tipo bicolateral aberto, consistindo em duas zonas de floema acima e abaixo dos raios de xilema.

Figura 1 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Persea americana* Mill.



A. face adaxial **B.** face abaxial. **C.** tricomas em face adaxial (MEV). **D.** tricomas em face abaxial (MEV). **E.** estômatos em face abaxial (MEV). **F.** estômatos recobertos por cutícula granulosa (MEV). **G.** mesofilo dorsiventral. **H.** idioblasto circular e drusa em mesofilo. **I.** tricomas tectores. **J.** tricoma glandular (MEV). **K.** nervura central. **L.** feixes vasculares. **M.** detalhe de feixes vasculares (MEV). **N.** raios de xilema com fibras na face adaxial. Barras: **A, B, H,I,N,O,P:** 25 μm . **G,K:** 100 μm . **C,L:** 200 μm . **D.** 300 μm . **E.** 50 μm . **F,J,M.** 20 μm .

5.1.2 *Spondias mombin* L.

As secções paradérmicas revelam uma epiderme constituída por células de paredes espessas, de contorno pouco sinuoso a poligonal, sendo as da face adaxial, mais alongadas e maiores que as da face abaxial (Figura 2 A,B). Uma adaptação de plantas submetidas a ambientes de alta exposição solar pode ser observada pela diminuição da sinuosidade de suas paredes celulares, como forma alternativa de evitar a perda excessiva de água (SILVA, 2007). Esse fato pode ser observado nas células voltadas para a superfície adaxial, onde é possível observar a pouca sinuosidade de suas células epidérmicas, fato justificado por esta espécie apresentar uma distribuição predominante em locais de intensa radiação luminosa (SANTOS, 2012). Essa característica também pode ser observada em *S. tuberosa* e *S. dulcis* (METCALFE, 1950; CHISOM et al., 2014).

A folha é hipostomática, com estômatos do tipo anomocítico e tetracíticos distribuídos aleatoriamente ao longo da face abaxial (Figura 2 B). É possível verificar a presença de tricomas tectores unicelulares simples, curtos, tanto na face adaxial quanto na abaxial. Imagens de Microscopia de Eletrônica de Varredura evidenciam os detalhes dos tricomas e estômatos observados na microscopia óptica (Figura 2 C,D). Características semelhantes quanto ao padrão de distribuição e tipos de estômatos foram observadas por Silva e colaboradores (2007), ao analisar folíolos de *Spondias tuberosa* Arruda. A presença de estômatos anomocíticos também foi descrita por Chisom e colaboradores (2014) ao analisarem folhas de *Anacardium occidentale* e *S. mombim*. Santos et al (2012) também relatam uma lamina foliar com o mesmo padrão de distribuição em *S. dulcis*. A presença desse tipo de estômatos é definida por Metcalf e Chalk (1950) como um padrão para a família Anacardiaceae, estando presentes em espécies de *Spondias* sp. A presença de tricomas tectores em ambas as faces da lâmina foliolar é muito importante, pois cria um microambiente rico em vapor de água em torno da folha, ajudando assim a evitar a perda excessiva de água (PASCHOLATI, 1995). Características semelhantes encontraram Silva et al (2007), ao relatarem a presença de tricomas tectores simples em ambas as faces da lamina foliar de

S. tuberosa, sendo este tipo de tricoma uma característica comum encontrada nas espécies dessa família (METCALF e CHALK,1950). Descrições realizadas por Mitchell e Daly (2015), ao realizarem uma revisão sobre as espécies pertencentes a esse gênero, apontam dois tipos de tricomas, curtos e longos. Diferentemente, os resultados desse estudo evidenciam a presença apenas de tricomas unisseriados, unicelulares, curtos.

Em secção transversal a epiderme apresenta-se recoberta por uma delgada camada cuticular em ambas as faces. O mesofilo é dorsiventral com duas camadas de parênquima paliçádico compacto de células regulares e relativamente estreitas, nas proximidades da nervura central. À medida que se distancia para as bordas do limbo, há uma tendência à formação de uma monocamada desse parênquima. Várias camadas de parênquima esponjoso frouxo de células alongadas com pequenos espaços intercelulares compõem a região abaxial do mesofilo (Figura 2 E). De forma diversa dos resultados obtidos por Santos et al. (2007), ao analisar o mesofilo de *S. dulcis*, e por Silva (2012), em seu estudo com folhas de *S. tuberosa*, as quais possuem o parênquima paliçádico uniestratificado, as análises anatômicas apontam em *S. mombim* um mesofilo dorsiventral com duas camadas de parênquima paliçádico. A presença de uma camada dupla nesse parênquima pode ser observada também em outras espécies pertencentes à família Anacardiaceae, como verificado em *Anacardium humile* e em *Anacardium occidentale* (ROYO, 2015).

A nervura central apresenta simetria biconvexa, com feixes vasculares de arranjo colateral em arco fechado (Figura 2 F). Dois pequenos grupos de feixe vascular acessório podem ser encontrados lateralmente ao feixe vascular central e um maior acima, composto por xilema e floema circundados por uma bainha de fibras esclerenquimáticas (Figura 2 G,H). Inserido no parênquima fundamental, encontra-se o colênquima angular seguido de fibras esclerenquimáticas perivasculares, circundando externamente o xilema e floema (Figura 2 I). Os resultados obtidos corroboram as análises realizadas por Royo e colaboradores (2015), onde foi observada a existência de nervura central biconvexa com sistema de feixes vasculares do tipo colateral fechado. Silva et al. (2012) também relatam a presença de feixes vasculares do tipo

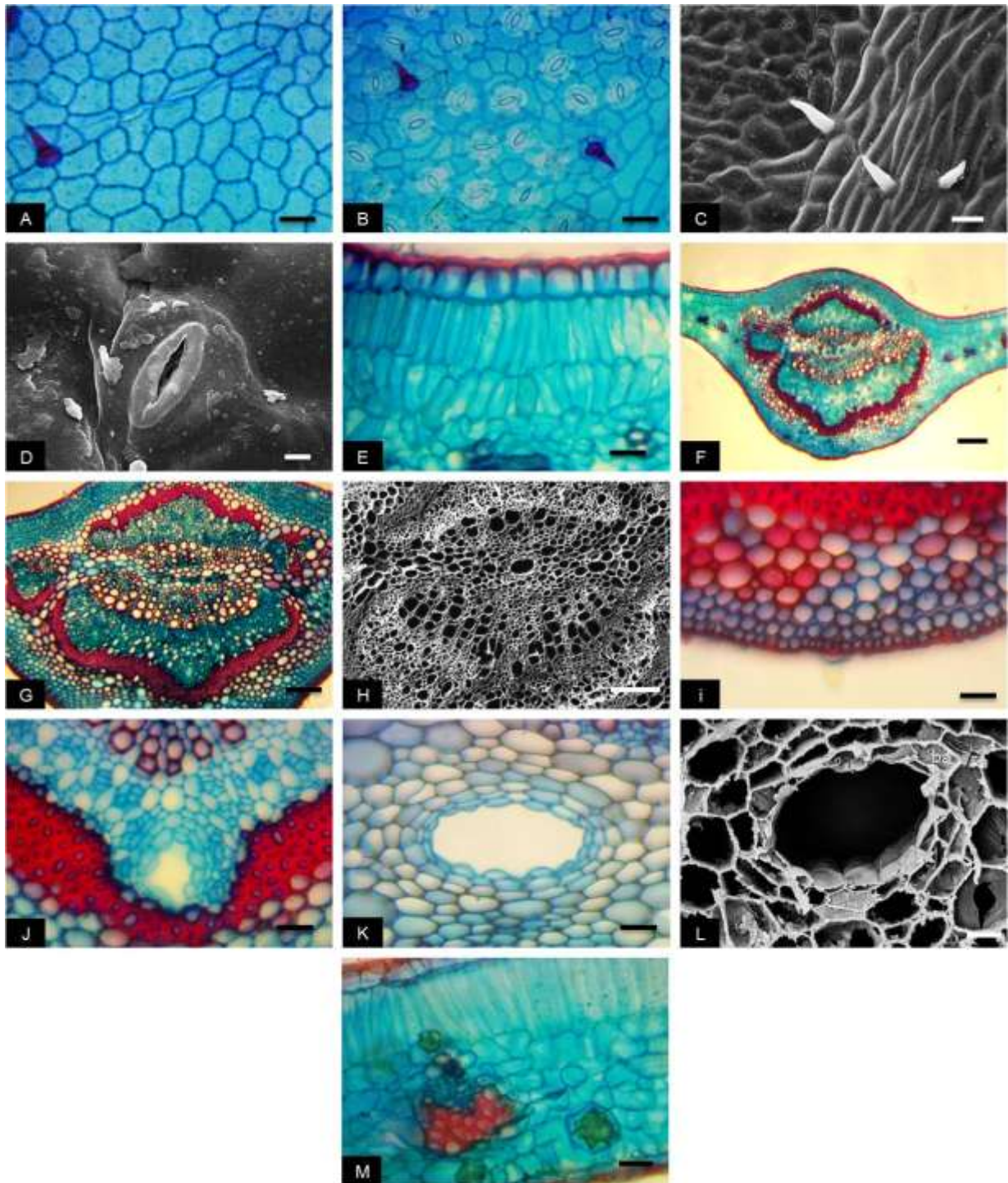
colateral em arco, observados em folhas de *Spondias tuberosa*. Verifica-se a presença de colênquima do tipo angular em *Anacardium occidentale* e *A. humile*, na região abaxial da nervura central das folhas (ROYO et al., 2015). Características semelhantes também foram observadas em caule de *Spondias dulcis* (SANTOS, 2006). Silva e colaboradores (2007) relatam a presença de colênquima do tipo angular voltado para a face adaxial, e do tipo angular tendendo a lamelar voltado para a face abaxial, em folhas de *Spondias tuberosa*.

Verificou-se a presença de cavidade secretora do tipo esquisógena na região parenquimática localizada nas proximidades do floema, com lúmen longitudinalmente alongado (Figura 2 J). O lúmen da cavidade é delimitado por células secretoras alongadas de pequena dimensão. Externamente ao epitélio secretor, ocorre uma bainha formada por duas ou três camadas de células achatadas, dispostas radialmente (Figura 2 K,L). Segundo Metcalfe & Chalk (1950) e Cronquist (1981), a presença de estruturas secretoras é uma característica comum para os membros da família Anacardiaceae, onde é possível verificar a presença de canais secretores de látex ou ductos resiníferos geralmente associados ao floema. Os resultados obtidos corroboram os estudos realizados por Nascimento e Paiva (2008), onde ductos resiníferos do tipo esquizógeno foram observados no parênquima cortical de folíolos de *Spondias tuberosa*. Ductos associados ao tecido vascular já foram descritos no caule (VENNING, 1948) e na folha de *Spondias dulcis* (SILVA et al., 2000), nas folhas de *S. pinnata* (KHATOON, 2015) e também para o caule de outras espécies de Anacardiaceae, como *Anacardium spruceanum* (PAULA e ALVES, 1973), *Lithraea molleoides* (CARMELLO et al., 1995), *Schinus terebinthifolius* (VENNING, 1948), e *Mangifera indica* (VENNING, 1948). Nos estudos realizados por Azevedo e colaboradores (2015), características semelhantes à anatomia do peciólulo de *S. mombin* foram encontradas no pecíolo de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), como os feixes vasculares em arranjo colateral e a presença de canais secretores bem desenvolvidos, geralmente associados ao floema. Em caules jovens de *Anacardium occidentale* o lúmen dos ductos situados no floema também é oval em secção transversal (ROYO et al., 2015). As características observadas corroboram os

estudos de Santos et al. (2006), que apontam a presença de canais secretores em *S. dulcis* e de Silva e colaboradores (2007) em *S. tuberosa*.

É notável a ocorrência de idioblastos onde se observam cristais, encontrados ao longo do mesofilo e nervura central, nas proximidades dos feixes vasculares (Figura 2 M). A presença de cristais foi descrita por Cronquist (1981) como característica dos indivíduos pertencentes a esta família.

Figura 2 -Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Spondias mombin* L.



A. face adaxial **B.** face abaxial. **C.** tricomas em face adaxial (MEV). **D.** estômato em face abaxial (MEV). **E.** mesofilo dorsiventral. **F.** nervura central. **G.** feixes vasculares. **H.** feixes vasculares (MEV). **I.** colênquima angular. **J.** cavidade secretora do tipo esquizógena. **K.** lúmen da cavidade secretora. **L.** lúmen da cavidade secretora (MEV). **M.** idioblastos cristalíferos no mesofilo. Barras: **A,B,E,I,J,K:** 25 μm . **F:** 200 μm . **C,G,H:** 100 μm . **D,L:** 10 μm .

5.1.3 *Anacardium occidentale* L.

Nas secções paradérmicas, observa-se epiderme adaxial constituída por células de paredes espessas e sinuosas (Figura 3 A). Ramos e colaboradores (2016) relatam para a face adaxial desta espécie, células com paredes pouco sinuosas a poliédricas. Essa divergência dos resultados obtidos pode ser explicada pelo fato de que a sinuosidade das paredes anticlinais das células epidérmicas está relacionada às condições ambientais, sendo mais acentuada em plantas que se desenvolvem à sombra ou em ambientes úmidos (WILKINSON, 1979; GOMES, 1993).

A folha é hipostomática, com a presença de estômatos do tipo paracítico distribuídos aleatoriamente na face abaxial (Figura 3 B). As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelam uma superfície adaxial recoberta por cutícula de aspecto estriado ao longo de toda a epiderme (Figura 3 C). Em muitos vegetais, a cutícula pode apresentar uma série de estriações, que apresentam grande valor taxonômico. Sua função está relacionada à proteção contra perda d'água e na proteção contra o excesso de luminosidade ou radiação solar (PROCÓPIO, 2003). Moreira-Coneglian e Oliveira (2006) afirmam que as células epidérmicas com estrias apresentam aumento da superfície de contato entre células, ampliando a resistência do sistema dérmico e sua eficiência na transferência de substâncias célula a célula, além de potencializar a captação de luz (TAIZ e ZEIGER, 2009). Duarte e colaboradores (2006) descrevem esse tipo de cutícula em *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) enquanto que Donato et al. (2009) relatam a sua presença em *Eugenia florida* (Myrtaceae).

Na face abaxial é possível observar a presença de muitos tricomas glandulares inseridos entre os estômatos, os quais possuem uma bainha cuticular estriada mais proeminente ao seu redor (Figura 3 D,E). Tricomas do tipo glandular peltado pluricelular são observados apenas na face abaxial. Este apresenta forma ovoide, com cabeça chanfrada formada por duas células apicais isoladas e três camadas celulares trisseriadas (Figura 3 F). Através da MEV é possível confirmar em detalhes a superfície da cabeça lobada do tricoma, indicando sua natureza pluricelular, e base chanfrada inserida na

epiderme (Figura 3 G). Martínez-Millán e Cevallos-Ferriz (2005) descreveram os tricomas glandulares de Anacardiaceae formados geralmente por um pedúnculo, que pode ser unicelular ou pluricelular e com uma cabeça geralmente pluricelular e multisseriada, cilíndrica, ovoide ou cônica. Ramos et al (2016), corroboram os resultados aqui encontrados ao relatar a presença de tricomas glandulares na face abaxial, porém, de forma diferente, afirmam que a epiderme em torno deste tricoma apresenta organização concêntrica, com cerca de 10 células radiais. Em *Schinus terebinthifolius* também é possível observar a presença de tricomas glandulares com atividade secretora, possuindo entre 3 e 6 células compondo sua cabeça (AZEVEDO, 2015).

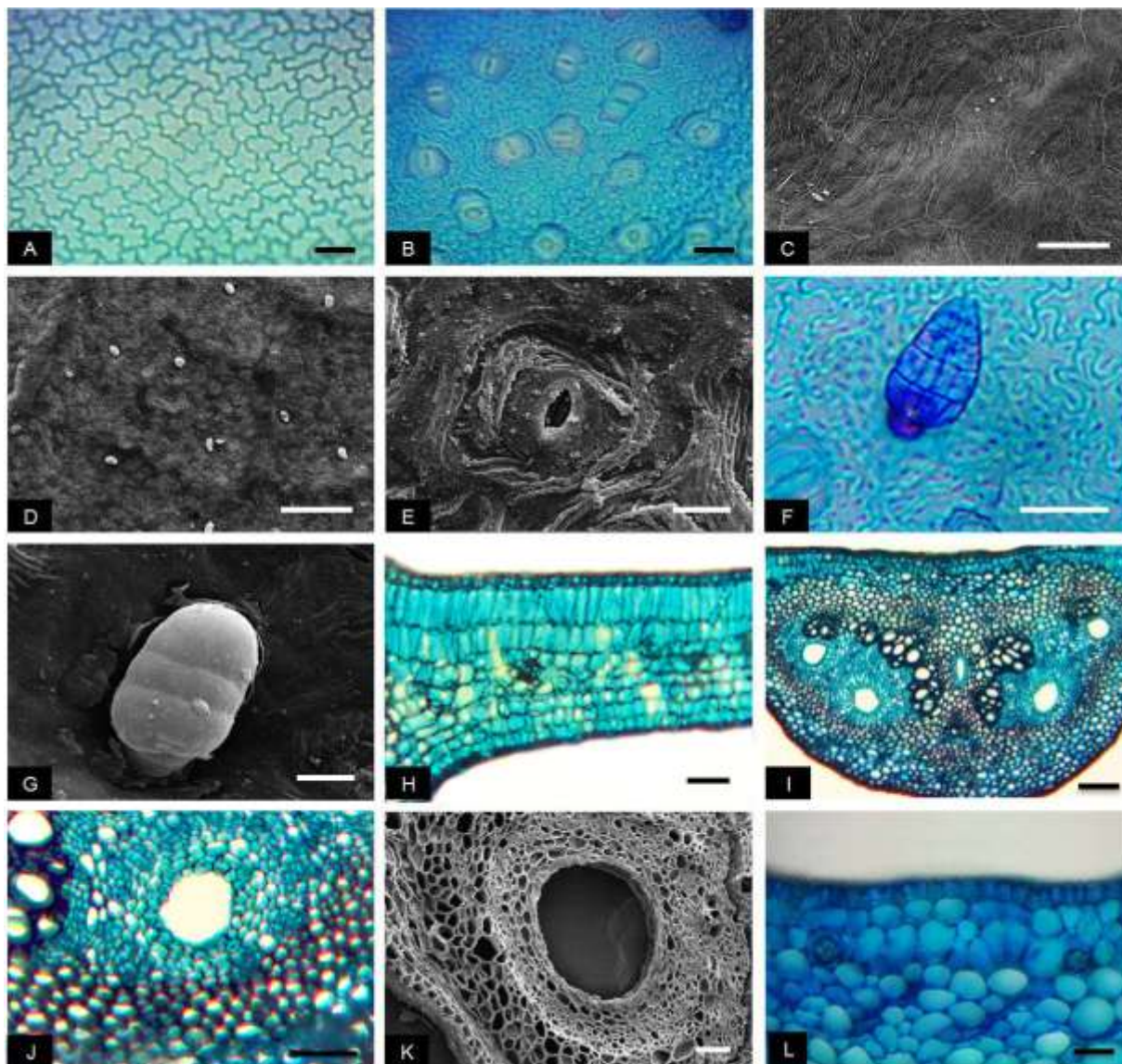
Transversalmente, o mesofilo é dorsiventral, com duas camadas de parênquima paliçádico de células regulares e relativamente estreitas e várias camadas de parênquima esponjoso de células regulares, elípticas com pequenos espaços intercelulares (Figura 3 H). Os estudos realizados por Jaiswal et al. (2012), Reis et al. (2014) e Ramos et al. (2016), corroboram os resultados encontrados com características semelhantes de mesofilo ao analisarem folhas de *A. occidentale*, assim como observado por Azevedo et al. (2015) em *S. terebinthifolius*.

A nervura central, ao nível do terço médio, apresenta secção plano convexa, sendo as duas faces da epiderme recobertas por cutícula espessa e irregular. Inserido no parênquima fundamental, encontra-se o feixe vascular colateral fechado em arco, com fibras perivasculares circundando externamente o xilema e floema, podendo se unir e constituir uma bainha esclerenquimática (Figura 3 I). Reis e colaboradores (2014) relatam a presença de feixes vasculares do tipo colateral em plântulas de *A. occidentale*. Duarte et al. (2006) descreve feixes vasculares colaterais em arranjo concêntrico para *Schinus terebinthifolius*, com presença de canais secretores associados ao sistema vascular.

Na região parenquimática externa à nervura é possível observar a presença de canais secretores esquizógenos, localizados nas proximidades do floema (Figura 3 J,K). Também se visualizam drusas, contidas em idioblastos no parênquima fundamental periférico e nas proximidades da epiderme (Figura 3 L). A presença destes canais secretores é uma característica marcante da

família Anacardiaceae (METCALFE; CHALK, 1957; BARROSO, 1991; PELL, 2004). Ao se observar a secção transversal da folha, é possível afirmar que estas estruturas secretoras são do tipo ducto, por apresentarem lume alongado, diferentemente das cavidades ou bolsas que possuem lume isodiamétrico. Estudos de desenvolvimento desses canais em outras espécies da família Anacardiaceae relataram que esses canais são originados a partir de células procambiais, cujo lume tem origem a partir de afastamento e degeneração de células epiteliais (LACCHIA, 2009).

Figura 3 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Anacardium occidentale* L.



A. face adaxial. **B.** face abaxial. **C.** face adaxial (MEV). **D.** face abaxial (MEV). **E.** estômato (MEV). **F.** tricoma glandular peltado. **G.** tricoma glandular peltado (MEV). **H.** mesofilo dorsiventral. **I.** nervura central. **J.** canal secretor na nervura central. **K.** canal secretor na nervura central (MEV). **L.** idioblastos com cristais no parênquima da nervura. Barras: **A,B,F,J,L,M:** 25 μm . **C:** 50 μm . **D:** 200 μm . **E,G:** 10 μm . **F:** 200 μm . **K:** 40 μm .

5.1.4 *Averrhoa carambola* L.

Em vista paradérmica, observa-se face adaxial constituída por células de paredes pouco espessas, alongadas e pouco sinuosas, bem justapostas, em contraponto com a face abaxial, onde as células são mais curtas e de contorno poligonal. A folha é hipoestomática, com a presença de pequenos estômatos do tipo paracítico distribuídos aleatoriamente sobre a superfície (Figura 4 A,B). Características semelhantes foram descritas por Reis e Alvim (2013) para *Oxalis latifolia*, *Oxalis debilis* e *Oxalis corniculata*, onde as células epidérmicas apresentam contorno poligonal, divergindo, porém, pelo fato de possuir folha anifestomática e estômatos anomocíticos.

A partir das análises realizadas com as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, verifica-se uma superfície irregular com células epidérmicas com diferentes alturas, em ambas as faces, porém com tricomas tectores distribuídos de forma homogênea (Figura 4 C,D). Observa-se a presença de cera epicuticular do tipo escamosa, que recobre toda a superfície da folha em ambas as faces. Na face abaxial, os diminutos estômatos encontrados também se apresentam recobertos pelas escamas da cera na forma de roseta (Figura 4 E,F).

As ceras vegetais são estruturas formadas por um filme relativamente fino de material epicuticular sobre a superfície da cutícula. Tais materiais exibem uma gama extensiva de formas, como plaquetas, tiras, rosetas, varetas, entre outros (BARTHOLOTT et al., 1998). Baseando suas observações em microscopia de luz, Guedes (2009) relata a presença de cutícula espessa e sem estriações recobrindo ambas as faces da lamina foliar de *Averrhoa bilimbi* L. Almeida et al. (2009), a partir de imagens obtidas por MEV, relatam aspecto semelhante de deposição de cera sobre a superfície de *Xylopia benthamii*, observada em forma de escamas epicuticulares.

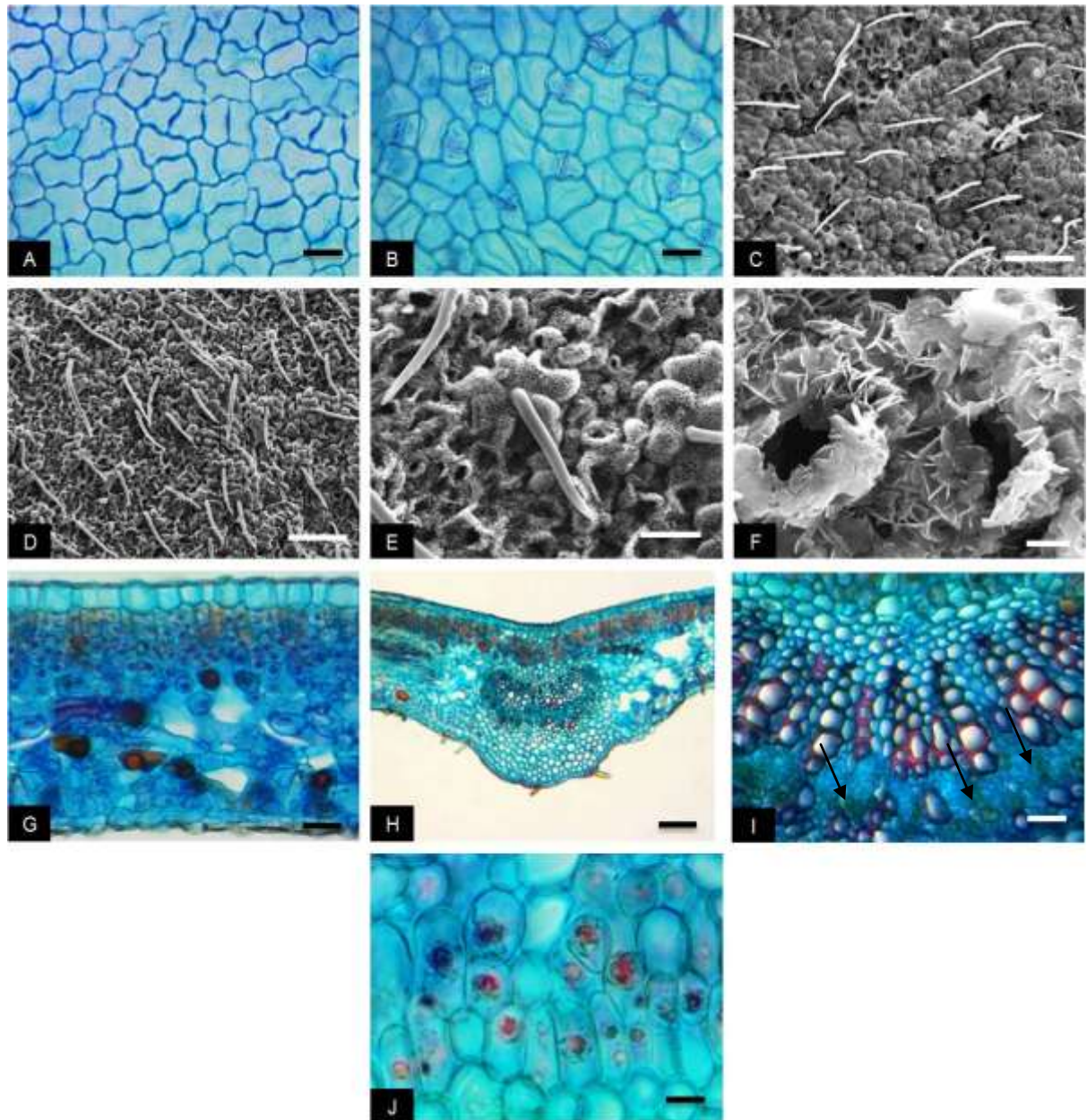
O mesofilo possui organização dorsiventral e é recoberto por cutícula espessa em ambas as faces. Vista sob esse plano, a epiderme é constituída por uma camada de células de contorno angular, sendo o maior na face adaxial em relação as da face abaxial. O parênquima paliçádico é constituído de células alongadas no, sentido anticlinal, e relativamente estreitas, compostas

de várias camadas sobrepostas e pouco definidas. O esponjoso é constituído de várias camadas de células irregulares, elípticas com diversos espaços intercelulares, onde é possível verificar a presença de alguns idioblastos contendo substâncias ergásticas de coloração escura (Figura 4 G). De forma diversa, Reis e Alvim (2013) descrevem a presença de mesofilo dorsiventral com apenas uma camada de parênquima paliçádico e duas a três camadas de parênquima esponjoso. Jorge et al. (2005), ao analisar folíolos de *A. carambola*, relatam um mesofilo com parênquima paliçádico constituído por três camadas celulares. Este fato pode estar relacionado ao nível de exposição solar que o vegetal encontra-se, sendo útil em sua relativa proteção à perda de água por transpiração e por evaporação.

A nervura central apresenta secção plano convexa, sendo as duas faces da epiderme recobertas por cutícula espessa (Figura 4 H). Inserido no parênquima fundamental, encontra-se o feixe vascular colateral aberto em arco, com o acúmulo de cristais prismáticos, verde translúcido, na região floemática (Figura 4 I). A disposição dos feixes vasculares de forma colateral também pode ser verificada em espécies de *Oxalis*, porém apresentam um cilindro vascular composto de quatro feixes do tipo colateral (REIS e ALVIM, 2013). Jorge e colaboradores (2005) observaram nos folíolos de *A. carambola* a presença de feixes vasculares do tipo colateral aberto e colênquima discreto nas extremidades da nervura central, corroborando os resultados aqui apresentados.

Também é possível verificar a presença de inclusões cristalinas prismáticas e outras de diferentes contornos, associadas às células do parênquima fundamental nas proximidades dos vasos xilemáticos e na face adaxial (Figura 4 J). A formação de cristais é um processo comum nos vegetais e ocorre no interior a câmara vacuolar dos idioblastos clistalíferos (FRANCESCHI e NAKATA, 2005).

Figura 4 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Averrhoa carambola* L.



A. face adaxial. **B.** face abaxial. **C.** face adaxial (MEV). **D.** face abaxial (MEV). **E.** cutícula escamosa em face abaxial. **F.** estômato coberto por cutícula escamosa. **G.** mesofilo dorsiventral. **H.** nervura central plano convexa. **I.** feixe vascular colateral aberto com acúmulo de cristais prismáticos (setas). **J.** inclusões cristalinas no mesofilo. Barras: **A, B, E, G, J:** 25 μm . **C, D:** 100 μm . **F:** 2,5 μm . **H.** 200 μm .

5.1.5 *Genipa americana* L.

Em secção paradérmica, as células epidérmicas que compõem a face adaxial apresentam contornos poligonais contendo inclusões amorfas em seu interior que variam em tamanho (Figura 5 A). Na face abaxial as células são menores e pode-se notar a presença de estômatos paracíticos e anomocíticos, restritos a esta face, caracterizando a folha como hipoestomático. Várias inclusões são também observadas na face abaxial da lâmina foliar, no interior das células epidérmicas e nas células-guarda estomáticas (Figura 5 B). Caracteres como folha hipoestomática, células epidérmicas com paredes anticlinais retas, estômatos paracíticos e anomocíticos, tricomas tectores uni e pluricelulares e mesofilo dorsiventral, são de ocorrência comum para a família, dentre os representantes de Rubiaceae (METCALFE e CHALK, 1979), como verificado em *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (VIEIRA, 1988), *T. formosa* (Cham. and Schltdl.) K. Schum. (COELHO et al., 2006) e *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (QUINTEIRO et al. 2006).

As imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) evidenciam que a cera epicuticular apresenta-se na forma de projeções cristalinas, como uma extensa camada de nano filamentos que recobrem toda a superfície epidérmica em ambas as faces (Figura 5 C,D), inclusive sobre os estômatos (Figura 5 E). As ceras epicuticulares são constituídas de um filme de cera amorfa, de onde emergem estruturas cristalinas de diferentes formas. Apesar da morfologia das ceras ser controlada geneticamente, a quantidade e a distribuição podem ser modificadas pelas condições ambientais (BARTHLOTT et al., 1998). A constituição química das ceras epicuticulares possui uma relação intrínseca com a sua morfologia e ultraestrutura, onde álcoois secundários, cetonas e betadiconas contribuem na formação de estruturas cuticulares na forma de túbulos (BAKER, 1982).

Em secção transversal a epiderme apresenta-se recoberta por uma espessa camada cuticular. A epiderme é uniestratificada, formada por células maiores na face adaxial, mais alongadas no sentido anticlinal, em oposição às células epidérmicas da face abaxial, menores e mais alongadas no sentido periclinal. O mesofilo possui organização dorsiventral e apresenta parênquima

paliçádico voltado para a face adaxial, constituído por duas camadas de células alongadas (Figura 5 F). O parênquima esponjoso é multiestratificado composto de células arredondadas frouxamente organizadas, com pequenos espaços intercelulares entre si, compondo a região abaxial do mesofilo. Alguns feixes vasculares secundários podem ser vistos inseridos no mesofilo. Características semelhantes com relação à organização do mesofilo são descritas por Moraes et al. (2011), a partir da realização da anatomia comparativa entre espécies de *Psychotria* (Rubiaceae). Algumas das características anatômicas observadas foram descritas em todas as cinco espécies analisadas, assim como em *G. americana*, que, segundo Metcalf e Chalk (1979) são comuns à família, necessitando de outros parâmetros a serem utilizados na diferenciação específica.

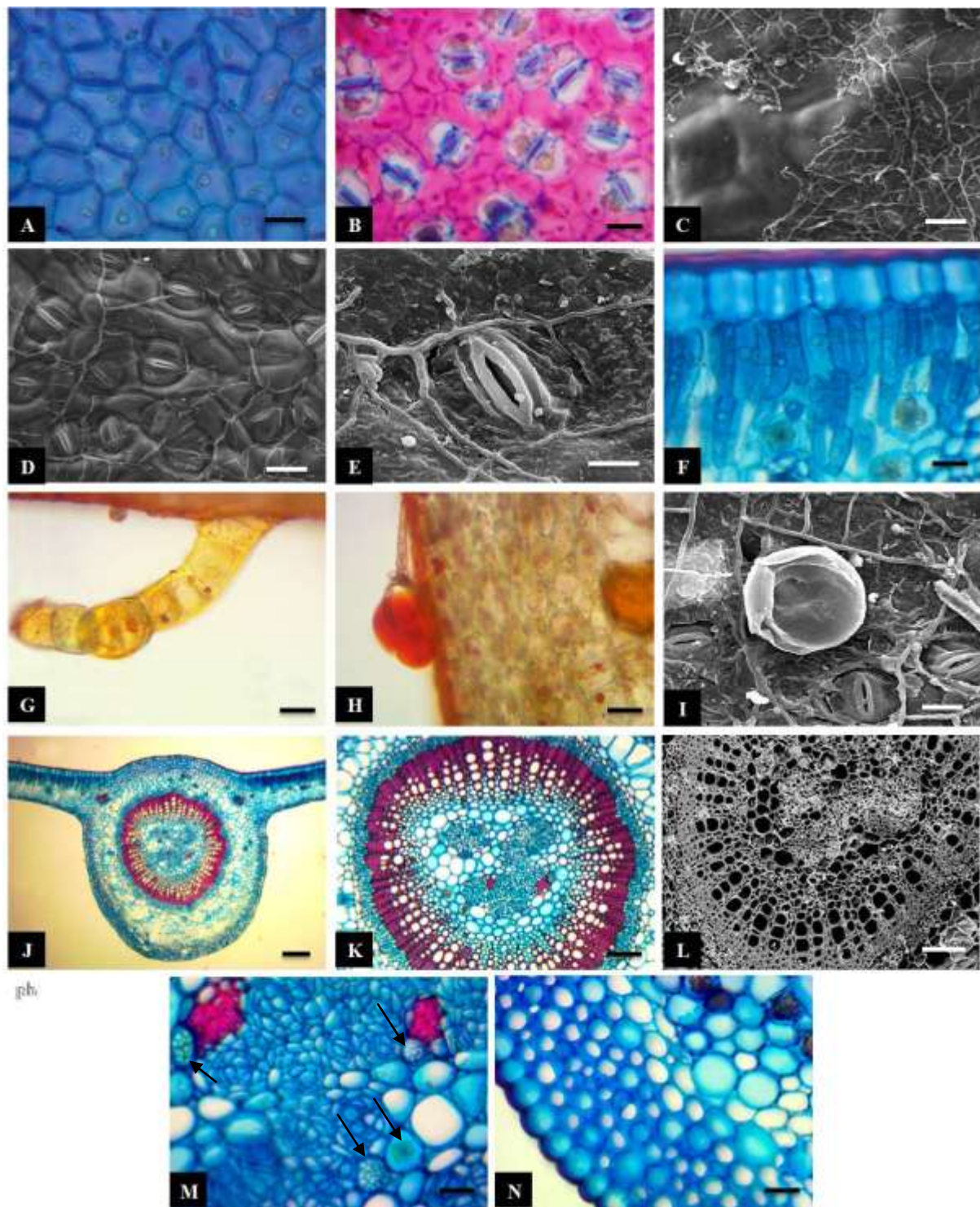
É possível observar, na face abaxial, a presença de escassos tricomas tectores pluricelulares e glandulares (Figura 5 G,H). A presença destes tricomas também foi detectada através da microscopia eletrônica, revelando pequenos e escassos tricomas glandulares na face abaxial do limbo que se inserem entre os estômatos e a camada fibrosa epicuticular (Figura 5 I). A presença de tricomas glandulares é uma característica que diverge dos resultados encontrados por Santos e colaboradores (2006) e Erbano e Duarte (2010) em folhas de *Genipa americana*. Alguns estudos demonstram que fatores exógenos como herbivoria, temperatura, luminosidade, disponibilidade hídrica e sazonalidade são capazes de influenciar a formação e funcionamento dos tricomas glandulares em diferentes grupos vegetais (VILJOEN et al., 2005; ARGYROPOULOU et al., 2007; GONZÁLES et al., 2008; MARTÍNEZ-NATARÉN et al., 2011).

A nervura central apresenta simetria biconvexa, sendo proeminente na superfície abaxial, com feixes vasculares de arranjo concêntrico anficrival sem fibras esclerenquimáticas perivasculares (Figura 5 J,K,L). Em compensação, observa-se a presença de quatro a cinco camadas de colênquima do tipo anelar, observado tanto na face adaxial quanto abaxial da nervura. Apesar de Metcalfe and Chalk (1979) afirmarem que a presença de fibras associadas ao sistema vascular é uma característica constante para a família, não se observou essas estruturas nas folhas analisadas. Verifica-se, portanto, o

colênquima conferindo essa função de sustentação necessária à lâmina foliar. Corroborando os resultados apresentados, observa-se que em *Tocoyena bullata* (Vieira 1988) e *Psychotria carthagenensis* (VITARELLI, 2009) é possível observar feixe vascular em arranjo cilíndrico na nervura central, porém, de forma diferente, apresentando fibras esclerenquimáticas perivasculares.

Ao centro do cilindro vascular principal, na região parenquimática medular, há calotas de vascularização acessória, entre as quais é possível verificar a presença de drusas (Figura 5 M). Subjacente à monocamada epidérmica, encontram-se vários estratos de células colenquimáticas do tipo angular onde se nota a presença de inclusões cristalinas do tipo drusa (Figura 5 N). Angiospermas comumente apresentam cristais armazenados em seus tecidos, estando relacionados com proteção física, remoção de oxalato a partir do sistema metabólico, armazenamento de cálcio, e regulação de luz durante a fotossíntese (FRANCESCHI e NAKATA, 2005).

Figura 5 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Genipa americana* L.



A. face adaxial. **B.** face abaxial. **C.** face adaxial coberta por cera epicuticular tubular (MEV). **D.** face abaxial coberta por cutícula tubular (MEV). **E.** estômato na face abaxial (MEV). **F.** mesofilo dorsiventral. **G.** tricoma multisseriado. **H.** tricoma glandular. **I.** tricoma glandular (MEV). **J.** nervura central biconvexa. **K.** cilindro vascular de arranjo concêntrico. **L.** cilindro vascular (MEV). **M.** drusas e amido no parênquima medular da nervura (setas). **N.** conlênquima anelar e drusas na região abaxial da nervura. Barras: **A,B,F,H,I,L,M,N:** 25 μm . **C,D:** 25 μm . **E:** 10 μm . **G,N:** 40 μm . **J:** 200 μm . **K:** 100 μm .

5.1.6 *Citrus x aurantium* L.

Em secção paradérmica, a face adaxial das folhas possui células de tamanhos predominantemente uniformes com contorno poligonal, apresentando idioblastos contendo cristais prismáticos e manchas esbranquiçadas encontradas na superfície da epiderme foliar, caracterizadas como células secretoras (Figura 6 A, B). Também é possível verificar a presença de cavidades esquizógenas sobre a superfície superior (Figura 6 C). Características semelhantes foram observadas por Oliveira et al. (2014) em folhas de *Citrus aurantium*, *C. limon* e *C. aurantifolia*, que descrevem em ambas as faces da epiderme células de paredes anticlinais retas a levemente onduladas, sendo este caráter mais acentuado na face abaxial. Inyama e colaboradores (2015) ao analisarem a epiderme de *Citrus sinensis*, *C. limon*, *C. aurantifolia*, *C. reticulata*, *C. paradisi* e *C. máxima*, relatam células de contorno poligonal, porém não foi observada a presença de cristais nem de canais secretores nesta face.

Na face abaxial, as células possuem contorno poligonal a sinuoso, entre as quais estão inseridos pequenos estômatos do tipo anomocítico localizados bem próximos uns aos outros (Figura 6 D). Assim como na face adaxial, verifica-se também nesta superfície inclusões em forma de cristais prismáticos, contidos em idioblastos de superfície. As imagens obtidas por MEV evidenciam as estruturas anatômicas com detalhes. É possível observar a face adaxial composta por uma camada uniforme de células epidérmicas (Figura 6 E). Na superfície abaxial observam-se células epidérmicas alongadas e de contorno levemente sinuoso com presença de estômatos (Figura 6 F). Os numerosos estômatos encontrados nesta face do limbo possuem tamanho muito reduzido, sendo seus detalhes visualizados por microscopia eletrônica de varredura (Figura 6 G).

De acordo com Mbagwu et. al. (2008), foram identificados estômatos do tipo anomocítico, exclusivamente na face abaxial de *Citrus sinensis*, *C. aurantium*, *Citrus limon* e *Citrus aurantifolia*, caracterizando suas folhas como hipoestomáticas. Em discordância com os resultados apresentados por Obiremi et al (2001) que reportaram estômatos paracíticos em *C. limon* e *C.*

aurantifolia e paracíticos a anomocíticos em *C. sinensis* e *C. reticulata*. Conforme Metcalfe e Chalk (1950), os estômatos, em Rutaceae, geralmente estão situados na face abaxial na maioria das espécies.

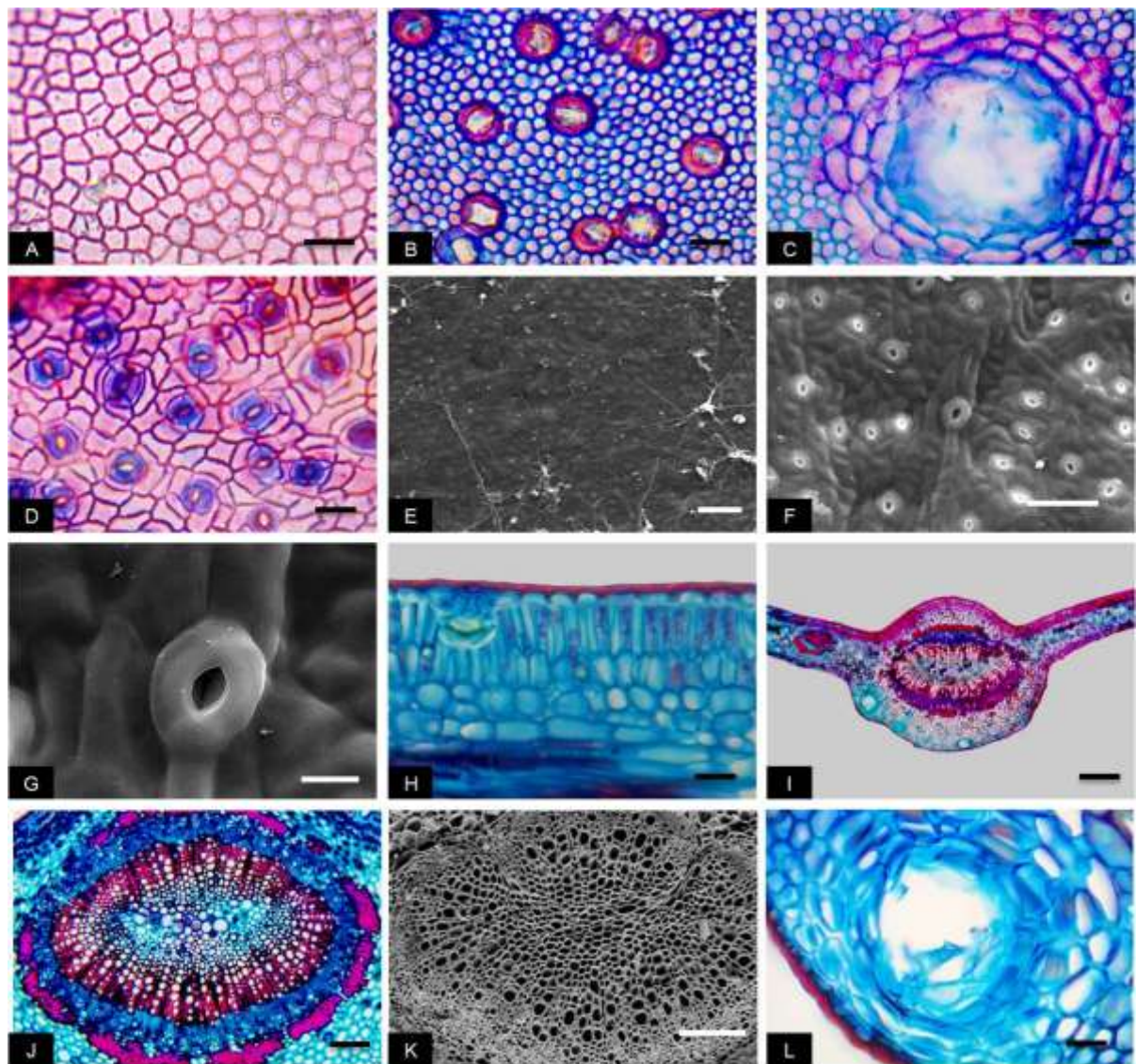
Em vista transversal, as células que constituem a epiderme unisseriada são mais alongadas no sentido periclinal e apresentam uma cobertura espessa de cutícula. O mesofilo dorsiventral apresenta dois estratos de parênquima paliçádico, com presença de idioblastos nos quais estão inseridos cristais prismáticos. No parênquima esponjoso são observadas de quatro a oito camadas celulares constituído de células de tamanho e forma irregulares entre as quais, por vezes, surgem espaços vazios (Figura 6 H). Marques e colaboradores (2010) relatam a presença de uma fina camada cuticular sobre a epiderme de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, enquanto que Oliveira et al. (2014), descrevem o revestimento epidérmico em *Citrus aurantium*, *C. limon* e *C. aurantifolia* como uma camada espessa cuticular, sendo mais intensa na face abaxial da nervura central. Em diferentes espécies de *Citrus*, células de colênquima angular são encontradas abaixo da epiderme abaxial na região da nervura central (INYAMA et al., 2015). Em análises realizadas por Oliveira et al. (2014) em *C. aurantifolia* e *C. aurantium*, relataram parênquima paliçádico com três camadas celulares, seguido por várias camadas de parênquima esponjoso, divergindo das características observadas nesse trabalho para esta espécie. Este fato pode ser explicado por Kofidis e colaboradores (2004), ao explicar que uma planta submetida a estresse hídrico apresenta um aumento no número de células no mesofilo com uma redução do espaço intercelular. Isto resulta do bloqueio de envio de vapores de água para o estômato, reduzindo assim num decréscimo da evapotranspiração, aumento a densidade do parênquima clorofiliano. Funções de balanço iônico celular; regulação osmótica; defesa vegetal contra herbivoria; suporte mecânico tissular; detoxificação de alumínio e metais pesados; captação e reflexão da energia solar são atribuídas aos cristais de oxalato de cálcio (He et al. 2012).

Pode-se notar o contorno biconvexo da nervura principal (Figura 6 I). Sequencialmente à camada de epiderme, um colênquima angular com aproximadamente quatro camadas está presente e logo abaixo estão localizados de quatro a cinco estratos de parênquima. Na região central, os

feixes vasculares de arranjo concêntrico anficrival são organizados em um círculo central com uma bainha de fibras esclerenquimáticas rodeando o líber de forma intermitente (Figura 6 J,K). Na região parênquimática medular observam-se cristais prismáticos intracelulares. Ao analisar folhas de espécies de citrus, Oliveira, et al. (2014) relatam a presença de feixe vascular concêntrico em *C. aurantifolia* e *C. limon*, apresentando diferenças em *C. aurantifolia*, onde observa-se um feixe vascular do tipo bilateral. É possível observar também a presença de fibras pericíclicas descontínuas associadas ao cilindro vascular, como descrito por Etxeberria (2012).

Nas proximidades das faces epidérmicas, principalmente na abaxial, cavidades secretoras esquizolisígenas de tamanhos variados estão distribuídas ao longo do parênquima (Figura 6 L). Ao realizar uma análise comparativa da morfologia epidérmica de seis espécies de *Citrus*, Inyama e colaboradores (2015), reportam a existência de canais secretores associados à epiderme destas espécies, identificados por um arranjo circular destas células e coloração menos intensa, visualizados em ambas as faces da epiderme. Segundo Metcalfe e Chalk (1979), a família tem como características anatômicas das folhas a presença de cavidades secretoras que a olho nu tem a aparência de pontos transparentes. O sistema secretor das folhas de *C. aurantium*, *C. limon* e *C. aurantifolia* é constituído por numerosas cavidades esquizolisígenas, próximas à epiderme e na interface entre o parênquima paliçádico e esponjoso (OLIVEIRA, et al., 2014). Em frutos cítricos a região pigmentada do pericarpo é chamada de flavedo e contém inúmeras glândulas de óleo constituídas por cavidades secretoras que são revestidas por várias camadas de células epidérmicas especializadas (FAHN, 1979). Vários autores formularam a hipótese de que estas células são as responsáveis pela biossíntese do óleo essencial (ESAU, 1965; SCHNEPF, 1974; TURNER et al., 1998; LÜCKER et al., 2002).

Figura 6 – Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Citrus x aurantium* L.



A. face adaxial. **B.** cristais prismáticos em idioblastos. **C.** cavidade esquizógena. **D.** face abaxial. **E.** face adaxial (MEV). **F.** face abaxial (MEV). **G.** estômato anomocítico (MEV). **H.** mesofilo dorsiventral. **I.** nervura central biconvexa. **J.** feixe vascular concêntrico. **K.** nervura central (MEV). **L.** cavidade secretora esquizolisígena. Barras: **A,B,C,D,H,K,M:** 25 μm . **E,F:** 50 μm . **G:** 10 μm . **J,L:** 50 μm .

5.1.7 *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez

Em secção paradérmica, observam-se na face adaxial células de contorno poligonal, enquanto na abaxial elas apresentam-se ligeiramente menores e pouco sinuosas, com a formação de regiões mais esbranquiçadas características de glândulas secretoras pluricelulares em ambas as faces. Pequenos estômatos do tipo anomocíticos, são de ocorrência exclusiva na face abaxial da folha, sendo, assim, classificada como hipoestomática (Figura 7 A, B). Inyama ao analisar a superfície foliar de espécies de *Citrus* observou em folhas de *C. limon*, células de forma retangular, triangular, hexagonal e trapezoidal, observando-se a presença de modificações na disposição das células epidérmicas, indicando a presença de estruturas secretoras internas. A presença de pontuações translúcidas nas folhas é uma característica marcante em Rutaceae, pois correspondem a cavidades glandulares multicelulares produtoras de óleos essenciais aromáticos, típicos da família (MUNTOREANU, 2008). Segundo Oliveira e colaboradores (2014), as células de espécies de *Citrus* apresentam paredes anticlinais retas a levemente onduladas, verificando-se maior sinuosidade na face abaxial. Estes evidenciam ainda estômatos do tipo anomocítico na face superior da epiderme de *C. limon*, porém com maior predominância na face abaxial. Segundo Metcalfe e Chalk (1950), os estômatos, em Rutaceae, geralmente estão situados na face abaxial na maioria das espécies.

Os estômatos vistos sob microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostram-se distribuídos aleatoriamente ao longo da face abaxial inseridos em um nível abaixo das células epidérmicas ao seu redor (Figura 7 C, D). Com microscopia óptica de luz não é possível observar a presença de tricomas, porém, a microscopia de varredura revela a presença de pequenos tricomas glandulares do tipo estrelados na face abaxial (Figura 7E). Todos os estômatos estão na superfície inferior das folhas e sua formação parece cessar quando a lâmina atinge aproximadamente um quarto de seu tamanho final (CHANDLER, 1962). Saeed e Sohail (2010) reportam a ausência de estômatos na superfície superior em folhas de *Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata*, *Citrus jambhiri*, *Citrus*

paradisi × *P. trifoliata*, *Citrus limettioides*, *C. sinensis* × *Poncirus trifoliata* e *Citrus aurantium* L.

Visto transversalmente, o mesofilo dorsiventral apresenta epiderme unisseriada recoberta por cutícula espessa. Abaixo dela, observa-se hipoderme, com presença de cristais inseridos em câmaras subepidermais. Possui duas a três camadas de parênquima paliçádico compacto e parênquima esponjoso frouxamente organizado (Figura 7 F). Há a presença de cavidades secretoras do tipo esquisolisígenas, estando presentes em ambas as faces do limbo e na nervura central (Figura 7 G). Saeed e Sohail (2010) ao analisarem folhas de espécies enxertadas de *Citrus*, evidenciaram duas ou três camadas de parênquima paliçádico logo abaixo da epiderme, sendo que as células da terceira camada eram menores do que as das demais. Neste tecido, as células estão justapostas, apresentando pouco espaço intercelular. Oliveira et al. (2014) relataram uma característica anatômica peculiar em *C. limon*, onde se observou uma camada de hipoderme na face adaxial, diferentemente das outras espécies de *Citrus* analisadas. Chacin et al. (2005; 2007) evidenciaram cavidades secretoras no pecíolo e nas folhas de *C. latifolia* Tanaka. Oliveira e colaboradores (2014), relatam a presença de canais secretores associados a epideme, presentes em folhas de *Citrus aurantium*, *Citrus limon* e *Citrus aurantifolia*.

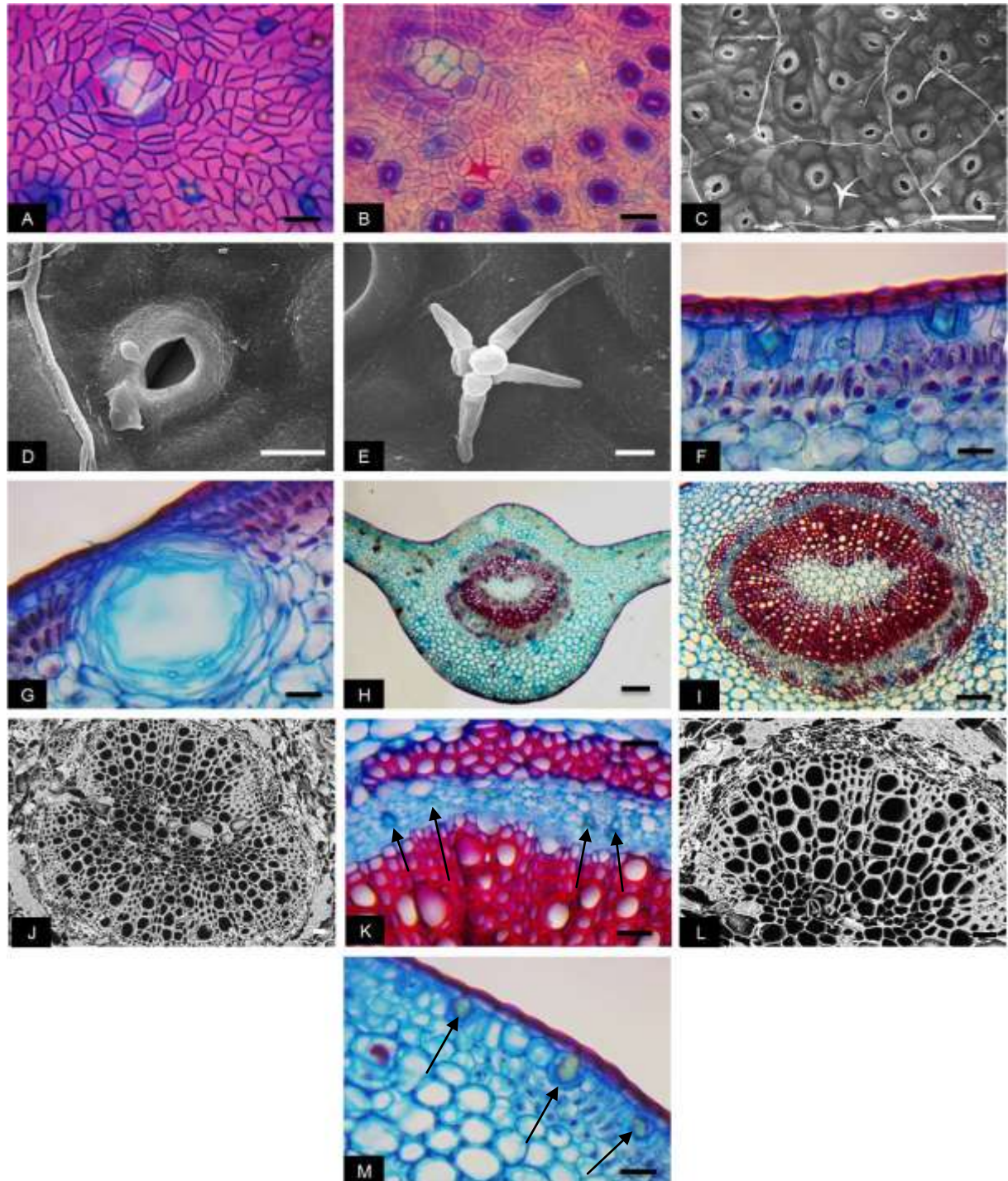
A nervura central apresenta simetria bicoenxa e colênquima angular, sendo a região abaxial mais proeminente que a adaxial (Figura 7 H). Os feixes vasculares estão organizados de forma colateral em arco aberto, dispostos de tal forma que a zona floemática circunda quase completamente os vasos lenhosos. Na região central dos feixes, encontram-se células parenquimáticas. Circundando o cilindro vascular é observada a presença de uma bainha esclerenquimática perivascular (Figura 7 I,J).

Diferentemente, ao analisarem folhas de *C. latifolia* Tanaka, Chacin et al. (2005) destacam a presença de tecidos de condução dispostos em três feixes bicolaterais fechados com fibras perifloemáticas. Cada feixe é constituído por xilema e floema (primário), dispostos em anéis contínuos em torno de um grupo central de células parenquimatosas. A presença de feixes vasculares centrais circundados por fibras e constituídos por floema externo ao xilema também são

característicos de outras espécies da família Rutaceae, como observado em *Citrus limettioides* Tanaka (LOPES et al., 2013), *Raulinoa echinata* (GALLARDO e JIMÉNEZ, 2002), *C. sinensis* (BRONZI, 1981), *Balfoudendron riedelianum*, *Helietta apiculata* e em espécies de *Metrodorea* (MARTINS et al., 2008).

É notória a presença de cristais prismáticos identificados por pontos verdes translúcidos em diversas localidades do limbo. Essas inclusões cristalinas podem ser visualizadas inseridas na região floemática (Figura 7 K,L) e no interior de células epidérmicas (Figura 7 M). Observa-se que a produção e o armazenamento desses cristais é uma característica comum à família, ocorrendo em grande número nas plantas cítricas (BRONZI, 1981).

Figura 7 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez.



A. face adaxial. **B.** face abaxial. **C.** face abaxial (MEV). **D.** estômato anomocítico (MEV). **E.** tricoma glandular estrelado (MEV). **F.** mesofilo dorsiventral com acumulo de cristais. **G.** cavidade secretora esquisolisígena. **H.** nervura central biconvexa. **I.** feixes vasculares. **J.** feixes vasculares (MEV). **K.** cristais inseridos em células de floema (setas). **L.** detalhe de feixes vasculares (MEV). **M.** cristais acumulados na região epidérmica (setas). Barras: **A,B,F,G,K,L:** 25 µm. **C:** 50 µm. **D:** 10 µm. **E:** 5 µm. **H:** 200 µm. **I:** 100 µm. **J,L:** 20 µm.

5.1.8 *Punica granatum* L.

Em vista paradérmica, as células epidérmicas da face adaxial são pouco sinuosas e apresentam contorno espesso. Quando comparadas com as da face oposta, elas apresentam-se maiores e mais alongadas axialmente. Em seu interior é possível observar a presença de pequenas gotículas de acúmulo (Figura 8 A). Características semelhantes foram observadas por Prabha et al. (2013) e Rajaei et al. (2015), ao analisarem folhas desta espécie, relatando células epidérmicas de contorno arredondado a poligonal, sendo as da face superior maiores que as da face abaxial.

Inseridos entre as células epidérmicas da face abaxial, de contorno bastante sinuoso e de menor volume, os numerosos estômatos do tipo anomocítico e anisocítico foram observados apenas nesta face do limbo, caracterizando-se como hipoestomático (Figura 8 B). Segundo Metcalf e Chalk (1950), estômatos do tipo anomocítico são uma característica anatômica comum para a família Lythraceae. Rajaei e colaboradores (2015) descrevem o limbo de *P. granatum* como hipoestomático. Zago et al. (2010) ao analisarem folhas de *Cuphea glutinosa* (Lythraceae) observaram a presença de estômatos diacíticos.

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelam que as células da superfície adaxial são alongadas, mais volumosas e de contorno arredondado, enquanto que as da outra face apresentam superfície com aspecto estriado (Figura 8 C). Na face abaxial, as células são menores, possuem contorno sinuoso e estão organizadas em uma epiderme com aspecto ondulado, em diferentes níveis de disposição, sobre a qual se distribuem aleatoriamente numerosos e pequenos estômatos (Figura 8 D,E). Divergindo dos resultados apresentados, Rajaei et al. (2015) observaram a presença de estômatos no mesmo nível de inserção das células epidérmicas de *P. granatum*. Da mesma forma, na epiderme de *Cuphea glutinosa* (Lythraceae) encontram-se estômatos inseridos no mesmo nível da epiderme, apenas na face abaxial (Zago et al., 2013). Tal conformação ocasiona uma taxa fotossintética menor, pois as trocas gasosas são menos eficientes que a apresentada pelas folhas anfiestomáticas (Parkhurst, 1978, Mott et al., 1982).

Nas secções transversais observou-se uma cutícula espessa recobrimdo toda a face adaxial e abaxial da epiderme. Adaxialmente, as células epidérmicas são alongadas periclinamente e apresentam um maior volume que as inferiores, sendo estas menores e mais estreitas (Figura 8 F). De forma semelhante, Rajaei e colaboradores (2015) descrevem a presença de cutícula muito espessa, cobrindo ambas as superfícies foliares desta espécie. Segundo Larcher (2000), as folhas das plantas geneticamente adaptadas à deficiência hídrica, têm as paredes da epiderme mais fortemente cutinizadas e com maior espessura das camadas de cera. Os estômatos geralmente estão presentes apenas na face abaxial das folhas, sendo menores e frequentemente protegidos no interior de criptas estomáticas. Deste modo, o ar à volta dos estômatos fica mais úmido e a resistência à movimentação do ar da camada imediatamente adjacente à epiderme (camada limite) aumenta.

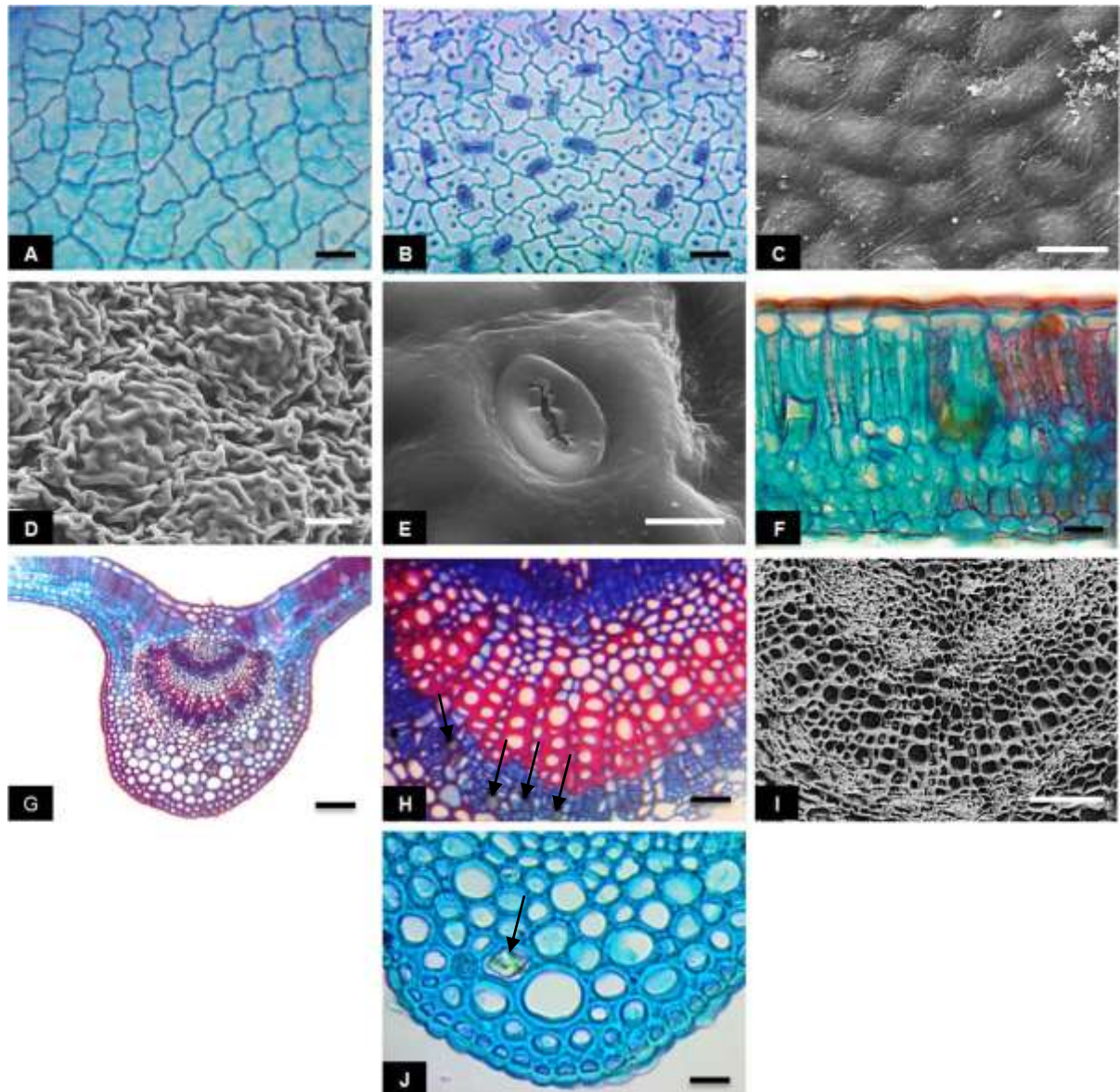
O mesofilo dorsiventral apresenta apenas uma camada de parênquima paliçádico, logo após a epiderme, com células alongadas e repletas de inclusões aglomeradas na forma de pequenos grãos. Em alguns trechos é possível identificar canais secretores associados à epiderme, alguns deles com acúmulo de cristais prismáticos verde-translúcidos. O parênquima esponjoso é formado por células arredondadas com pouco espaço intercelular, organizadas em três a quatro camadas da face abaxial do limbo. Nestas células o acúmulo de drusas e substâncias cristalinas é mais intenso (Figura 8 F). Rajaei et al. (2015) relatam dificuldade na determinação do aspecto bifacial na folha da romãzeira, pois uma camada de células do parênquima paliçádico foi observada acima da face abaxial da epiderme. Fahn (1990) concluiu que a determinação de parênquimas paliçádicos e esponjosos não é simples em todos os casos. Estes autores ressaltam a presença de cristais de drusa e inclusões granulares ergásticas, observadas neste tecido. Em consonância com os resultados obtidos, Lusa et al. (2011) descrevem um parenquima paliçádico composto de uma a duas camadas e parenquima esponjoso formado por quatro camadas celulares frouxamente organizadas, em folhas de *Cuphea carthagenensis* (Lythraceae)

A nervura central apresenta uma secção que varia de côncavo a plano-convexa, com colênquima anelar em maior número de camadas na face abaxial (Figura 8 G). No parênquima fundamental estão inseridos os feixes vasculares do

tipo bicolateral, em forma de arco, com presença de floema em ambas as faces. Não foi observada a presença de fibras periféricas associadas aos vasos, mas de colênquima anular circundado a face abaxial da nervura central. Na região liberiana verificam-se inclusões cristalinas contidas nas células que compõem estes vasos (Figura 8 H,I). Rajaei e colaboradores (2015) corroboram os resultados encontrados, ao observarem sistema vascular do tipo bicolateral em folhas de *P. granatum* originárias do sudeste do Irã. Semelhantemente, espécies pertencentes à mesma família, como em *Cuphea glutinosa* e *C. carthagenensis*, é possível observar a mesma disposição bicolateral para os feixes condutores (Zago et al., 2010; Lusa et al., 2011).

O parênquima da face abaxial da nervura central apresenta células esféricas volumosas com colênquima anelar, onde é possível observar o acúmulo de cristais prismáticos verdes translúcidos distribuídos aleatoriamente (Figura 8 J). De acordo com Franceschi e Nakata (2005), o processo de biomineralização é um processo comum nos vegetais e ocorre no interior da câmara vacuolar dos idioblastos cristalíferos.

Figura 8 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas das folhas de *Punica granatum* L.



A. face adaxial. **B.** face abaxial. **C.** face adaxial (MEV). **D.** face abaxial (MEV). **E.** estômato (MEV). **F.** mesofilo dorsiventral. **G.** nervura central côncavo-convexa. **H.** feixe vascular colateral aberto em arco com cristais no floema (setas). **I.** feixe vascular (MEV). **J.** colênquima anelar com acúmulo de cristal no parênquima na face abaxial da nervura (seta). Barras: **A,B,D,F,I,J,K:** 25 μm . **G:** 100 μm . **C:** 20 μm . **E:** 5 μm .

5.1.9 *Tamarindus indica* L.

Em vista paradérmica, a lâmina foliar é constituída de células epidérmicas de paredes espessas e contorno poligonal em ambas as faces. Verifica-se a presença de estômatos do tipo paracítico e anisocítico, sendo aqueles de maior incidência, distribuídos aleatoriamente sobre ambas as superfícies, porém com maior frequência de distribuição abaxial, caracterizando o limbo como anfiestomático (Figura 9 A, B). Os fatores de estresse abióticos, característicos do bioma caatinga, influenciam na estratégia de desenvolvimento de caracteres anatômicos que conferem capacidade adaptativa aos vegetais, como exemplo o aumento do número de estômatos (BOEGER e WISNIEWSKI, 2003; SILVA, 2012). Corroborando os resultados obtidos, Ugbabe et al. (2016), ao analisarem folhas desta espécie, observaram células epidérmicas de contorno poligonal e limbo anfiestomático. Tripathi e Mondal (2012), também observaram a presença de estômatos anomocítico e/ou paracítico em ambas as faces do limbo foliar, em maior densidade na face abaxial. Divergindo destes resultados, Ugbabe et al. (2016), reportam estômatos do tipo diacítico em ambas as faces dos folíolos de tamarindeiro, originários da Nigéria.

Verifica-se, a partir das análises das imagens resultantes da microscopia eletrônica de varredura, que a presença de cera epicuticular pode ocorrer em mais de um padrão na mesma folha. Observou-se que as células epidérmicas da face adaxial possuem uma textura mais estriada e encontram-se recobertas por uma espessa camada de cera epicuticular disposta na forma de escamas, distribuídas ao longo de toda a superfície, recobrendo inclusive os estômatos encontrados nessa face (Figura 9 C, D,E). A superfície abaxial apresenta uma cutícula mais compactada em relação à face oposta, como placas que recobrem toda a superfície assim como os estômatos paracíticos, observados em diferentes níveis de inserção ao longo desta epiderme. As células epidérmicas apresentam-se arredondadas, de contorno poligonal, de menor volume e de textura mais lisa quando comparadas às da face adaxial (Figura 9 F, G,H). Características xeromórficas, como redução da área foliar, aumento na distribuição de tricomas e estômatos, além do aumento da espessura da cutícula, são estratégias adaptativas comuns a espécies de Fabaceae (METCALFE e CHALK, 1950;

SMITH et al., 1997; FAHMY, 1997). A cutina e a cera são os principais componentes presentes na composição química do revestimento cuticular. A cera epicuticular pode ser depositada sob diferentes formas físicas, como camadas finas e amorfas, placas ou cristais de diferentes tamanhos e formas, conferindo a função de proteção contra as perdas excessivas de água, a ação de patógenos, as radiações solares e a entrada de produtos químicos e contaminantes (SCHÖNHERR, 2002; VIANA et al., 2010).

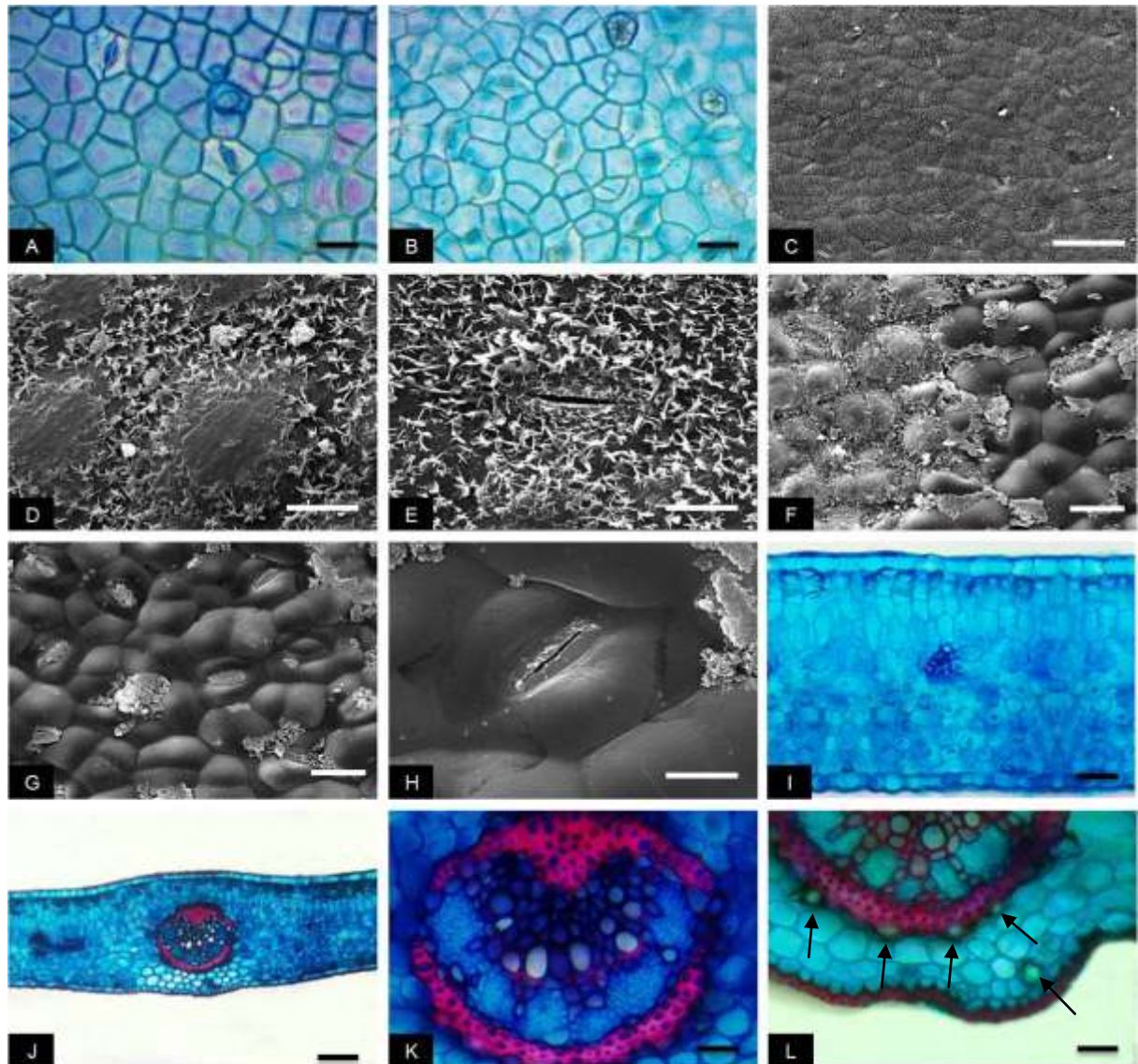
O mesofilo possui organização dorsiventral recoberto por cutícula em ambas as faces. Vista sob esse plano, a epiderme é constituída por uma única camada de células alongadas periclinamente, apresentando maior volume na face adaxial em relação à face abaxial. O parênquima paliçádico é constituído de células pouco alongadas no sentido anticlinal e relativamente estreitas, compostas de três a quatro camadas pouco definidas. O parênquima lacunoso é constituído de várias camadas de células irregulares, elípticas com relativos espaços intercelulares, no interior das quais é possível verificar a presença de algumas substâncias ergásticas de aspecto cristalino. É visível o acúmulo de cristais prismáticos translúcidos localizados nas regiões subepidermais ao longo de todo o mesofilo, possuindo maior incidência na epiderme adaxial. Também é possível verificar ao longo do mesofilo a inserção de feixes vasculares secundários em intervalos regulares de disposição. (Figura 9 I). De forma divergente, Silva et al. (2015) descrevem para os folíolos de *T. indica* parênquima paliçádico unisseriado, com espessura sempre maior que a do parênquima esponjoso. Segundo estes autores, os folíolos do tamarindeiro apresentam plasticidade anatômica em resposta às modificações no espectro da radiação, observando-se que as espécies cultivadas sob malhas fotoconversoras apresentam maior espessamento dos tecidos fotossintetizantes. Semelhantemente aos resultados encontrados neste estudo, Rodrigues et al. (2009) relatam em *Senna alata* (Caesalpinioideae) parênquima paliçádico voltado para a face adaxial do folíolo, apresentando predominantemente um estrato de células curtas, podendo, às vezes, apresentar dois estratos.

A nervura central apresenta secção plano a biconvexa, possuindo nervura central pouco proeminente, sendo as duas faces da epiderme recobertas por cutícula espessa e irregular (Figura 9 J). Inserido no parênquima fundamental,

encontra-se o feixe vascular colateral aberto em arco, com seis calotas floemáticas organizadas em disposição oposta ao lenho e fibras esclerenquimáticas circundando o feixe vascular, formando uma bainha perivascular quase contínua (Figura 9 K). De acordo com Metcalfe & Chalk (1950) os feixes vasculares das nervuras são usualmente acompanhados por esclerênquima em Caesalpinioideae. Segundo Moreira-Coneglian e Oliveira (2006), ao analisarem limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae), observaram em todas as espécies feixes vasculares do tipo colateral, com frequente presença de fibras ao redor dos feixes. Corroborando os resultados apresentados, Silva et al. (2015) ao analisarem a plasticidade anatômica foliar em *T. indica*, relatam feixes vasculares colaterais com presença marcante de fibras circundando o cilindro vascular.

Inclusões cristalinas prismáticas são visíveis nas proximidades do floema e da face abaxial da nervura (Figura 9 L). Segundo Metcalfe & Chalk (1950), a presença de grupos de cristais, especialmente no mesofilo, é um caráter utilizado para diferenciação entre as subfamílias de Leguminosae.

Figura 9 - Estruturas anatômicas e ultra-anatômicas de *Tamaridus indica* L.



A. face adaxial. **B.** face abaxial **C.** face adaxial (MEV). **D.** células epidérmicas adaxiais com cera epicuticular escamosa (MEV). **E.** estômato da superfície adaxial recoberto por cutícula (MEV). **F.** células epidérmicas abaxiais com placas de cera compacta (MEV). **G.** face abaxial (MEV). **H.** estômato da superfície abaxial (MEV). **I.** mesofilo dorsiventral. **J.** nervura central biconvexa. **K.** feixe vascular colateral aberto. **L.** região abaxial da nervura central com cristais (setas). Barras: **A, B, F, G, I, K, L:** 25 µm. **C, J:** 100 µm. **D, E, H:** 10 µm.

Quadro 2 – Resumo das principais características anatômicas e ultra-anatômicas observadas nas espécies analisadas.

ESPÉCIE	TRICOMAS		ESTÔMATO		CUTÍCULA		CÉLULAS EPIDÉRMICAS		NERVURA CENTRAL	FEIXES VASCULARES	COLÊNQUIMA	ESCLERÊNQUIMA
	face	tipo	face	tipo	face	tipo	adaxial	abaxial				
<i>Persea americana</i> Mill.	Adaxial/ Abaxial	Tector, simples uniseriado	Abaxial	Anomocítico	Adaxial/ Abaxial	Camada lisa/ Cera granulosa	Alongadas, sinuosas	Alongadas, poligonal	Plano convexa	Colateral fechado	Angular	-
<i>Spondias mombin</i> L.	Adaxial/ Abaxial	Tector simples uniseriado	Abaxial	Anomocítico	Adaxial/ Abaxial	Camada lisa/ Camada lisa	Alongadas, poligonais, pouco sinuosas	Curtas, poligonais pouco sinuosas	Biconvexa	Colateral fechado	Angular	Bainha perivascular
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Abaxial	Gladular pluricelular sésil	Abaxial	Paracítico	Adaxial/ Abaxial	Cera estriada/ Cera estriada	Espessas e sinuosas	Espessas e sinuosas	Plano convexa	Colateral fechado	Anelar	-
<i>Averrhoa carambola</i> L.	Adaxial/ Abaxial	Tector simples uniseriado	Abaxial	Paracítico	Adaxial/ Abaxial	Cera escamosa/ Cera escamosa	Sinuosas	Alongadas, pouco sinuosas	Plano convexa	Colateral fechado	Anelar	-
<i>Genipa americana</i> L.	Adaxial/ Abaxial	Tector pluricelular e glandular	Abaxial	Paracítico/ Anomocítico	Adaxial/ Abaxial	Cera tubular/ Cera tubular	Poligonais	Pouco sinuosas	Biconvexa	Concêntrico anficrival	Angular	-
<i>Citrus x aurantium</i> L.	-	-	Abaxial	Anomocítico	Adaxial/ Abaxial	Camada lisa/ Camada lisa	Poligonais	Pouco sinuosas	Biconvexa	Concêntrico anficrival	Angular	Bainha perivascular intermitente
<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jimenéz	-	-	Abaxial	Anomocítico	Adaxial/ Abaxial	Camada lisa/ Camada lisa	Poligonais	Pouco sinuosas	Biconvexa	Colateral fechado a concêntrico	Angular	Bainha perivascular intermitente
<i>Punica granatum</i> L.	-	-	Abaxial	Anomocítico/ Anisocítico	Adaxial/ Abaxial	Cera rugosa/ Camada Lisa	Alongadas e pouco sinuosas	Curtas, muito sinuosas	Côncavo a plano convexa	Colateral fechado (arco)	Anelar	-
<i>Tamarindus indica</i> L.	-	-	Abaxial/ adaxial	Paracítico/ Anisocítico	Adaxial/ Abaxial	Cera escamosa/ Cera em placas	Poligonais	Poligonais	Biconvexa	Colateral fechado (arco)	Lacunar	Bainha perivascular

5.2 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA

5.2.1 *Persea americana* Mill.

Os ensaios histoquímicos foram realizados comparando-se o controle (Figura 10 A, B) com as secções após reação. A partir das reações com lugol, é possível visualizar grãos de amido no interior de células parenquimáticas da nervura central (Figura 10 C). De forma semelhante, Maranhão e colaboradores (2009) identificaram que no parênquima axial da casca de *Persea major* Kopp (Lauraceae) observam-se em série e com grande acúmulo dos grãos de amido.

Ao reagir com as substâncias lipídicas presentes na cutícula, o Sudan III evidencia com uma coloração laranja intenso uma camada cuticular espessa recobrindo as células epidérmicas de ambas as faces (Figura 10 D). Mahmoud et al (2016) ao analisar folhas de abacateiro na região do Egito, também descreveram a presença de cutícula estriada, porém como uma fina camada que recobria a epiderme.

Na região da nervura mediana, as células epidérmicas são seguidas por colênquima angular. Essas células tornam-se esclerificadas em alguns materiais, com paredes que reagem fortemente ao teste para lignina, além dos feixes xilemáticos e fibras esclerenquimáticas perivasculares (Figura 10 E). Segundo Esau (1964), em partes mais velhas da planta, o colênquima pode endurecer suas paredes e transformar-se em esclerênquima pela deposição de paredes secundárias lignificadas.

A presença de polifenóis pode ser observada pela coloração castanha, conferida a partir da reação com o dicromato de potássio. Assim, é possível verificar que as células epidérmicas adaxiais que revestem o mesófilo armazenam este tipo de metabólito secundário em seu interior (Figura 10 F). Diferentes pesquisas têm caracterizado a presença de componentes fenólicos no abacateiro, atribuindo a atividade antioxidante do extrato hidroetanolólico à presença de flavonóides e derivados cinâmicos presentes (RODRÍGUEZ-CARPENA et al, 2011; KOSIŃSKA et al, 2012). Sabe-se que estes compostos bioativos possuem uma alta capacidade de diminuir o processo de degradação

do corpo humano pelos radicais livres devido à propriedade de impedir a formação destes compostos (HIDALGO et al., 2010).

O reagente de Nadi possui a propriedade de reagir com os óleos essenciais presentes nos tecidos vegetais. Nas secções submetidas a este reagente, verificou-se a presença destas substâncias armazenadas em idioblastos presentes no parênquima da nervura central, caracterizados pela coloração roxa e rósea (Figura 10 G).

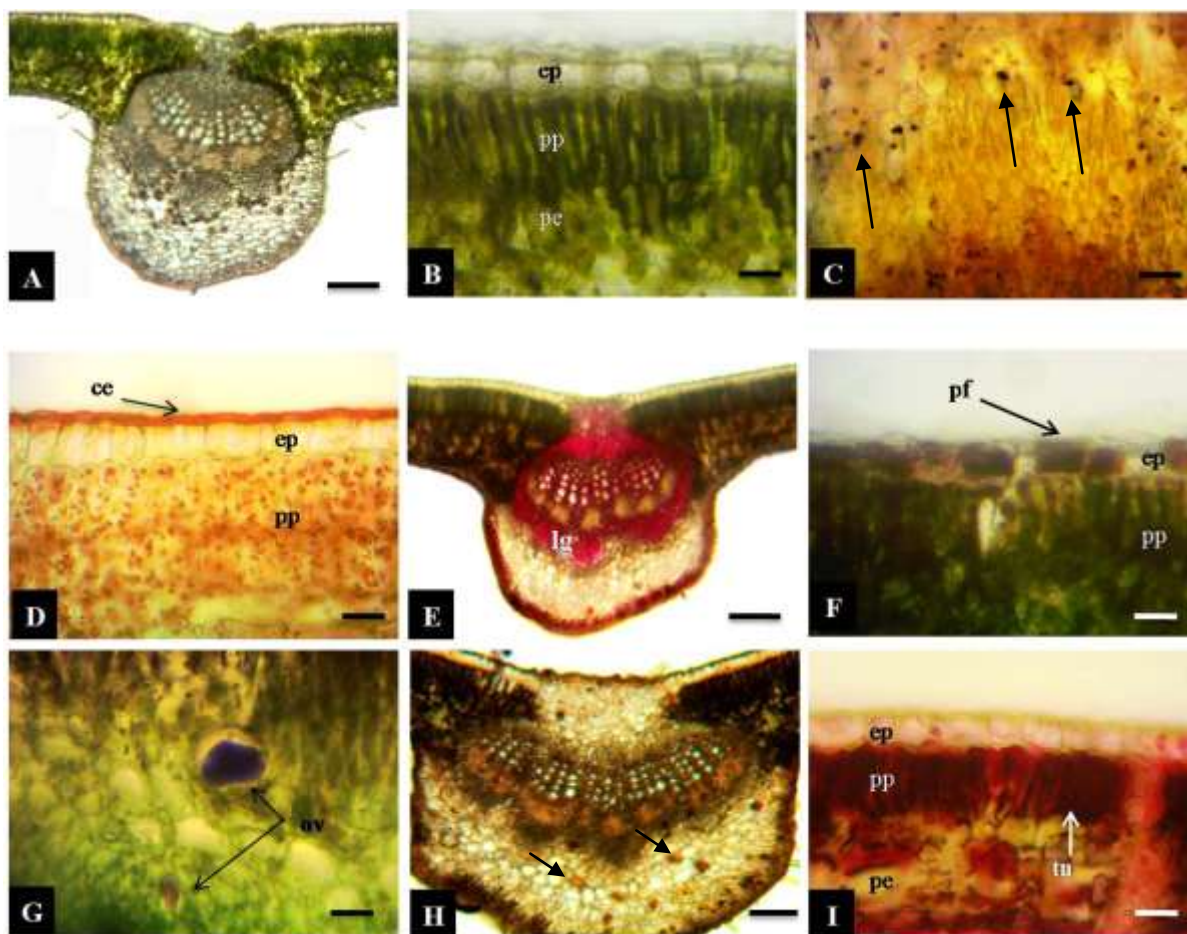
A ocorrência de células oleíferas são descritas por Platt e Thomson (1992) em todos os órgãos examinados de *Persea americana* (folha, fruto, raiz e sementes), dispersas em todos os tecidos. O reagente de Nadi pode ser utilizado como indicador dos componentes do óleo, baseando-se na cor da reação do produto. Assim a colorção rosa indica a presença de ácidos resinosos, azul, óleos essenciais e o violeta, uma mistura de ambos os compostos (DAVID e CARDE, 1964; ASCENSAO e PAIS, 1988; PEDRO et al. 1990; ANTUNES e SEVINATE-PINTO 1991). Estudos caracterizam o conteúdo desses idioblastos histoquimicamente, indicando a presença de óleos essenciais, esteróis, e terpenos, bem como alcaloides e fenóis (PLATT e THOMSON, 1992). Chia e Dykes (2010) estudaram os óleos essenciais do abacate e foram capazes de demonstrar a atividade antimicrobiana desta espécie.

Os esteroides presentes na lâmina foliar foram evidenciados com reação específica com tricloreto de antimônio, desenvolvendo uma coloração amarelo-acastanhado. Estes metabólitos encontram-se distribuídos aleatoriamente em idioblastos presentes no parênquima cortical da nervura central (Figura 10 H). Torres et al (2014), relatam a presença de esteroides insaturados presentes em *P. americana*, como um dos compostos quimicamente responsáveis pela atividade larvívora contra *Aedes aegypti*.

As proantocianidinas presentes na secção reagem com a vanilina clorídrica, apresentando coloração vermelha nestes metabólitos presentes no interior de células do parênquima paliçádico (Figura 10 I). Estudos realizados por Chai e colaboradores confirmam a presença de proantocianidinas nesta espécie e associam a estes compostos a inativação da enzima tirosinase.

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas encontradas, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Os cristais de oxalato de cálcio são distribuídos entre todos os níveis taxonômicos de organismos fotossintéticos, desde pequenas algas a angiospermas e gimnospermas gigantes. A acumulação de cristais por estes organismos pode ser substancial e possui como principais funções a alta capacidade de regulação de cálcio e proteção contra herbivoria (FRANCESCHI e NAKATA, 2005).

Figura 10 – Histolocalização de metabólitos em folhas de *Persea americana* Mill.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. Ensaio histoquímico: **C.** grânulos de amido no parênquima. **D.** cutícula recobrindo células epidérmicas. **E.** ligninas presentes nos feixes vasculares e células epidérmicas abaxiais da nervura central. **F.** polifenóis no interior de células epidérmicas. **G.** óleos voláteis em idioblastos no parênquima da nervura central. **H.** idioblastos contendo esteróides no córtex da nervura (setas). **I.** Proantocianidinas em células do parênquima paliçádico. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, pf. polifénóis, ov. óleos voláteis, tn. taninos. Barras: **A, E.** 100 µm. **B, C, D, F, G, H, I.** 25 µm.

5.2.2 *Spondias mombin* L.

As análises histoquímicas foram realizadas comparando-se o controle (Figura 11 A, B) com as secções após reação. Os ensaios revelam substâncias pertencentes ao metabolismo primário vegetal, como a presença de grãos de amido no interior das células parenquimáticas do mesofilo (Figura 11 C). Os grãos de amido são armazenados nos cloroplastos e são importantes a todas as plantas durante os períodos em que a fotossíntese não está ocorrendo, sendo depois da celulose, o componente mais abundante processado pela célula vegetal (METCALF e CHALK, 1950). Característica comum a algumas espécies desta família que, segundo Silva e colaboradores (2008), apresentam grãos de amido no tecido colenquimático e parenquimático do mesofilo.

Em ambas as faces da lâmina foliar, observou-se uma camada delgada de natureza lipídica, constituindo a camada cuticular protetora (Figura 11 D). Também é possível verificar a presença de ligninas nos feixes vasculares lenhosos e em toda extensão das fibras esclerenquimáticas perivasculares, tanto nos feixes vasculares centrais, quanto nos acessórios (Figura 11 E). Compostos graxos foram encontrados na cutícula, voltada para ambas às faces foliares, e a presença de lignina foi observada na região dos feixes vasculares e no esclerênquima da nervura central. Reis et al (2014) evidenciaram a presença de ligninas na parede das células xilemáticas em ensaios histoquímicos com *Anacardium occidentale*. Almeida (2013) também relata a presença de lignina nas fibras de xilema da nervura central e em fibras presentes no mesofilo em folíolos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Compostos graxos foram encontrados na cutícula, voltada para ambas às faces foliares, e a presença de lignina foi observada na região dos feixes vasculares e no esclerênquima da nervura central. Reis et al (2014) evidenciaram a presença de ligninas na parede das células xilemáticas em ensaios histoquímicos com *Anacardium occidentale*. Almeida (2013) também relata a presença de lignina nas fibras de xilema da nervura central e em fibras presentes no mesofilo em folíolos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Os testes histoquímicos revelaram compostos fenólicos contidos no parênquima paliçádico de toda a região do mesofilo foliolar, no interior de

algumas células da epiderme e no parênquima da nervura central (Figura 11 F), semelhantemente observado em espécies da mesma família, como em *Spondias tuberosa* Arruda e *Schinus terebinthifolius*, nos trabalhos realizados por Kuklinski (2000), Cunha (2005) e Almeida (2013).

Após reação com a vanilina clorídrica, é possível identificar a presença de proantocianidinas na região floemática e no interior de células paliçádicas, caracterizadas pela coloração vermelha característica (Figura 11 G). Ao analisar folhas de *S. mombim*, Corthout e colaboradores (1991) identificaram a presença de dois tipos de taninos, aos quais foi atribuída a atividade antiviral, efetivo contra dengue. Outros autores também corroboram os resultados encontrados neste estudo, constando a presença de taninos nesta espécie (ONWUKA, 1992; APORI et al., 19998; EDEOGA et al. 2001, AYOKA, 2006).

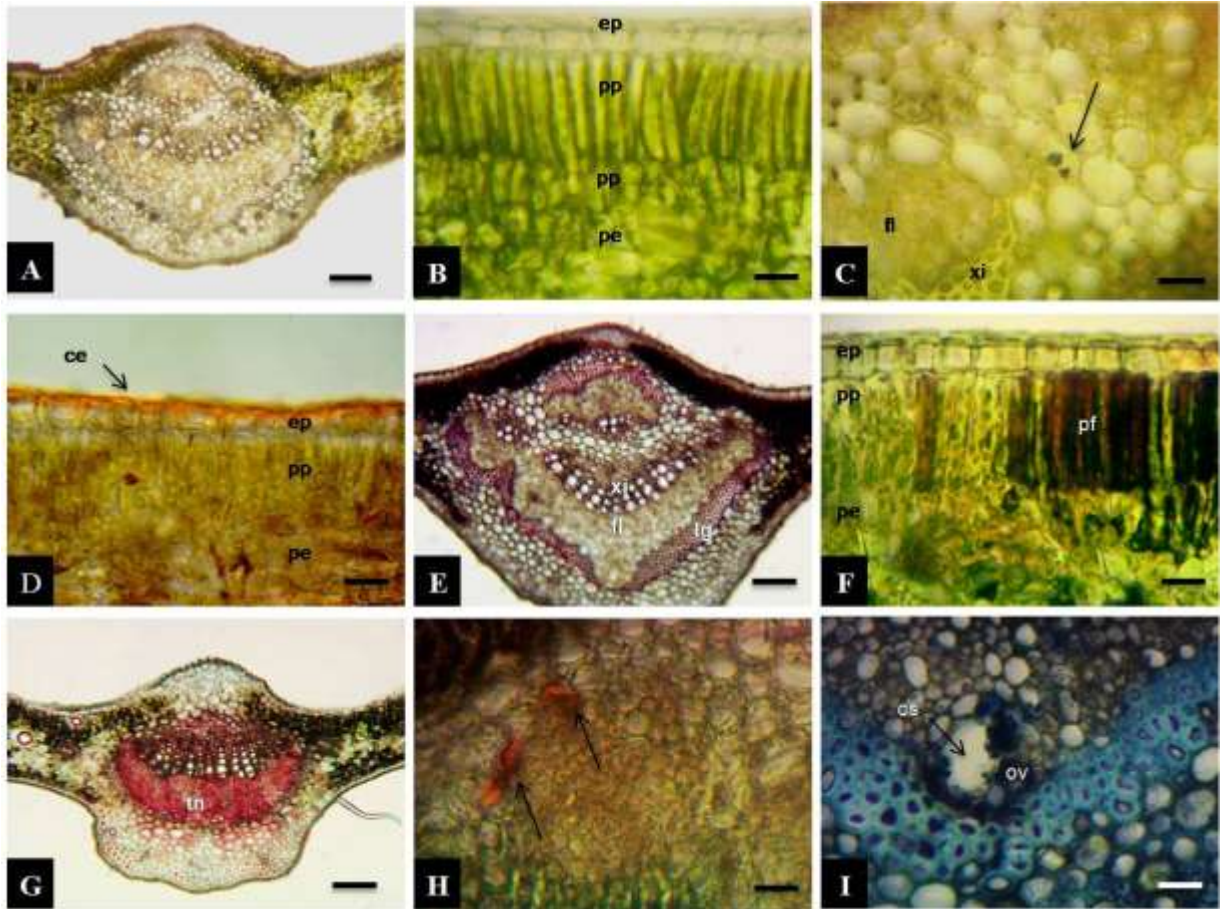
O tricloreto de antimônio permite a evidenciação de esteroides a partir da coloração resultante no produto da reação, caracterizado por uma coloração de amarelo-acastanhado. Estes metabólitos encontram-se na região floemática da nervura central, ou mesmo de feixes vasculares secundários (Figura 11 H). A presença destes metabólitos foi confirmada pelos estudos de Ogbonna et al. (2016) ao analisar folhas de *S. mombim*. Olugbuyiro e colaboradores (2013) isolaram e elucidaram estruturalmente fitoesteróis da casca do caule, indicando um alto poder inibitório sobre *Mycobacterium tuberculosis*.

Óleos voláteis foram evidenciados no interior de cavidades esquizógenas, presente no parênquima da nervura central (Figura 11 I). As reações com o reagente de NADI revelaram a presença de óleos essenciais nos canais secretores do parênquima da nervura central. A presença de óleos essenciais em espécies de Anacardiaceae foi relatada, com ênfase em suas propriedades antimicrobianas (ALMA et al., 2004). Ao realizarem estudos em folíolos de *S. mombim*, Moronkola et al. (2003) verificaram a presença de diferentes componentes na composição do óleo essencial, sendo o beta-cariofileno o composto majoritário. Resultados semelhantes foram descritos por Brito (2010), ao realizar a caracterização química dos óleos essenciais presentes nos folíolos dessa espécie.

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas encontradas, confirmando a composição química de

oxalato de cálcio desses cristais. A presença dessas inclusões, bem como a forma que assumem nos vegetais, podem auxiliar na caracterização de grupos taxonômicos, tornando-se relevantes na identificação de drogas vegetais (METCALF e CHALK, 1950). Mitchell e Daly (2015) reportam a presença de cristais em espécies do gênero *Spondias*. Além de depósito de cálcio, os idioblastos podem ser formados pelo acúmulo de substâncias não utilizáveis pela planta, defesa ou mesmo como suporte mecânico (CUTTER 1986, METCALFE e CHALK 1950). De acordo com Cronquist (1981) e Silva et al (2007, 2008), cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas podem ser observados no tecido xilemático, no clorênquima lacunoso e maior frequência na região de nervura principal, em folhas de *S. tuberosa*.

Figura 11 - Histolocalização de metabólitos presentes em folíolos de *Spondias mombim* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. Ensaio histoquímico: **C.** grãos de amido em células no mesofilo (setas). **D.** presença de cutícula recobrindo a superfície de células epidérmicas. **E.** presença de ligninas em feixes vasculares e fibras esclerenquimáticas. **F.** polifenóis em células parenquimáticas no mesofilo. **G.** presença de proantocianidinas no floema. **H.** esteroides localizados na região floemática (setas). **I.** presença de óleos voláteis no interior de cavidade esquizógena. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xl. xilema, fl. floema, pf. polifénóis, , tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **A,E,G.** 100 μ m. **B,C,D,F,H,I.** 25 μ m.

5.2.3 *Anacardium occidentale* L.

Os ensaios histoquímicos realizados tomaram como base a comparação entre o controle, secções da nervura central e mesofilo não submetidas às reações com os reagentes (Figura 12 A, B), e as secções após reação. Os testes revelaram a presença de grãos de amido na região floemática dos feixes vasculares (Figura 12 C). De forma semelhante, Reis et al. (2014), relataram a presença de amiloplastos em plântulas de *A. occidentale*, localizados no parênquima da nervura central, após reação com lugol. Estes metabólitos primários também foram localizados no tecido colenquimático e parenquimático do mesofilo de *S. tuberosa* (Silva et al., 2008).

Após reação com o Sudam III, evidenciou-se uma cutícula espessa, que recobre as células epidérmicas em ambas as faces, caracterizada por uma coloração laranja intensa (Figura 12 D). Reis e colaboradores (2014) descrevem o surgimento de cutícula espessa recobrindo a epiderme foliar a partir dos cinco dias após a germinação de *A. occidentale*. Embora essa característica não seja necessariamente um indício de adaptação xeromórfica (CUTLER et al., 2011), sabe-se que funciona como barreira à perda excessiva de água, evitando a dessecação (TAIZ, 2004). Cutículas espessas também foram observadas em outras espécies de Cerrado, como *Anemopaegma arvense*, *Zeyheria montana* e *Jacaranda decurrens* (Bignoniaceae) (MAURO et al., 2007), *Himatanthus obovatus* (Apocynaceae) (CARMO et al., 2005) e em *Richtera hartschbachii* (Asteraceae) (PINNA, 2004).

O floroglucionol resultou em uma coloração rósea de estruturas lignificadas, estando presentes na composição das paredes celulares dos vasos xilemáticos e nas fibras que circundam externamente o xilema e floema, constituindo uma bainha esclerenquimática (Figura 12 E). Segundo Metcalfe e Chalk (1950), a presença de calotas de fibras apostas ao floema é um atributo comum à Anacardiaceae. Ao analisar folhas de aroeira, Duarte e colaboradores (2009) descrevem a presença de sistema vascular circundado por bainha esclerenquimática incompleta.

Compostos fenólicos foram identificados no interior de células paliçádicas, caracterizados pela coloração castanha através de reação com o dicromato de

potássio (Figura 12 F). De acordo com os estudos realizados por Ojezele et al. (2013), é possível determinar um teor de 2 mg/g de compostos fenólicos presentes nas folhas de *A. occidentale*. Aguilar e colaboradores (2012) relatam a presença de flavonoides, taninos e cumarinas, no extrato etanólico das folhas desta espécie.

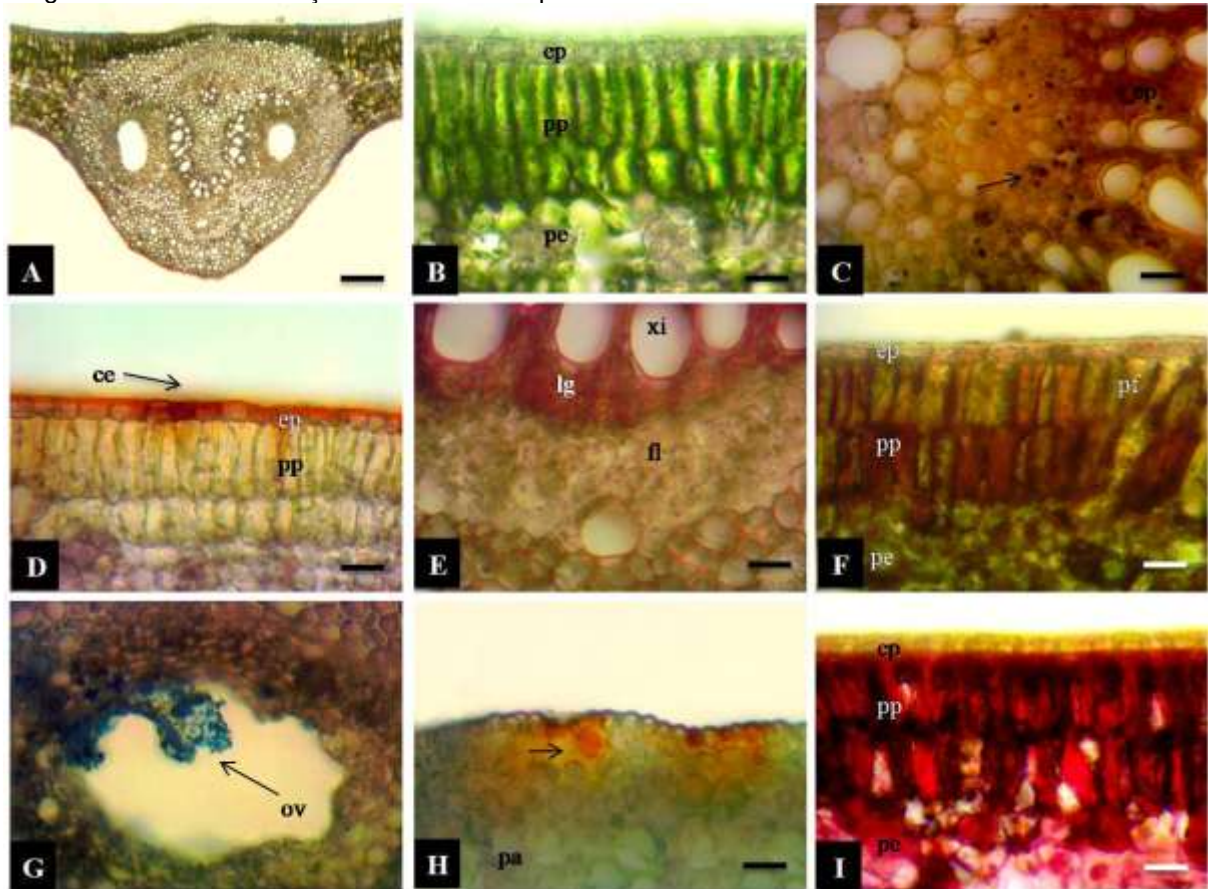
No interior dos canais secretores presentes nas proximidades do floema, é possível verificar a liberação de óleos voláteis após reação com o reagente de NADI, apresentando coloração característica azul (Figura 12 G). A presença de óleos essenciais em espécies de Anacardiaceae já foi relatada, com ênfase em suas propriedades antimicrobianas (ALMA et al., 2004). Santos et. al. (2006) identificaram a presença de óleos essenciais no lume de ductos secretores em caules de *Spondias dulcis*. Dzamic et al. (2009) e Janet e colaboradores (2016), ao analisarem o óleo essencial extraído das folhas desta espécie relatam na sua composição 65 substâncias diferentes, sendo constituídos majoritariamente por monoterpenos (62.6%) e sesquiterpenos (31.1%).

Os esteróides encontram-se presentes, no interior de células epidérmicas da nervura central e na proximidade dos feixes vasculares, apresentando coloração amarelo-acastanhado após reação com o tricloreto de antimônio (Figura 12 H). Em seu estudo sobre os efeitos funcionais da goma de cajueiro, sobre o sistema cardiovascular de ratos hipertensos, Silva (2006) relata a presença de fitoesteróis compondo a fitoquímica desta espécie. Aguilar et al. (2012) identificaram a presença de fitoesteróis no extrato etanólico das folhas, principalmente beta-sitosterol e estigmasterol. Estas substâncias são as mais abundantes entre as plantas aos quais são atribuídas propriedades hipocolesterolemiantes e antioxidante (MARTÍNEZ et al., 2011).

Após reação com a vanilina clorídrica, verifica-se a presença de proantocianidinas no interior de células do parênquima paliçádico e nas células que compõem o lúmen do canal secretor, caracterizadas pela coloração vermelha (Figura 12 I). Os resultados obtidos por Reis para plântulas desta espécie corroboram os resultados encontrados confirmando o acúmulo deste metabólito nestas estruturas anatômicas. Segundo Abulude et al. (2010), é possível identificar a presença de taninos em altas concentrações no extrato

aquoso das folhas. Ojezele e colaboradores (2013) conseguiram determinar um teor de 15,38 mg/g de taninos nas folhas de *A. occidentale*, sendo este o local de maior acúmulo deste metabólito pela planta.

Figura 12 - Histolocalização de metabólitos presentes em folíolos de *Anacardium occidentale* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. Ensaio histoquímico: **C.** grânulos de amido no floema (seta). **D.** cutícula recobrindo células epidérmicas. **E.** ligninas presentes nos feixes vasculares e bainha perivascular esclerenquimática. **F.** polifenóis no interior de células paliçádicas. **G.** óleos voláteis no interior de canal secretor esquizógeno. **H.** idioblastos contendo esteróides em células epidérmicas no córtex da nervura (seta). **I.** proantocianidinas em células do parênquima paliçádico. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xi. xilema, fl. floema, pf. polifénóis, , tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **A.** 100 µm. **B, C, D, E, F, G, H, I.** 25 µm.

5.2.4 *Averrhoa carambola* L.

As análises histoquímicas foram realizadas comparando-se as secções após reação com reagentes específicos, com o controle negativo, caracterizado pelas secções transversais da nervura central e mesofilo sem adição de reagentes (Figura 13 A, B). Após reação específica com o lugol, grãos de amido foram identificados no interior de células parenquimáticas, nas proximidades do floema e ao longo do mesofilo, no parênquima paliçádico (Figura 13 C). Os grãos de amido são armazenados nos cloroplastos, sendo depois da celulose, o componente mais abundante processado pela célula vegetal (HAMOND e BURTON 1983, HEWITT et al. 1985, SWINKELS 1985). De acordo com Guedes (2009), é possível observar grãos de amido na região do parênquima paliçádico em folíolos de *A. bilimbi*. Estudos realizados por Jorge et al. (2005) indicam a presença de amiloplastos contendo grãos com 5 µm de diâmetro no fruto *A. occidentale*.

Uma camada cuticular é encontrada revestindo as células epidérmicas de ambas as faces foliares, após reação com o sudam III (Figura 13 D). Essas substâncias estão presentes principalmente em plantas xeromórficas, pois possuem a capacidade de impermeabilizar as camadas das células epidérmicas, evitando assim a perda excessiva de água (TAIZ e ZEIGER, 2004).

A presença de ligninas nas paredes dos vasos xilemáticos é observada por coloração rósea intensa ao se submeter as secções ao floroglucinol (Figura 13 E). No processo final de diferenciação das células xilemáticas ocorre a deposição de lignina sobre a parede celular, que estabelece ligações covalentes e não covalentes com a matriz de carboidratos, formando um complexo com a parede secundária, conferindo rigidez para que estas estruturas, além de condução, auxiliem na sustentação do tecido (LAWOKO, 2005).

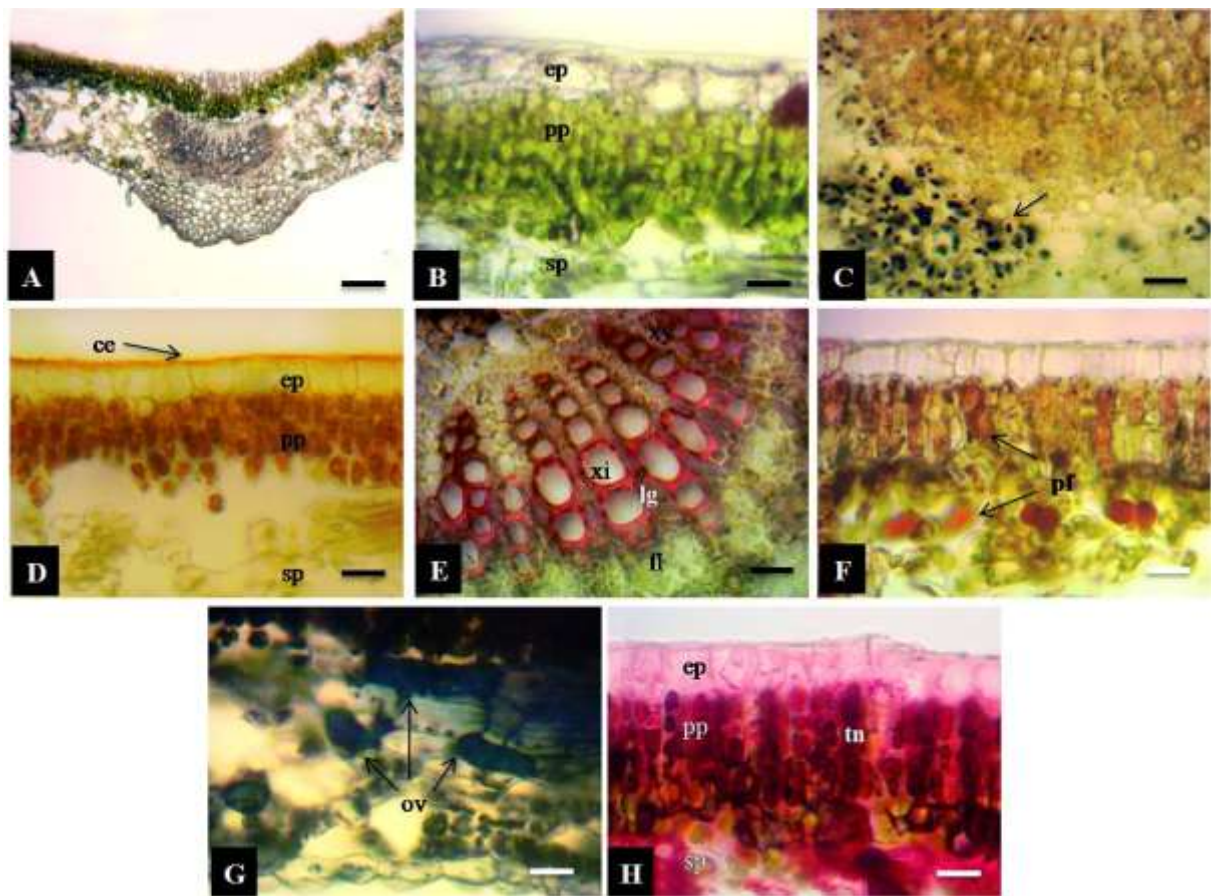
A partir da reação das secções com o dicromato de potássio, observa-se o armazenamento de compostos fenólicos no interior de idioblastos presentes no parênquima paliçádico e esponjoso (Figura 13 F). Análises fitoquímicas preliminares revelam a presença de flavonoides, taninos e antraquinonas em

diversas partes de *A. carambola* (RANGANAYAKI, 1980; THOMAS et al., 2004). Wei et al. (2014) descrevem um teor de 12,48 mg/g de polifenóis nas folhas desta espécie.

É possível observar a presença do acúmulo de óleos voláteis em idioblastos presentes no parênquima esponjoso do mesofilo, caracterizado por coloração azul após reação com o reagente de NADI (Figura 13 G). Em pesquisas realizadas por Alhassan e Ahmed (2016), relatam-se a presença deste grupo de metabólitos secundários nos frutos de *A. bilimbi*. Em 1985, Wilson et al. detectaram 41 componentes voláteis em frutos de carambola. Em 1990, MacLeod e Ames identificaram 178 componentes, seguido por Winterhalter and Schreier (1995) que complementaram esses estudos.

A vanilina clorídrica revela a presença de proantocianidinas nas células do parênquima paliçádico e do esponjoso, caracterizadas por coloração vermelha (Figura 13 H). A partir dos estudos realizados por Leong e Shui (2002), observa-se que frutos da carambola são ricos em antioxidantes, em particular proantocianidinas. Segundo Alhassan e Ahmed (2016), é possível detectar a presença de taninos em folhas de *A. bilimbi*. Não foi observada a presença de esteroides através da reação com cloreto de antimônio.

Figura 13 - Histolocalização de metabólitos presentes em folíolos de *Averrhoa carambola* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. Ensaios histoquímicos: **C.** grânulos de amido no parênquima. **D.** cutícula recobrindo células epidérmicas. **E.** ligninas presentes nos feixes vasculares. **F.** polifenóis no interior de células do parênquima clorofiliano. **G.** óleos voláteis no interior de idioblastos no parênquima esponjoso. **H.** proantocianidinas em células do parênquima paliçádico. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xi. xilema, fl. floema, pf. polifénóis, tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **A.** 100 µm. **B, C, D, E, F, G, H.** 25 µm.

5.2.5 *Genipa americana* L.

Os ensaios histoquímicos foram realizados comparando-se as secções após reação com os reagentes específicos com o controle negativo, secções transversais da nervura central e mesofilo sem tratamento com os reagentes (Figura 14 A, B). Os resultados obtidos revelam a presença de grânulos de amido presentes no mesofilo, tanto no parênquima paliádico quanto nas células da epiderme (Figura 14 C). Também é possível observar o intenso acúmulo de amiloplastos na região parenquimática medular, no centro do cilindro vascular. A presença destes grãos são uma característica comum a espécies desta família, encontrados em células parenquimáticas na região cortical das folhas de *Palicourea longepedunculata* (PEREIRA et al., 2003), da raiz de *Psychotria ipecacuanha* (GOMES et al. 2009) e do caule de *Carapichea ipecacuanha* (Silva et al. 2015). Erban and Duarte (2010) também relatam em *G. americana*, amiloplastos presentes tanto no limbo como no pecíolo, principalmente no parênquima fundamental, corroborando os resultados obtidos.

A partir da reação com o Sudam III, foi possível verificar a presença de uma camada cerosa epicuticular espessa, recobrindo ambas as faces do limbo. A cutícula apresenta-se como uma camada laranja (Figura 14 D). As diferenças nos padrões cuticulares podem ser taxonomicamente úteis em termos genéricos e mesmo entre espécies (METCALFE e CHALK 1979, CUTTER 1986).

Também é possível verificar a presença de ligninas nos feixes vasculares lenhosos, caracterizados pela coloração rósea conferida pelo floroglucinol (Figura 14 E). De acordo com Metcalf e Chalk (1979) é comum a presença de fibras esclerenquimáticas associadas ao sistema vascular em Rubiaceae, o que não foi visualizado para esta espécie. Ao invés disso, uma camada reforçada de colênquima é observada circundando a nervura, como descrito anteriormente. De acordo com Hopkins (1999), o processo de diferenciação das células do xilema resulta em uma intensa lignificação e na sua morte celular programada, conferindo a este tecido intensa rigidez. Assim

estas estruturas são extremamente importantes para a sustentação do vegetal, atuando no suporte e condução de água e outros fluídos na planta.

Após reação com o dicromato de potássio, é possível verificar a presença de compostos fenólicos, caracterizados pela coloração avermelhada, distribuídos por toda a região da lâmina foliar, majoritariamente nas células prismáticas que compõem o parênquima paliçádico e células epidérmicas da face adaxial (Figura 14F). A família é conhecida pela produção de diferentes metabólitos secundários, dentre eles alguns compostos fenólicos, como antraquinonas, taninos e derivados fenólicos (VALLI et al., 2016). As análises histoquímicas revelam compostos fenólicos intensamente visíveis ao longo do parênquima paliçádico, sendo observado também nas células epidérmicas adaxiais de forma menos intensa. Estudos também relatam a presença de compostos fenólicos em diferentes espécies da família Rubiaceae, como em *Cruciata taurica* (MAVI et al., 2004), *Randia hebecarpa* (NAZARI et al., 2006), *Uncaria tomentosa* (PILARSKI et al., 2006), *Chomelia obtusa* (BARROS et al., 2008), *Palicourea rigida* (ROSA et al., 2010) e em *Genipa americana* (PORTO et al., 2014).

Os óleos voláteis presentes nas folhas do jenipapeiro foram evidenciados pela reação com o reagente de NADI, apresentando maior incidência de distribuição na face abaxial, sendo encontrados na forma de grânulos com sítio de armazenamento nas células epidérmicas e subsidiárias (Figura 14 G). A maioria dos estudos realizados referente a óleos essenciais nesta espécie limitam-se apenas aos frutos. Alguns ensaios descritos na literatura indicam que estes metabólitos são compostos majoritariamente por ácidos carboxílicos, ésteres e álcoois (BORGES e REZENDE, 2000; PINO et al., 2005; PINTO et al., 2006).

A presença de iridoides foi confirmada a partir da reação com a vanilina sulfúrica, apresentando coloração avermelhada, determinando o sítio de acúmulo destas substâncias nas células liberianas e em algumas células do parênquima paliçádico próximas do floema (Figura 14 H). Os iridoides estão presentes em grande parte das espécies de Rubiaceae, utilizados historicamente devido a suas capacidades tinturiais, constituindo-se um importante marcador químico e farmacológico em *G. americana* (ALVES,

2015). Segundo as análises realizadas com as folhas desta espécie, observou-se o sítio de acúmulo destas substâncias, estando armazenados nas células floemáticas e em algumas células do parênquima paliçádico próximas destes vasos. Ono e colaboradores (2005; 2007) identificaram estruturalmente oito iridoides glicosídicos em *Genipa americana*, podendo também ser encontrados em diferentes espécies de Rubiaceae, como em *Eucommia ulmoides* (HIRATA et al., 2011; NAM et al., 2013), *Gardenia jasminoides* (ZHANG et al., 2013), *Castilleja tenuiflora* (CARRILO-OCAMPO et al., 2013) e *Bellardia trixago* (VENDITTI et al., 2013). É importante salientar que a cor azul presente nos frutos de *G. americana*, antes da maturação completa, corre devido à presença de iridoides presentes na espécie (PORTO et al., 2014).

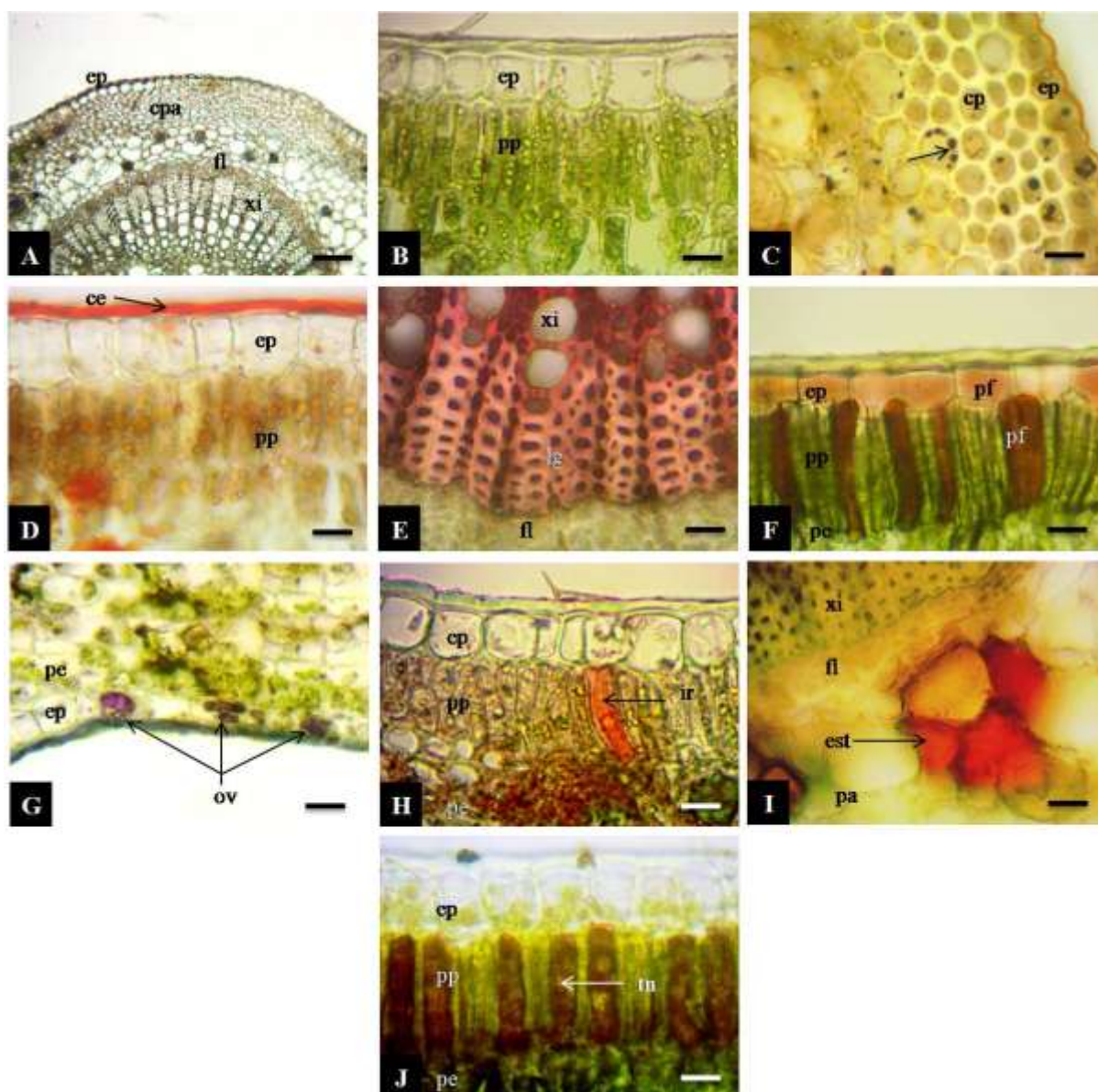
É possível observar a presença dos esteroides, em idioblastos localizados nas regiões perivasculares, próximos ao floema, ao longo de toda a nervura central, apresentando coloração característica laranja, após reação com o tricloreto de antimônio (Figura 14 I). Os fitoesteroides são um grupo de esteróis naturalmente encontrados nas plantas, presentes em pequenas quantidades nos óleos vegetais, apresentando um importante papel no controle de dislipidemias (ABUMWEIS, 2008). Eles podem ser encontrados em níveis elevados nas sementes e polpas dos frutos de jenipapo (BAILÃO et al., 2015). São escassos os trabalhos que apontam a presença desses metabólitos nas folhas. Os ensaios realizados neste trabalho revelaram que, nas folhas, estas substâncias são estocadas em idioblastos localizados nas regiões perivasculares, próximos ao floema, ao longo de toda a nervura central. Análises realizadas em frutos de *Genipa americana*, identificou a presença de diferentes fitoesteroides como ergosta-4,6,22-trieno, 4,4-dimetil-colesta-6,22,24-trieno, β -sitosterol, tremulona, campesterol e estigmasterol (Barbosa, 2008). Conceição et al. (2011) relatam que a presença de esteroides em extratos de *G. americana*, estando relacionados com atividade anticâncer.

A presença de proantocianidinas foi caracterizada pela coloração vermelha pouco intensa. O acúmulo destas substâncias foi verificado em algumas células do parênquima paliçádico, após reação com vanilina sulfúrica (Figura 14 J). As antocianinas são pigmentos responsáveis pela coloração de flores, frutos, folhas, caules e raízes de plantas, originados a partir da

degradação das proantocianidinas, ou taninos condensados, durante o processo de maturação. Devido sua solubilidade em água, estes compostos ocorrem nos tecidos de plantas dissolvidas no fluido da célula vegetal, que geralmente apresenta pH levemente ácido (GEISSMAN, 1963). De acordo com os doseamentos realizados por Porto e colaboradores (2014), verifica-se um baixo acúmulo destas substâncias nesta espécie, corroborando os resultados histoquímicos descritos para as folhas analisadas neste trabalho.

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Além de depósito de cálcio, os idioblastos podem ser formados pelo acúmulo de substâncias não utilizáveis pela planta, defesa ou mesmo como suporte mecânico, responsáveis pelo balanço iônico e estoque de cálcio (FRANCESCHI e HORNER, 1980; CUTTER, 1986; METCALFE e CHALK, 1979).

Figura 14 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de *Genipa americana* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesófilo. **C.** grãos de amido em células de parenquima. **D.** cutícula em células epidérmicas. **E.** presença de ligninas em xilema. **F.** polifenóis presentes em células epidérmicas e parenquima paliçádico. **G.** óleos voláteis no interior de células epidérmicas abaxiais. **H.** iridóides em células do parenquima paliçádico. **I.** Esteróides em idioblastos na nervura central. **J.** Proantocianidinas em células do parenquima paliçádico. ep: epiderme, cpa: córtex parenquimático, pp: parênquima paliçádico, pe: parênquima esponjoso, xi: xilema, fl: floema, ce: cera epicuticular, ir: iridóides, lg: lignina, tn: taninos, pf: polifenóis, est: esteróides, ov: óleos voláteis. Barras: **A.** 100 μ m. **B,C,D,E,F,G,H,I,J.** 25 μ m.

5.2.6 *Citrus x aurantium* L.

Os ensaios histoquímicos foram realizados comparando-se as secções coradas com o controle negativo (Figura 15 A, B). A partir de reação com lugol foi possível verificar, ainda que de forma discreta, a presença de grãos de amido, contidos em idioblastos na região parenquimática, e na região floemática dos feixes vasculares (Figura 15 C). De acordo com Folimonova e Achor (2010), a presença de grãos de amido é comumente observada em elementos crivados. Porém, Etxeberria e Narciso (2012), consideram o acúmulo de amido na região de floema, como um indício de uma patologia comum às plantas cítricas causada por um fastidioso Gram-negativo, parasita obrigatório, limitado ao floema *Candidatus Liberibacter* ssp. (BOVE, 2006). Analisando histoquimicamente espécies de *Citrus*, Oliveira et al. (2014) descrevem a presença desses grãos nas células que circundam a cavidade secretora.

As análises realizadas com Sudam III evidenciam a presença de uma cutícula espessa, recobrindo ambas as faces da superfície epidérmica, evidenciada na cor laranja (Figura 15 D). Metcalfe e Chalk (1979) e Olowokudejo (1990) afirmam que a análise cuticular pode servir como uma ferramenta útil na caracterização sistemática e diferenciação de Angiospermas.

A reação com floroglucinol evidencia em róseo intensa presença de ligninas nas paredes dos vasos de xilema, além de estarem nas fibras esclerenquimáticas perivasculares (Figura 15 E). De acordo com Myburg e Sederoff (2001), a natureza tridimensional do polímero de lignina fornece rigidez e resistência à força de compressão na parede celular, enquanto que a estabilidade química da lignina proporciona proteção contra agentes patogênicos. Etxeberria e Narciso (2012), também observaram a presença de lignificação nas paredes xilemáticas e em fibras associadas aos feixes vasculares de *Citrus sinensis* L. Osbeck.

Com o dicromato de potássio, a presença de compostos fenólicos é observada a partir de uma reação cromogênica na cor castanho. Observam-se idioblastos contendo estes metabólitos em células presentes no parênquima da nervura central e em algumas células da face adaxial da epiderme, de forma

aleatória e isolada (Figura 15 F). De acordo com Suryawanshi (2012), esta espécie apresenta em sua constituição taninos e flavonoides. Em estudos realizados por Karimi et al. (2012) a fim de realizar a caracterização de compostos fenólicos em *Citrus aurantium* bloom, foi possível verificar a presença de ácido gálico, pyrogallol, ácido sirínico, ácido cafeico, rutina, quercetina e naringina.

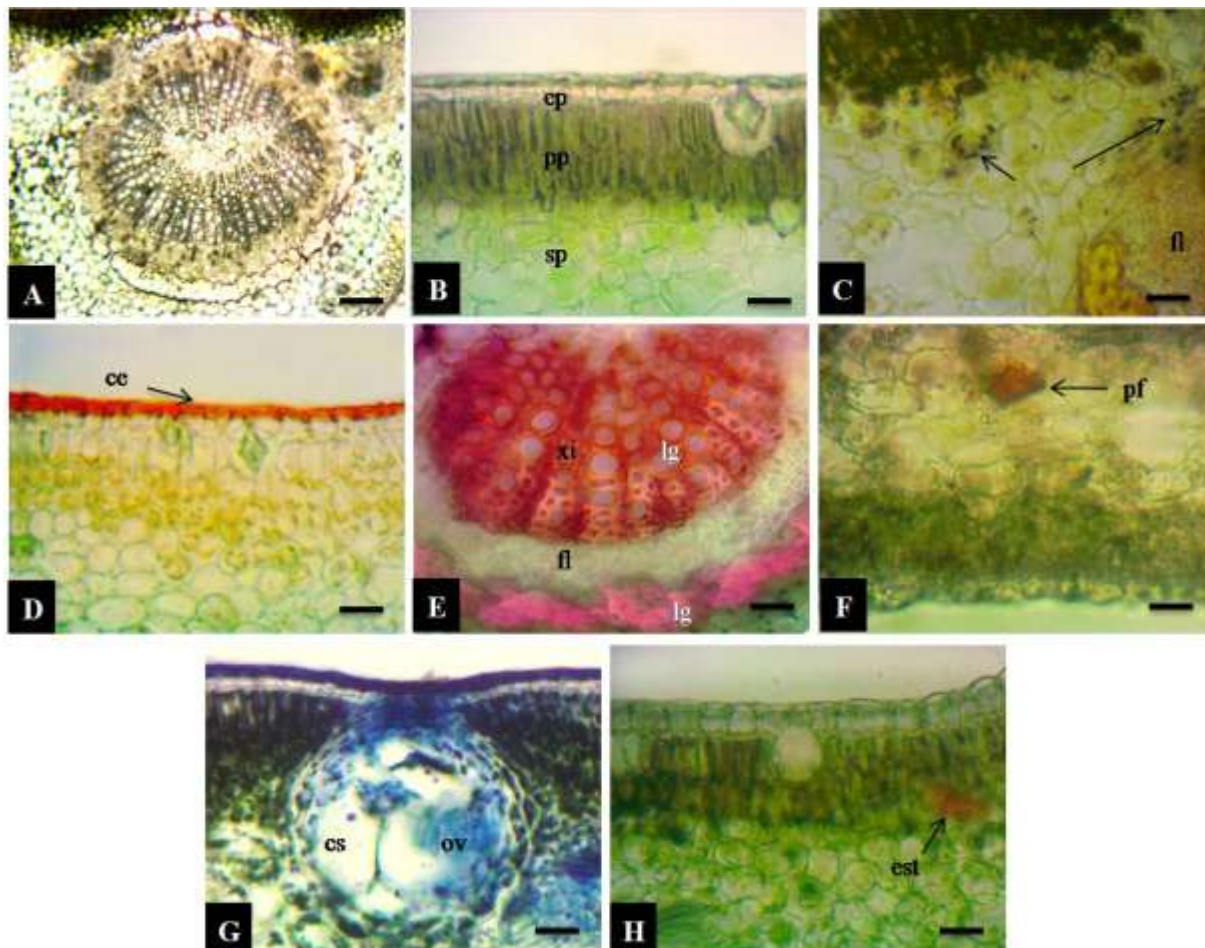
Com o reagente de NADI é possível identificar que os óleos essenciais, corados em azul, estão presentes nas cavidades secretoras esquizolisígenas associadas à epiderme (Figura 16 G). Estudos realizados por Periyannayagam et al. (2013) relatam a presença de óleos voláteis nas folhas de *C. aurantium*. Análises realizadas por cromatografia gasosa permitiram a identificação de 35 componentes no óleo essencial das folhas, sendo o eucaliptol o componente majoritário. Abderrezak et al (2014), ao realizar a análise comparativa da composição do óleo volátil entre as folhas e a casca do fruto de *Citrus aurantium* L. var *amara*, observou como componente majoritário o linalool. Bendaha et al. (2016) descrevem a presença de óleos essenciais na casca do fruto de *C. aurantium*, ressaltando a sua importância devido à diversas propriedades medicinais que apresenta.

Após adição de tricloreto de antimônio às secções em análise, é possível observar a formação de uma coloração amarelo-acastanhado, característica da presença de esteroides. Estes se encontram de forma isolada na epiderme foliar e no mesofilo, em regiões próximas às células epidérmicas (Figura 16 H). Periyannayagam e colaboradores (2013) ao realizarem uma análise fitoquímica preliminar reportam a presença de fitoesteróis nas folhas de *C. aurantium*. Vijayalakshmi e Radha (2015) relacionam a presença de β -sitosterol, campesterol, daucosterol e estigmasterol como fitoesteroides presentes em *Citrus maxima*.

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Lopes et al. (2013) relatam intensa presença de cristais prismáticos em *Citrus limettoides*. A presença de cristais de oxalato de cálcio (CaOx) em quantidades significativas, observado em famílias de plantas

superiores, demonstra que a formação destas inclusões é um importante processo fisiológico em muitas espécies Costa (2009).

Figura 15 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de *Citrus x aurantium* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. **C.** grãos de amido em células de parênquima e floema (setas). **D.** cutícula espessa sobre células epidérmicas. **E.** presença de ligninas em xilema e fibras perivasculares. **F.** polifenóis presentes em idioblasto no parênquima esponjoso. **G.** óleos voláteis no interior de canais secretores associados à epiderme. **H.** esteroides em idioblastos no parênquima paliçádico. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xi. xilema, fl. floema, pf. polifénois, , tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **A.** 100 µm. **B,C,D,E,F,G,H.** 25 µm.

5.2.7 *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez

Os testes histoquímicos foram realizadas comparando-se o controle (Figura 16 A,B) com as secções após reação. A partir das reações com Sudam III, é possível observar uma espessa camada epicuticular, recobrimdo ambas as faces da epiderme, evidenciada pela coloração laranja (Figura 10 C). Corroborando os resultados apresentados, Oliveira et al. (2014) relatam células epidérmicas com paredes espessadas em toda a extensão, revestidas por cutícula espessa e lisa, presentes em folhas de *Citrus aurantium*, *Citrus limon* e *Citrus aurantifolia*. De forma diversa, Matias et al. (2010) e Bercu (2016) descrevem o um padrão cuticular diferente em frutos de *Citrus reticulata* Blanco, *Citrus* × *sinensis* Osbeck e *Citrus maragarita* Lour, onde as células epidérmicas do flavedo são revestidas por uma cutícula espessa, que em algumas partes adentra as paredes anticlinais da epiderme.

A observação das estruturas lignificadas é possível a partir da reação com o floroglucinol, onde a positividade é caracterizada por coloração rósea, presente nas paredes das células que compõem os feixes de xilema e fibras perivasculares (Figura 10 D). A lignina é um complexo polímero tridimensional com ligações cruzadas de monômeros aromáticos fenólicos, chamado alcoóis cinamílicos. Estes monómeros são depositados na parede da célula através devesículas endoplasmáticas derivadas do complexo de Golgi e polimerizados em lignina através de enzimas ligadas à parede. A natureza aromática dos monómeros de lenhina faz da lignina um composto hidrofóbico de alta rigidez, facilitando o transpote de líquidos e contribuindo na sustentação tecidual (MYBURG e SEDEROFF, 2001).

Com o reagente dicromato de potássio, foi possível verificar a presença de polifenóis nas regiões floemáticas dos feixes vasculares, visualizados com coloração castanha após reação (Figura 10 E). Racowski et al. (2017) reportam a presença de flavonoides na casca do fruto de *C. latifolia*. Li et al. (2006) confirmam a presença de compostos fenólicos em espécies de *Citrus*, atribuindo a estes compostos uma alta capacidade antioxidante.

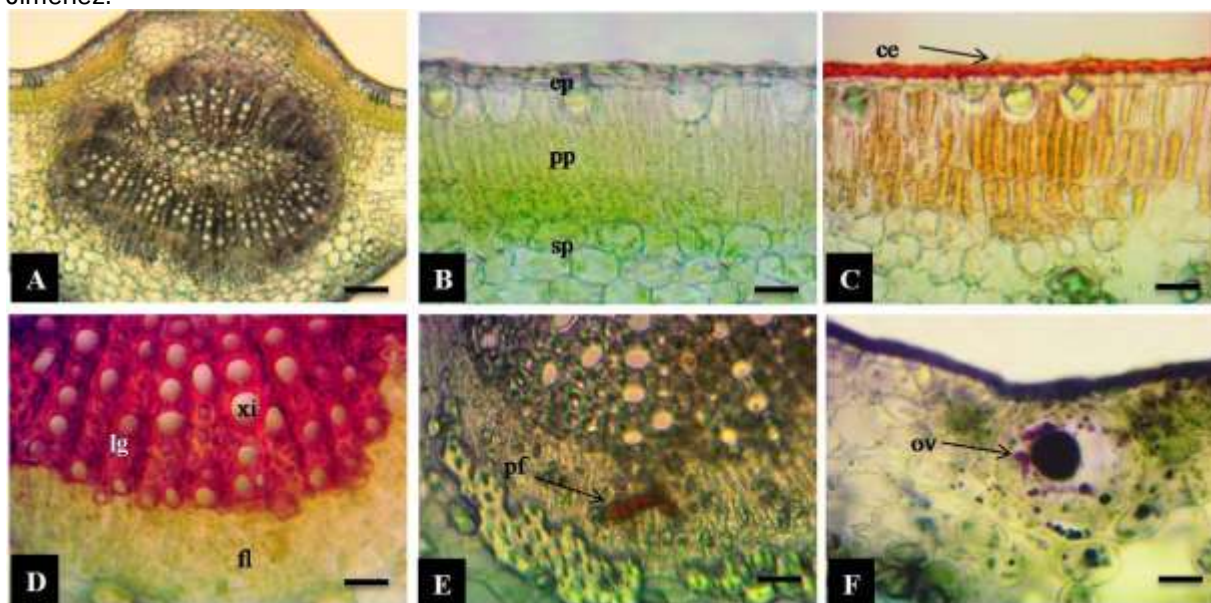
O reagente de NADI torna os óleos voláteis presentes visíveis devido a coloração azul que lhes confere. Estes metabólitos foram observados ao longo

do mesofilo, em câmaras subepidérmicas, e predominantemente nos canais secretores esquizógenos associados à epiderme, podendo haver um acúmulo mais pronunciado em algumas destas estruturas (Figura 10 F). A presença de cavidades secretoras é uma característica comum às espécies da família Rutaceae (METCALF e CHALK, 1979). A maioria dos estudos relacionados a óleos essenciais em espécies de *Citrus* está voltada aos óleos encontrados na casca do fruto, porém, diversos autores têm reportado a presença de cavidades secretoras em caule, pecíolo e lâmina foliar destas espécies (OLIVEIRA et al., 2014; INYAMA et al., 2015; OSUOHA et al., 2015; BERCU, 2016). Em pesquisas realizadas por Kamal et al. (2011), utilizando cromatografia gasosa, a análise dos óleos voláteis em *C. reticulata*, *C. sinensis* e *C. paradisi* identificou entre 16 e 40 substâncias diferentes, apontando o limoneno como o componente majoritário. Os Óleos essenciais de *Citrus* têm sido muito procurados devido à suas propriedades antioxidante e antimicrobianas (TEPE et al., 2005; JAYAPRAKASHA et al., 2007; VIUDA-MARTOS et al, 2008).

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Os cristais de oxalato de cálcio são formados nas plantas a partir de ácido oxálico sintetizado endogenamente e cálcio da solução do solo em contato com as raízes das plantas, tratando-se de um processo fisiológico na regulação do cálcio intra e extra celular (FRANCESCHI e NAKATA, 2005).

As reações para histolocalização de amido, esteróides e proantocianidinas apresentaram-se negativas nas condições de experimentação realizadas.

Figura 16 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. **C.** cutícula espessa sobre células epidérmicas. **D.** presença de ligninas em xilema. **E.** polifenóis presentes em idioblasto na região de floema (seta). **F.** óleos voláteis no interior de canais secretores associados à epiderme. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xi. xilema, fl. floema, pf. polifénois, , tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **A.** 100 μm . **B,C,D,E,F.** 25 μm .

5.2.8 *Punica granatum* L.

As análises histoquímicas foram realizadas comparando-se as secções coradas com o controle (Figura 17 A, B). No parênquima periférico da nervura central, foi observada a presença de grãos esféricos, aglomerados e enegrecidos, caracterizando amido através da reação com lugol (Figura 17 C). A partir da investigação farmacognóstica realizada por Prabha et al (2013) em folhas de *P. granatum*, observou-se a presença de grãos de amido na análise do pó da droga vegetal. A presença de grãos de amido é comum na família Lythraceae, como observado por Little e Stockey em folhas de *Decodon allenbyensis*.

Revestindo ambas as faces da epiderme, é possível observar uma camada lipídica espessa de cutícula, que se mostra tanto plicada como reta nas diferentes regiões da epiderme foliar, corada de laranja após reação com Sudam III (Figura 17 D). A cutícula espessa é uma adaptação xeromórfica comum utilizada pela planta para retardar a transpiração cuticular. A cutícula da folha consiste principalmente de cutina e cera sobre uma camada de microfibrilas de celulose (TIPTON e WHITE, 1995). De forma semelhante, Zago et al. (2010), reportam a presença de camada cuticular espessa, plicada, em toda a extensão foliar de *Cuphea glutinosa* Cham. & Schltdl. (Lythraceae). Segundo Dickson (2000), a ornamentação cuticular revela-se como um importante caráter taxonômico.

Nas paredes dos vasos xilemáticos é possível verificar o acúmulo de ligninas, observado pela positividade na cor rósea (Figura 17 E). A lignina presente nas paredes secundárias do xilema, que confere resistência a estas estruturas, são polifenóis que resultam da polimerização de monômeros de álcool coumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico. A partir do ensaio pelo método de Wiesner, obtem-se um cromóforo róseo em meio clorídrico, baseando-se no fato do floroglucinol reagir com o ácido coniferílico (FIGUEIREDO et al., 2007). A presença destes metabólitos também foi observada por Lusa et al. (2011) nas paredes dos vasos xilemáticos em folhas de *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.f. Macbr. (Lythraceae).

No mesofilo, é possível observar o acúmulo de substâncias ergásticas na cor castanha. Esse tipo de coloração ocorre devido à reação com o dicromato de potássio, caracterizando a presença de polifenóis em células do parênquima paliçádico e do esponjoso (Figura 17 F). Dentre os diversos compostos fenólicos presentes nas folhas da romãzeira, pode-se destacar a presença de diferentes elagitaninos, ácido púnicico, antocianidinas, flavonoides e derivados cinâmicos, estando relacionados a importantes atividades farmacológicas (SEERAM et al., 2006; JURENKA, 2008).

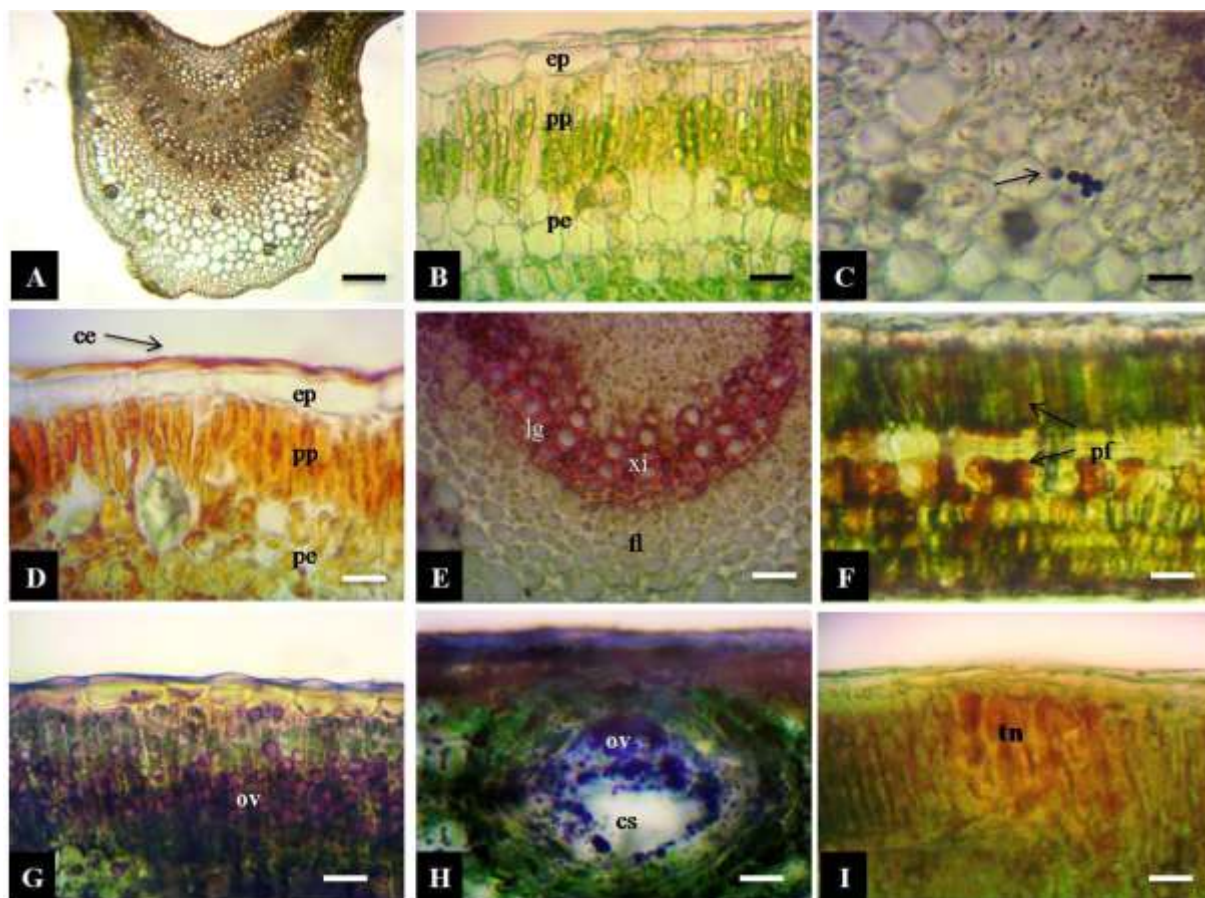
Os óleos essenciais desta espécie estão presentes ao longo do mesofilo, nas células epidérmicas e do parênquima clorofiliano, porém, de forma mais intensa, nas células do parênquima paliçádico nas proximidades da nervura central, na forma de numerosos grânulos de cor roxa. Em alguns trechos é possível identificar a presença destes grânulos em canais secretores esquizógenos associados à epiderme, alguns deles com acúmulo de cristais prismáticos (Figura 17 F, G). Nas reações histoquímicas em que o produto apresenta uma coloração que vai de violeta a púrpura, ocorre a presença de misturas de óleos essenciais e ácidos resínicos (FIGUEIREDO et al., 2007). Escassos estudos apontam a presença destes compostos na folha, assim como é rara a descrição de cavidades secretórias deste tipo no mesofilo. A pesquisas encontradas restringem-se aos compostos voláteis do fruto. Rajaei e Yazdanpanah (2014) relatam a existência de grânulos de compostos fenólicos nas células de parênquima nas folhas desta espécie, divergindo dos resultados apresentados quanto à natureza química destas inclusões. Bakkour et al. (2011), ao analisarem o óleo essencial das sementes, descrevem o farnesano como composto majoritário. Segundo Melo et al. (2016), o óleo essencial das sementes da romã tem atraído grande interesse farmacológico devido à abundância de ácido púnicico.

É possível observar a presença de proantocianidinas caracterizada pela produção de cor vermelha, após reação com vanilina clorídrica. Observa-se este metabólito de forma isolada e com baixa distribuição no parênquima paliçádico da folha (Figura 17 I). Não se observaram registros literários da presença de proantocianidinas nas folhas desta espécie. Para Zam et al. (2012), é possível realizar a extração e purificação de proantocianidinas da

casca dos frutos. Segundo Rahimi et al. (2012), proantocianidinas B1 e B2 podem ser identificadas no suco dos frutos. De acordo com Schmuck et al. (2015), estas substâncias apresentam alto interesse devido ao seu potencial antimicrobiano, na utilização de profilaxia periodôntica.

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Segundo Lersten e. Horner (2005), cristais de oxalato de cálcio têm sido descritos de maneira superficial. Segundo estes autores, cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas e cristais prismáticos podem ser observados nas folhas de *P. granatum*, havendo mudanças nesse padrão de acordo com a idade foliar.

Figura 17 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de *Punica granatum* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. **C.** grãos de amido em células de parênquima na nervura central (seta) **D.** camada cuticular em células epidérmicas. **E.** presença de ligninas em xilema. **F.** polifenóis presentes em células no parênquima paliçádico e esponjoso. **G.** óleos voláteis no interior de células paliçádicas. **H.** óleos voláteis no interior de cavidade esquizógena. **I.** proantocianidinas em células do parênquima paliçádico. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xl. xilema, fl. floema, pf. polifénois, , tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **A.** 100 µm. **B, C, D, E, F, G, H, I.** 25 µm.

5.2.9 *Tamarindus indica* L.

Os ensaios histoquímicos foram realizados comparando-se as secções coradas com o controle negativo (Figura 18 A,B). A partir das análises realizadas observaram-se escassos grãos de amido localizados em células epidérmicas e ao longo do mesofilo (Fig. 18 C). Kodlady e colaboradores relatam a presença de grãos de amido simples com *hilum* de raios corticais e medulares em folíolos de *T. indica*. Para Kaur e Bhullar (2016), as folhas do tamarindeiro possuem um grande potencial como fonte não convencional de amido e as suas propriedades desejáveis podem ser melhoradas pela oxidação para aplicações na indústria de alimentos. Moreira-Coneglian et al. (2006) relatam positividade ao teste de lugol no parênquima vascular de *Copaifera langsdorffii*.

As reações com o Sudam III revelaram a presença de cutícula revestindo ambas as faces da epiderme, apresentando-se mais espessa na face abaxial (Figura 18 D). A cutícula mais espessa confere às espécies xerófitas maior economia de água, reduzindo a perda por evapotranspiração, estimulada pela intensa incidência de luminosidade solar no ambiente (FAHMY, 1997; CORRÊA, 2007; BOEGER et al., 2008). Além disso, a cutícula também confere maior proteção às plantas contra infecções por agentes patogênicos (CUTTER, 1986). Silva (2012), em seu estudo sobre atributos morfoanatômicos foliares funcionais de plantas em áreas do Agreste pernambucano, observou o espessamento da cutícula nas espécies analisadas. Nassar et al. (2013) relatam uma fina camada cuticular recobrimdo a epiderme de *Senna occidentalis* (Caesalpiniaceae).

As estruturas lignificadas foram evidenciadas por reação com o floroglucinol em róseo, estando presentes nas paredes celulares do xilema e nas fibras esclerenquimáticas perivasculares presentes na nervura central (Figura 18 E).

A lignina é um polímero fenólico complexo sintetizado principalmente a partir de três monômeros, chamados álcoois p-coumaril, coniferil e sinapil, que levam às unidades de *p*-hidroxifenilo, guaiacil e siringil, respectivamente. Este heteropolímero aromático complexo desempenha um papel importante nos

tecidos de suporte das plantas vasculares e também protege contra os agentes patogênicos (Martínez et al, 2008). Através de ensaios histquímicos, Moreira-Coneglian et al. (2006) reportam a presença marcante de fibras perivasculares lignificadas nos limbos cotiledonares e eofilares das espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae) analisadas.

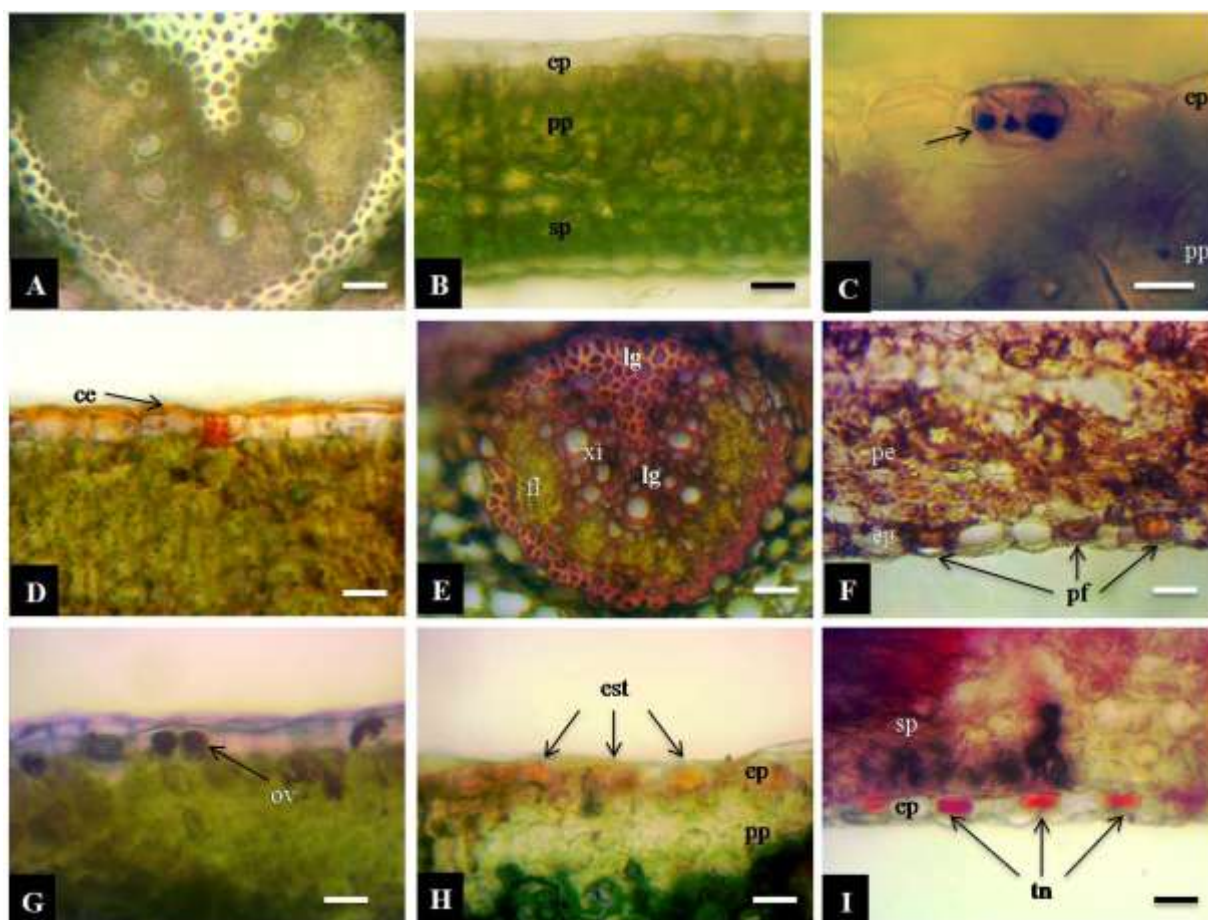
A presença de polifenóis é observada em castanho após reação com dicromato de potássio, estando presentes no interior de algumas células epidérmicas distribuídos em ambas as faces (Fig. 18 F). Segundo Moreira-Coneglian et al. (2006), observa-se a presença de idioblastos fenólicos no floema, em *Peltophorum dubium* e em *Pterogyne nitens*, e distribuídos por todo o feixe vascular em *Bauhinia forficata*. A presença de idioblastos fenólicos de ocorrência generalizada entre as espécies de Fabaceae é reportada por Fahn (1990) como uma característica comum à família. Dentre estes compostos pode-se citar a presença de flavonoides e antraquinonas nas folhas de *T. indica* (Nwodo et al., 2011). Sudjaroeno et al. (2005) realizaram o isolamento e elucidação estrutural dos componentes fenólicos presentes no pericarpo e sementes de tamarindo reportando um perfil de polifenóis dominado por proantocianidinas em várias formas.

Os óleos essenciais estão armazenados nas células epidérmicas de ambas as faces, visualizados em azul a partir da reação com o reagente de NADI (Figura 18 G). Pino et al. (2012) analisaram a composição química do óleo das folhas de *Tamarindus indica* L. através de cromatografia gasos, onde foram identificados treze componentes, dos quais o limoneno (24,4%) e benzoato de benzilo (40,6%) foram os compostos majoritários.

Também se observou a presença de fitoesteroides em algumas células epidérmicas tanto na face abaxial quanto na adaxial evidenciados em amarelo-acastanhado pelo tricloreto de antimônio (Figura 18 H). Segundo Andriamanantena et al. (1983) e Gomathinayagam e colaboradores (2017), é possível verificar a presença de fitoesteroides nos folíolos desta espécie, como β -sitosterol (66–72%), campesterol (16–19%) e estigmasterol (11–14%). Escalona-Arranz et al. (2010) confirmam a presença de óleos voláteis nos folíolos desta espécie, comprovando seu amplo espectro antimicrobiano.

A reação com o ácido clorídrico demonstrou a natureza solúvel das inclusões cristalinas, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Rodrigues et al. (2009) relatam a presença deste tipo de inclusão cristalífera nas folhas de *Senna alata*, nas proximidades dos feixes vasculares, ao longo de todo o mesofilo. Segundo Kodlady et al. (2012), algumas células do parênquima adjacente aos grupos de fibras contêm pequenos cristais de oxalato de cálcio, assim como na extremidade dilatada dos raios xilemáticos.

Figura 18 – Histolocalização de metabolitos presentes em folhas de *Tamarindus indica* L.



Controle: **A.** nervura central. **B.** mesofilo. **C.** grãos de amido em células epidérmicas. **D.** camada cuticular em células epidérmicas, com presença de compostos lipídicos em idioblasto. **E.** presença de ligninas em xilema e fibras perivasculares. **F.** polifenóis presentes em células epidérmicas. **G.** óleos voláteis no interior de células epidérmicas. **H.** esteroides em células epidérmicas. **I.** proantocianidinas em células epidérmicas. ep. epiderme, pp. parênquima paliçádico, pe. parênquima esponjoso, ce. cera epicuticular, lg. lignina, xi. xilema, fl. floema, pf. polifénóis, , tn. taninos, cs. canal secretor, ov. óleos voláteis. Barras: **B.** 100 µm. **A,C,D,E,F,G,H,I.** 25 µm.

Quadro 3 – Resumo dos ensaios histoquímicos realizados nas espécies analisadas.

ESPÉCIE	CÉLULAS EPIDÉRMICAS	PARÊNQUIMA DA NERVURA	PARÊNQUIMA PALIÇADICO	PARÊNQUIMA ESPONJOSO	FEIXES VASCULARES	FIBRAS DE ESCLERENQUIMA
<i>Persea americana</i> Mill.	 	   	 			
<i>Spondias mombin</i> L.		   	 		 	
<i>Anacardium occidentale</i> L.		   	 			
<i>Averrhoa carambola</i> L.		  	   	  	 	
<i>Genipa americana</i> L.	  	  	 			
<i>Citrus x aurantium</i> L.		  	   	  	 	
<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jimenez		 	 	 	 	 
<i>Punica granatum</i> L.		  	  			
<i>Tamarindus indica</i> L.	     		 		 	

Legenda:  = Amido  = Cutícula  = Lignina  = Compostos fenólicos
 = Óleos Voláteis  = Esteróides  = Proantocianidinas  = Ácido Oxálico

5.3 ANÁLISE MORFOLÓGICA E COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DOS CRISTAIS

5.3.1 Determinação da distribuição tissular dos cristais através de Microscopia de Luz Polarizada (MLP)

A birrefringência apresentada pelos cristais nas espécies analisadas é considerada uma característica anisotrópica daquelas inclusões cristalinas que possuem uma composição química de um único elemento. Cristais que apresentam composição química mista são referidos como não birrefringentes, impossibilitando avaliar os diferentes índices de refração que possuem, pois apresentam alterações nas propriedades ópticas em relação aos cristais puros (HAMMOND, 2001; HE ET AL., 2012).

As análises realizadas nas folhas de *Persea americana* revelam a presença de poucas inclusões cristalinas, observadas ao longo do mesofilo de forma isolada. É possível observar a presença de concreções cristalinas com maior incidência no parênquima cortical da nervura central (Figura 19 A,B). Uma relação muito estreita entre a formação de oxalato nas plantas e o processo de fotossíntese foi observada em *Oxalis corniculata* sp. por Seal e Sen (1970), onde verificou-se um aumento na concentração de oxalato durante os horários de pico fotossintético e sua diminuição durante o período noturno. Esse padrão de distribuição de cristais também foi observado por Mahmoud et al (2016) ao analisarem folhas desta espécie no Egito, onde relatam a presença de cristais de oxalato de cálcio espalhados no tecido cortical da nervura e no mesofilo.

As secções transversais dos folíolos de *Spondias mombim* demonstram o caráter refringente dos cristais presentes, que se encontram dispersos ao longo do mesofilo na região perivascular dos vasos secundários e parênquima cortical da nervura central. Um aumento na visualização permite inferir que estes cristais são do tipo drusas (Figura 19 C,D). A presença de cristais de oxalato de cálcio foi descrita por Cronquist (1981) como característica presente nos indivíduos pertencentes a esta família. Diferentemente de Silva (2007), que observou uma incidência maior de cristais na região da nervura central em

folíolos de *S. tuberosa*, observou-se em *S. mombin* a presença de idioblastos contendo essas inclusões distribuídas aleatoriamente, ao longo de todo o mesofilo e nervura central. Segundo Metcalfe e Chalk (1950), a presença de inclusões cristalinas nas folhas do vegetal pode estar associada a um mecanismo adaptativo para maior captação de luz e otimização da taxa fotossintética.

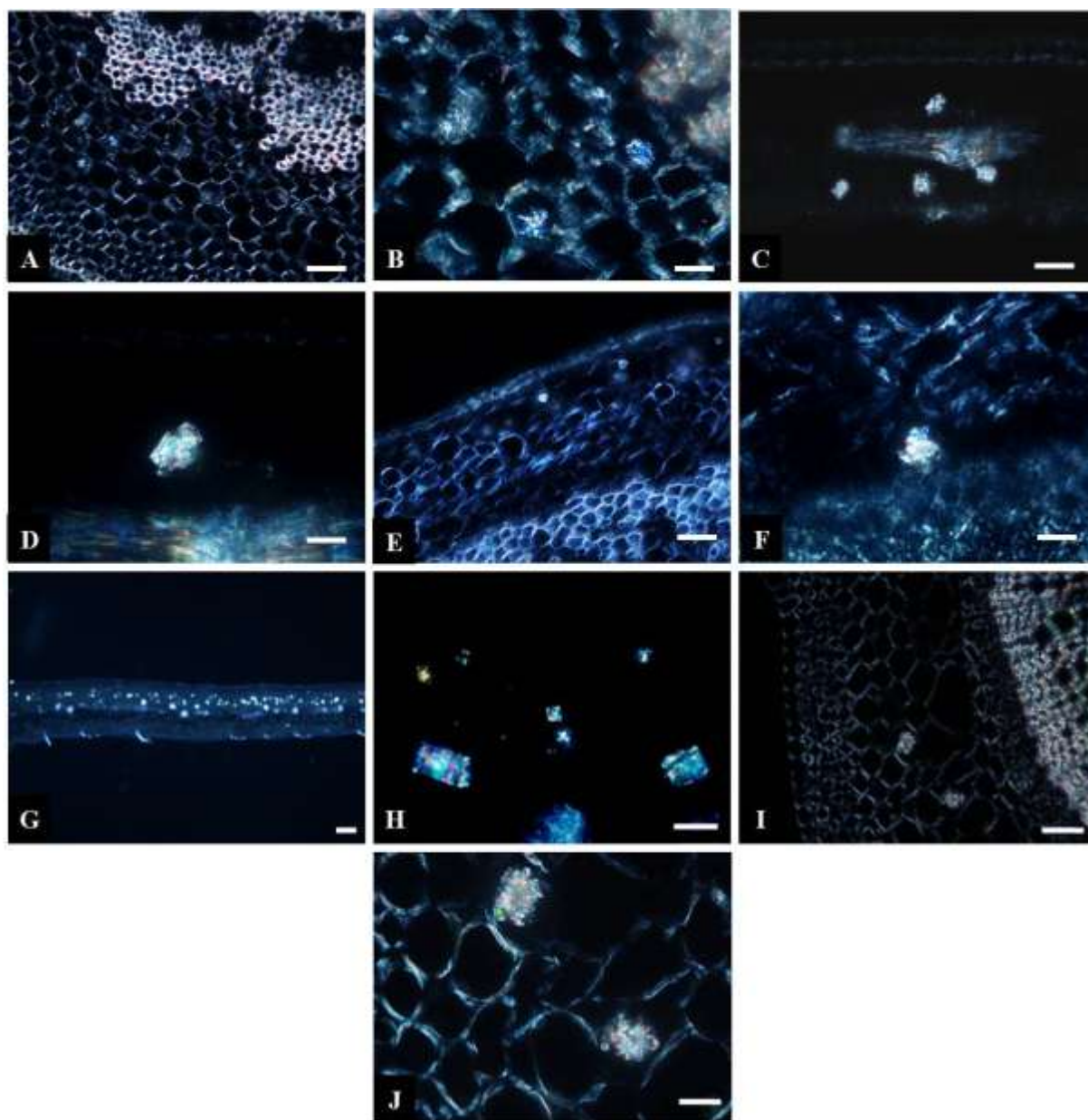
Em *Anacardium occidentale* verifica-se que a distribuição de cristais nesta espécie ocorre de forma predominante no parênquima cortical da nervura central. Em um maior aumento é possível identificar o morfotipo drusa (Figura 19 E,F). O sistema de biomineralização mais amplamente distribuído entre os diferentes taxa de plantas é o de oxalato de cálcio cristalino, sendo o crescimento de cristais um processo intracelular altamente controlado (ARNOT, 1982; MONJE e BARAN, 2002). Duarte et al. (2006, 2009), observaram a presença de idioblastos contendo prismas e drusas de oxalato de cálcio, no parênquima cortical e parênquima clorofiliano em folhas de *Schinus terebinthifolius*. Segundo Carmello-Guerreiro et al. (2002) ao analisarem os frutos desta espécie de Anacardiaceae, relatam drusas de oxalato de cálcio observadas no mesocarpo, rodeando os ductos secretores.

Nos folíolos de *Avherroa carambola*, através da refração detectada, foi possível identificar inclusões cristalinas na região vascular da nervura central e ao longo de todo o mesofilo, apresentando intensa predominância na região do parênquima paliádico. Observa-se o caráter morfológico prismático tabular, cúbico e piramidal para estas inclusões (Figura 19 G,H). Resultados semelhantes são descritos por Jorge (2006) com relação à presença de cristais prismáticos no mesofilo dos folíolos desta espécie. Guedes (2009) relata a presença de drusas e cristais prismáticos por todo limbo em *A. bilimbi*, apresentando para esta espécie um macropadrão cristalino diferente. Dessa forma, observa-se que a morfologia e disposição dos cristais nos tecidos de uma planta podem ser utilizadas como um possível parâmetro na diferenciação entre espécies.

Nas folhas de *Genipa americana* é possível verificar cristais ao longo de toda a lâmina foliar, apresentando maior incidência de distribuição no parênquima medular e cortical da nervura central. Imagens mais aproximadas

demonstram o caráter morfológico de drusa para esses cristais (Figura 19 I,J). A partir de estudos de morfoanatomia caulinar e foliar, Erbano e Duarte (2010) descrevem a presença de numerosas drusas no sistema vascular e na região medular do córtex da nervura. Divergindo, porém, dos resultados encontrados estes autores reportam a presença de idioblastos contendo areia cristalina tanto no floema como no xilema. Segundo Lersten e Horner (2011), a presença de areia cristalina associada à drusas de oxalato de cálcio é uma característica comum em espécies da tribo Naucleeae (Rubiaceae).

Figura 19 – Secções transversais das folhas das espécies analisadas sob Microscopia de Luz Polarizada.



Persea americana Mill.: **A.** drusas presentes em parênquima da nervura central. **B.** concrecências cristalinas em células de parênquima. *Spondias mombim* L.: **C.** cristais dispersos no mesofilo (região perivascular secundária) e parênquima cortical da nervura central. **D.** cristais do tipo drusas. *Anacardium occidentale* L.: **E.** cristais no parênquima cortical da nervura central. **F.** drusas apresentando refringência. *Avherroa carambola* L.: **G.** inclusões cristalinas na região vascular da nervura central e com predominância no parênquima paliádico. **H.** cristais prismático tabulares, cúbicos e piramidais. *Genipa americana* L.: **I.** cristais no parênquima medular e cortical da nervura central. **J.** cristais do tipo drusa. Barras: **A,C,E,G,I.** 100 µm. **B,D,F,H.** 20 µm.

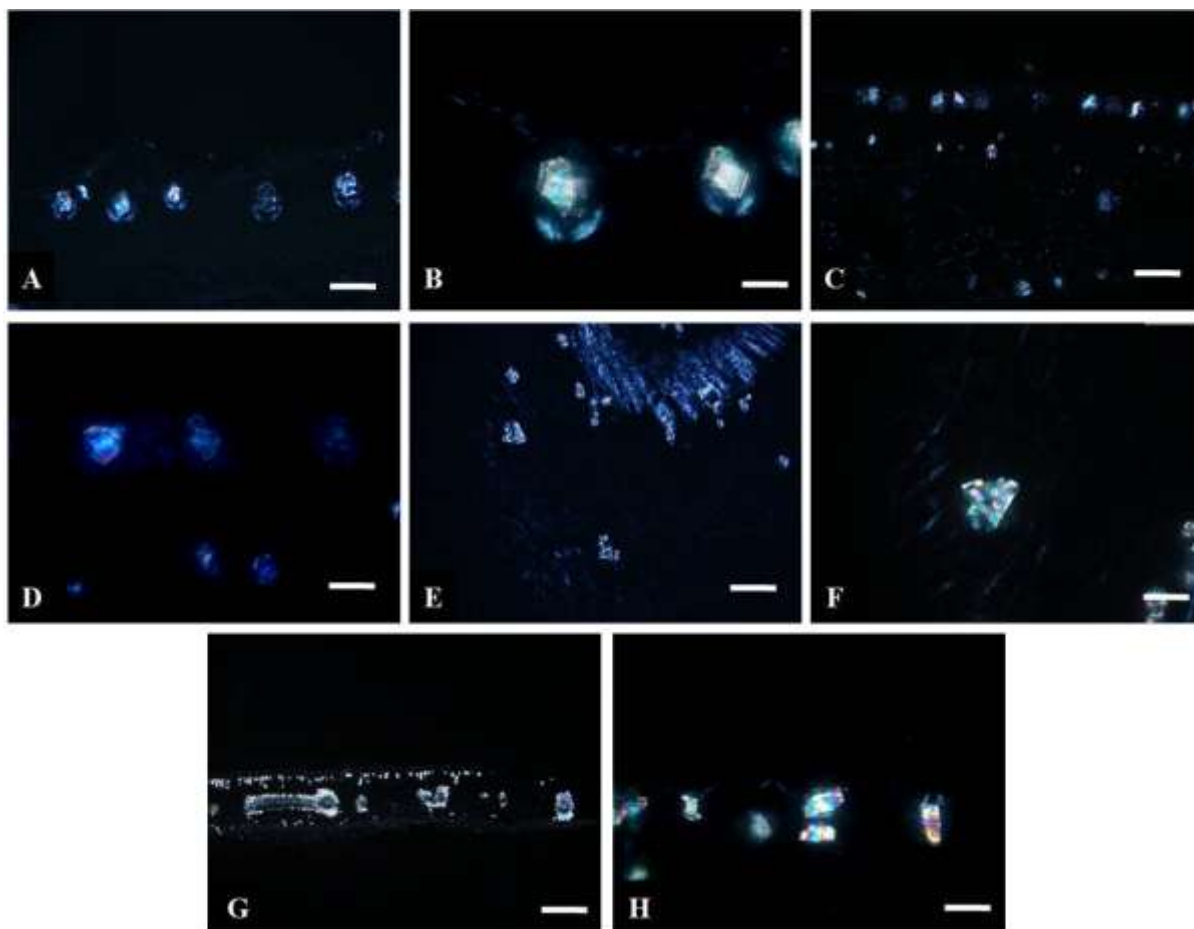
Em *Citrus x aurantium*, observa-se uma distribuição cristalina nas células do parênquima da nervura central e em idioblastos ao longo da epiderme, com maior predominância na face adaxial. Verifica-se ainda a predominância de morfologia prismática para estas inclusões (Figura 20 A,B). Storey e Leigh (2004) ao analisarem folhas de *Citrus jambhiri* Lush. descrevem a presença de cristais prismáticos presentes predominantemente sob a epiderme, no parênquima paliçádico. Os autores atribuem a formação desses cristais como uma forma das folhas compartimentarem o cálcio intracelular.

É possível confirmar a presença de cristais ao longo de toda a lâmina foliar de *Citrus x latifolia*, apresentando maior incidência logo abaixo das células epidérmicas da face adaxial, apresentando forma prismática (Figura 20 C,D). Lopes et al. (2013) evidenciam a intensa presença de cristais prismáticos armazenados em câmaras subepidérmicas na folha, parênquima medular da nervura central e do pecíolo, no parênquima cortical do caule e no floema de *Citrus limettoides* Tanaka. Inclusões cristalinas também foram observadas tanto nas folhas quanto no pecíolo e caule de *C. limettoides* (MARTINS et al., 2008), descritos em *Raulinoa echinata* R. S. Cowan, e folhas de *Pilocarpus goudotianus* Tul. (GALLARDO; JIMÉNEZ, 2002). Observa-se que a produção e o armazenamento destes cristais é uma característica comum à família, ocorrendo em grande número nas plantas cítricas (BRONZI, 1981).

As análises em folhas de *Punica granatum* revelam a distribuição de cristais do tipo drusa no parênquima cortical da nervura, com maior predominância nas regiões perivasculares (Figura 20 E,F). Em muitas plantas, os oxalatos apresentam uma baixíssima taxa de metabolização, ou mesmo inexistente. Dessa forma, estas substâncias podem apresentar um efeito tóxico para as células vegetais quando acumuladas em quantidades excessivas (FRANCESCHI E HORNER, 1980). Portanto, as plantas podem induzir a formação de cristais de oxalato de cálcio como alternativa para remover o excesso de oxalato ou cálcio intracelular (ÇALIŞKAN 2000). Assim como observado neste estudo, Prabha et al. (2013) e Rajaei et al. (2015) reportam a presença de abundantes drusas no parênquima do floema dispostas em ambas as faces. Lersten e Horner (2005) descrevem a presença de cristais prismáticos no mesofilo e nervura central das folhas desta espécie.

É possível identificar que os cristais presentes nos folíolos de *Tamarindus indica* são prismáticos alongados e encontram-se nas regiões subepidermais em ambas as faces ao longo do mesofilo, apresentando maior incidência na face superior e em torno dos feixes vasculares. Uma visualização mais aproximada demonstra o caráter prismático destas inclusões (Figura 20 G,H). A formação de cristais nas angiospermas geralmente ocorre de forma intracelular e os cristais se originam dentro de células vacuolares especializadas chamadas idioblasto. A formação de cristais em idioblastos geralmente está relacionada com membranas, câmaras ou inclusões encontradas no interior de vacúolos. Estas células podem sofrer modificações ultraestruturais dependendo da precipitação de cristal (HORNER E WAGNER, 1995). Rodrigues et al. (2009) reportam cristais prismáticos nas regiões perivasculares em folíolos de *Senna alata*. Semelhantemente, Nassar e colaboradores (2013) verificaram cristais prismáticos em células do floema de *Senna occidentalis* (Caesalpiniaceae), sendo uma característica comum a esta subfamília.

Figura 20 – Secções transversais das folhas das espécies analisadas sob Microscopia de Luz Polarizada.



Citrus x aurantium L.: **A.** cristais no parenquimapaliçádico em células subepidérmicas. **B.** inclusões cristalinas de forma prismática. *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jimenez.: **C.** cristais em todo o mesofilo com incidência em células subepidérmicas da face adaxial. **D.** inclusões cristalinas de forma prismática. *Punica granatum* L.: **E.** cristais na região perivascular da nervura. **F.** cristal tipo drusa. *Tamarindus indica* L.: **G.** cristais presentes nas regiões subepidérmicas em ambas as faces do mesofilo, com incidência na face superior, e em torno dos feixes vasculares. **H.** cristais alongados com forma prismática. Barras: **A,C,E,G.** 100 µm. **B,D,F,H.** 20 µm.

5.3.2 Caracterização dos macropadrões cristalográficos por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e de Transmissão (MET).

A morfologia de um cristal, bem como a sua distribuição espacial, é considerada como um macropadrão cristalino, parâmetro característico de um *taxa* específico (ZHANG et al, 2014). Os calcifitólitos, assim denominados os cristais de oxalato de cálcio, são corpos microscópicos mineralizados, que ocorrem em grande parte das Angiospermas, presentes na maioria dos tecidos e órgãos vegetais (Nakata, 2003). Segundo Arnott (1970) e Franceschi (1980; 2005), os morfotipos mais comuns destes cristais encontrados nas plantas são drusas (um agregado esférico de cristais individuais), estilóides (cristais alongados com extremidades pontiagudas), ráfides (cristais em forma de agulha que ocorrem em feixes de muitos cristais por célula), prismas de formas variadas e areia cristalina (intenso aglomerado de pequenos cristais individuais em uma única célula). Outras formas cristalinas são decorrentes da variação destas.

As imagens obtidas por esta técnica microscópica demonstram uma secção transversal com simetria côncavo-convexa para as folhas de *Persea americana*, onde se observam cristais prismáticos tabulares, armazenados em idioblastos no parênquima da nervura. Associados a estes, ocorre a presença de concreções cristalinas aciculiformes de tamanho reduzido, aparentemente resultantes da fragmentação daqueles (Figura 20 A,B,C). Mahmoud et al (2016) relatam a presença de numerosas agulhas e cristais prismáticos de oxalato de cálcio espalhados no tecido cortical da nervura e no mesofilo das folhas de *P. americana*, corroborando os resultados obtidos.

Os folíolos de *Spondias mombim* apresentam em vista transversal uma simetria biconvexa. Uma análise mais detalhada das drusas observadas no parênquima da nervura central evidencia o tipo *weddellite*, onde os cristais que a constituem apresentam um arranjo em bloco (Figura 20 D,E,F). O oxalato de cálcio ocorre em dois estados de hidratação nas plantas, como o monohidrato (*whewellite*) ou como o dihidrato (*weddellite*), em qualquer uma das formas apresentadas anteriormente (ARNOTT, 1982). Segundo Monje e Baran (2002), as drusas compostas de *weddellite* são geralmente constituídas por cristais

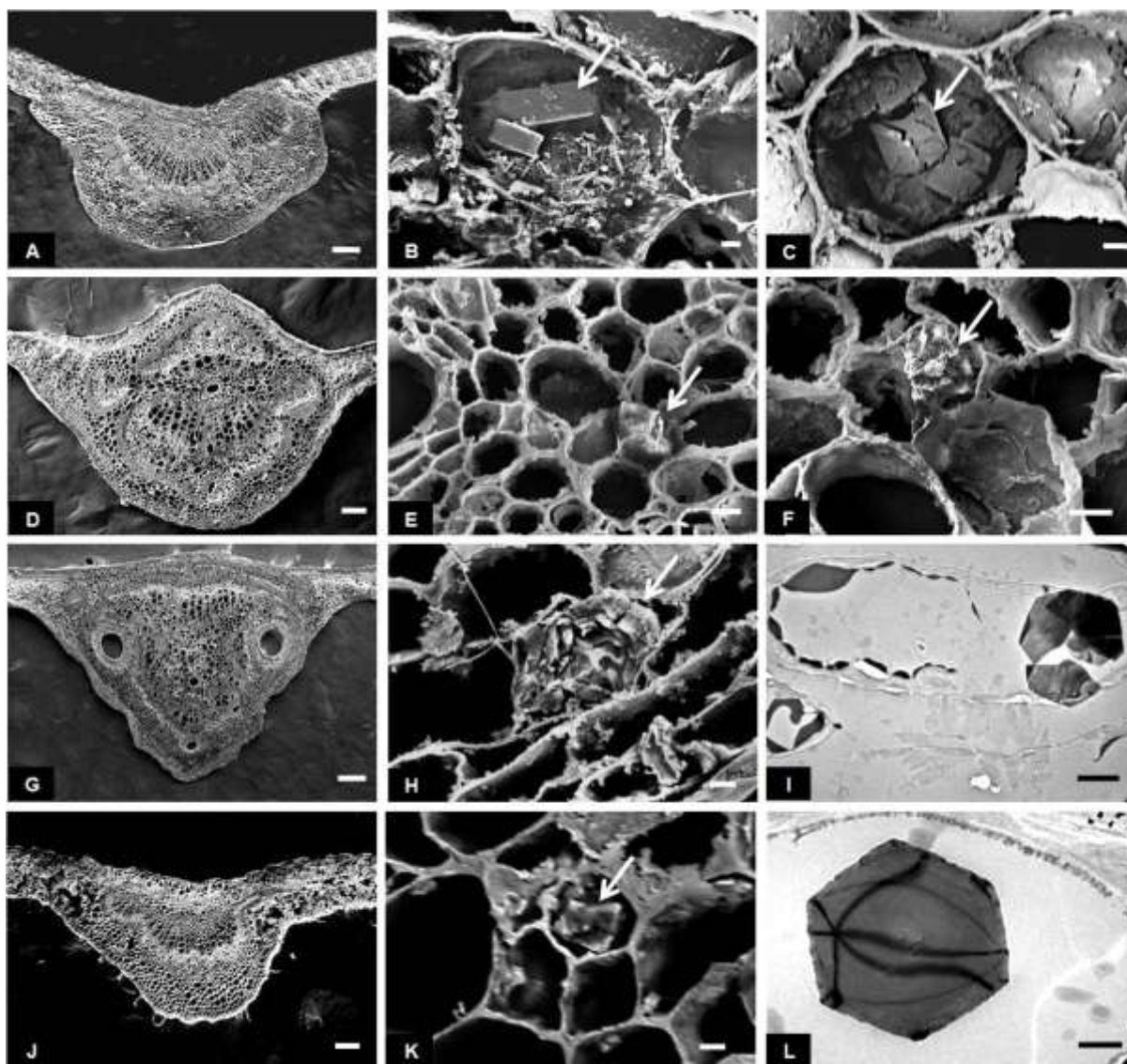
tetragonais individuais, refletindo claramente o sistema de cristal tetragonal do biomineral. Porém, o aspecto geral das drusas isoladas varia entre as espécies, especialmente no que se refere ao tamanho e ângulos entre faces cristalinas individuais.

A simetria foliar de *Anacardium occidentale* sob secção transversal é do tipo plano-convexa, onde se observam drusas distribuídas ao longo do parênquima. Após uma apreciação mais detalhada do arranjo cristalino destas inclusões, observa-se que são do tipo wedellite, constituídas por cristais individuais dispostos num arranjo esférico (Figura 20 G,H). A partir de imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) verifica-se na face interna da parede celular do idiolasto o acúmulo de material precipitado apresentando mesma coloração observada para o cristal. Este, apresenta forma prismática fragmentada localizado no pólo oposto do idiolasto. Verifica-se também a presença de substâncias floculares no centro do vacúolo celular (Figura 20 I). O padrão apresentado pelos cristais nesta espécie ocorre de forma semelhante em *Rebutia margarethae*, onde os corpos weddellite apresentam estruturas simples e sólidas com uma forma final particular, onde finas camadas de cristal justapostas são depositadas umas sobre as outras (MONJE E BARAN, 2002). De acordo com Mazen e colaboradores (2003), semelhante material flocular também foi observado no vacúolo de idioblastos em *Lemna minor*, estando envolvido com a deposição de cálcio no processo de formação dos cristais de oxalato de cálcio. A observação da membrana da câmara de cristal impregnada de material corado é interessante porque fornece uma imagem excepcionalmente nítida da forma da câmara durante a formação de cristais.

Observa-se que a secção do limbo de *Avherroa carambola* possui uma simetria plana a côncavo-convexa. Em uma magnitude maior de visualização, observam-se cristais com morfologia bipiramidal em células do parênquima cortical da nervura (Figura 20 J,K). Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão permitem visualizar em detalhes a presença de microcristal hexagonal no interior do idiolasto, além de substâncias impregnadas na face interna da parede do idioblasto (Figura 20 L). De acordo com Uloth e colaboradores (2015) observou-se a forma bipiramidal em *Sclerotinia*

sclerotiorum e *Brassica carinata* como forma predominante na determinação do macropadrão destas espécies. De acordo com Mazen et al. (2003), para compreender o fenômeno de biomineralização nos idioplastos se faz necessário identificar os processos envolvidos na indução e acumulação de substâncias utilizadas para a formação de cristais, a forma como essas substâncias são entregues no local de precipitação de oxalato de cálcio e mecanismos que regulam a precipitação no vacúolo. Faheed et al. (2013) afirmam que na síntese dos cristais, o ácido oxálico necessário é sintetizado de forma endógena, enquanto que o cálcio é extraído do meio ambiente, sendo produzidos e acumulados em de forma específica.

Figura 20 – Macropadrões Cristalográficos observados nas espécies analisadas.



Persea americana Mill.: **A.** secção transversal (MEV). **B,C.** cristais estiloides em células do parênquima da nervura central. *Spondias mombim* L.: **D.** secção transversal (MEV). **E,F.** cristais em células do parênquima da nervura central. *Anacardium occidentale* L.: **G.** secção transversal (MEV). **H.** drusa de agregado cristalino esférico em células do parênquima da nervura central. **I.** microcristal hexagonal no interior de idioblasto (MET). *Avherroa carambola* L.: **J.** secção transversal (MEV). **K.** cristal bipirâmidal em células de parênquima. **L.** microcristal hexagonal no interior de idioblasto (MET). Barras: **A,D,G,J.** 100 µm. **B.** 6 µm. **E,F.** 10 µm. **C.** 3 µm. **H.** 3 µm. **I.** 5 µm. **K.** 1 µm. **L.** 0,5 µm.

As análises realizadas em folhas de *Genipa americana* evidenciam secção transversal de simetria biconvexa. O macropadrão observado nas inclusões cristalinas é definido como drusa, onde os cristais individuais que a compõem apresentam um arranjo específico em forma de roseta (Figura 21 A,B,C). Monje e Baran (2002), em seus trabalhos de caracterização de cálcio gerado como biominerais de oxalatos em *Cacti* sp., diferenciaram as drusas *whewellite* das drusas *weddellite* a partir de suas formas estreladas, com cristalitos individuais possuindo pontos afiados agudos emergindo do centro da drusa, assim como as drusas observadas em *G. americana* neste trabalho. Diferentes morfotipos cristalinos podem ser observados em Rubiaceae como cristais estiloides, ráfides e drusas (METCALFE e CHALK; 1950). Zini e colaboradores (2015) relatam a presença de drusas em *Borreria latifolia*, *B. orientalis* e *B. palustris*. Cristais estiloides são observados em espécies de *Psychotria* sp. (MORAES, 2011). Erbano e Duarte (2011) descrevem a presença de drusas em folhas e caule de *G.americana*.

Folhas de *Citrus x aurantium*, submetidos a este tipo de microscopia, apresentam secções transversais que exibem uma simetria biconvexa. Foi possível observar dentre as inclusões observadas os morfotipos cristalinos prismático estilóide e bipiramidal, armazenados abaixo da epiderme e no parênquima da nervura central, próximos dos feixes vasculares e das fibras perivasculares (Figura 21 D,E,F). Folhas de *Citrus* possuem uma alta eficiência nos mecanismos de compartimentalização de cálcio em suas células foliares, a fim de evitar interferências nos caminhos de sinalização via cálcio e evitar o fechamento estomático induzido por este íon extracelular (STOREY e LEIGH, 2004). Por serem considerados como biominerais de acumulação tecidual nas plantas, os cristais de oxalato de cálcio são formados por arranjos específicos de cristais, apresentando morfologia característica para cada espécie, determinada por fatores genéticos. Este fato proporciona a possibilidade de separar espécies com base nos macropadrões de cristais apresentados em diferentes plantas (Zhang et al, 2014).

Em *Citrus x latifolia*, as imagens obtidas revelam uma secção com simetria biconvexa, vista transversalmente, com presença mais intensa de cristais do tipo prismático estiloide e concrecências cristalinas (Figura

20_bG,H,I), quando comparado com *C. aurantium*. Segundo as pesquisas realizadas por Storey e Leigh (2004) em folhas de *Citrus jambhiri* Lush, observa-se que o cálcio é armazenado principalmente no parênquima paliçádico, esponjoso e células idioblasticas subepidermais sob a forma de cristais prismáticos. O desenvolvimento de idioblastos nas folhas das plantas representam a alta capacidade destas estruturas na estocagem induzidos por cálcio em várias espécies (VOLK ET AL., 2004).

A simetria transversal das folhas de *Punica granatum* é do tipo plano-convexa. Observaram-se cristais com um macropadrão do tipo prismático cúbico (Figura 21 J,K). Imagens obtidas por MET permitem observar idioblastos com presença intensa de vesículas e material citoplasmático, com a presença de cristais triangulares ao centro (Figura 21 L). De acordo com Lersten e Horner (2005), ao analisar o desenvolvimento de cristais de oxalato de cálcio em folhas de *P. granatum*, observam-se cristais prismáticos mais robustos dos tipos cúbicos, estiloides e bipiramidais são observados restritos ao mesofilo da folha, no parênquima paliçádico paralelos aos feixes vasculares secundários. Na nervura central são observados pequenos cristais prismáticos e drusas. Os idioblastos apresentam modificações ultraestruturais relacionadas à precipitação de cristal. Os idioblastos de cristal são comumente relatados por exibir características como plastídios especializados, maiores quantidades de retículo endoplasmático e complexos de Golgi, níveis elevados de RNAr e componentes vacuolares únicos (FRANCESCHI & HORNER, 1980; FRANCESCHI & NAKATA, 2005).

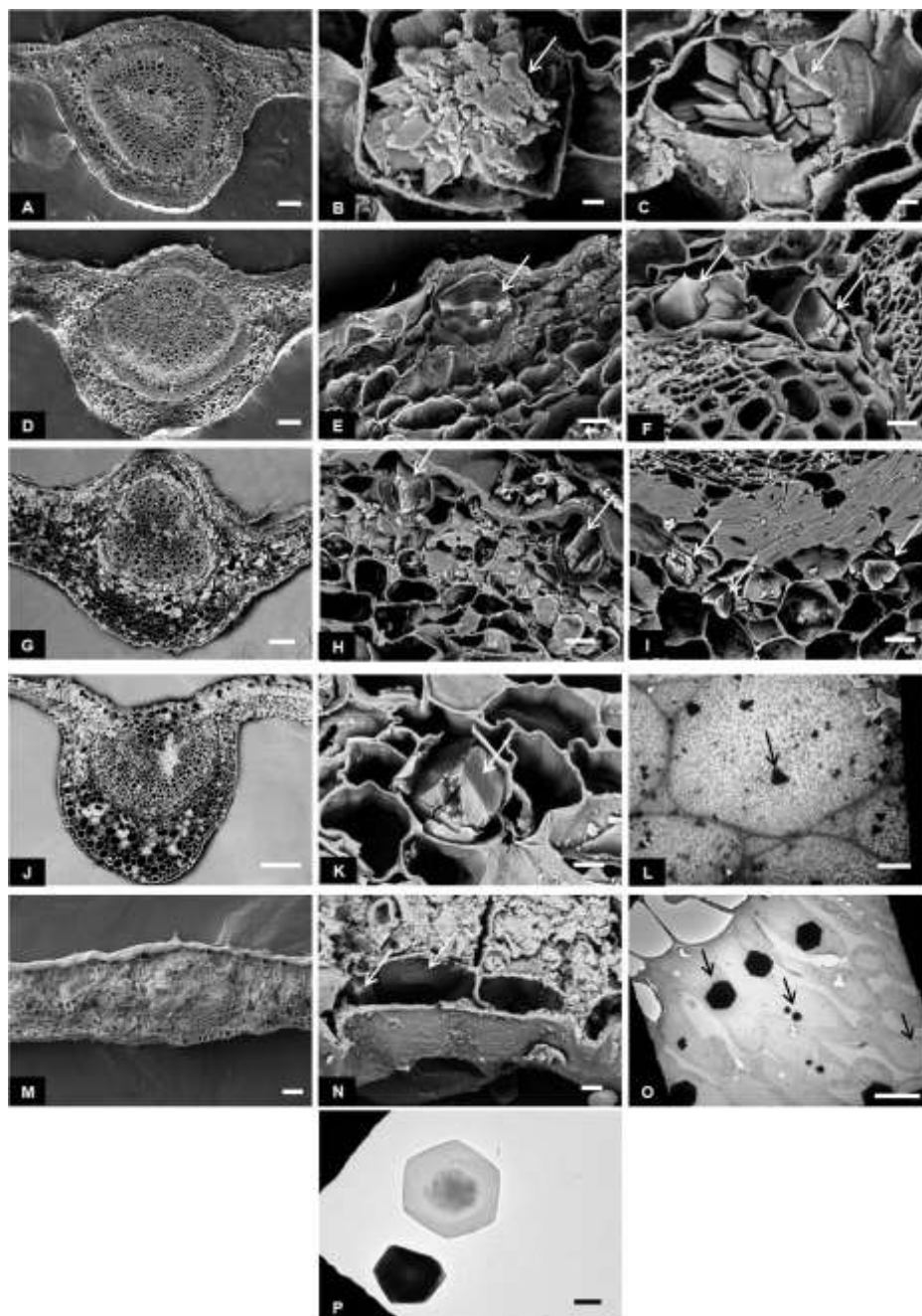
Os folíolos de *Tamarindus indica* apresentam uma simetria do tipo plana, com uma discreta protuberância na região da nervura. Cristais prismáticos tabulares são visualizados no interior das células epidérmicas e região adaxial do parênquima (Figura 21 M,N). Em imagem obtida por MET verifica-se a presença de cristais em diferentes estágios de formação na região vacuolar dos idioblastos, observando-se inúmeras pequenas vesículas na região perivacuolar (Figura 21 O). Verificam-se microcristais pentagonal e hexagonal, apresentando região central de nucleação (Figura 21 P).

A primeira etapa em um processo de cristalização, que ocorre a partir de uma solução supersaturada, chama-se nucleação. Esta refere-se à formação

de um pequeno núcleo que age como o centro da cristalização, caracterizando o início do processo. O próximo estágio é o crescimento dos cristais, onde o pequeno núcleo formado cresce pela deposição de moléculas de soluto da solução supersaturada (Leiserowitz, 2002; Dunitz, 2003; Aulton, 2005).

Assim, a formação dos cristais exige o transporte rápido de cálcio e oxalato através de vários compartimentos, sendo as características ultraestruturais especializadas dos idioblastos envolvidas na síntese e no movimento desses compostos para o vacúolo (FAHEED et al., 2013). O cálcio deve entrar via apoplasto, enquanto o oxalato pode ser transferido de células adjacentes ou sintetizado dentro dos idioblastos (Li e Franceschi, 1990). Mazen e colaboradores (2003) reportam a presença de grande quantidade de pequenas vesículas com 100 nm de diâmetro nos estágios iniciais do desenvolvimento dos idioblastos, sendo menos comuns nos idioblastos de cristal maduros.

Figura 21 – Macropadrões cristalográficos observados nas espécies analisadas.



Genipa americana L.: **A.** secção transversal (MEV). **B,C.** drusas em células parenquimáticas da nervura central. *Citrus x aurantium* L.: **D.** secção transversal (MEV). **E.** cristais estiloides em células subepidérmicas do mesofilo. **F.** cristais estiloides em idioblastos próximo aos feixes vasculares. *Citrus x Tanaka* ex Q. Jimenez.: **G.** secção transversal (MEV). **H.** cristais estiloides em células epidérmicas do mesofilo. **I.** cristais estiloides em idioblastos próximo às fibras esclerenquimáticas. *Punica granatum* L.: **J.** secção transversal (MEV). **K.** cristal estiloide cúbico em células parenquimáticas da nervura central. **L.** micro cristal triangular no interior de células parenquimáticas (MET). *Tamarindus indica* L.: **M.** secção transversal (MEV). **N.** cristais prismáticos no interior de células epidérmicas do mesofilo. **O.** cristais no interior de idioblastos em diferentes estágios de formação (setas). **P.** micro cristais pentagonal e hexagonal no interior de idioblasto (MET). Setas: presença de cristais. Barras: **A,D,G,J:** 100 µm. **B,C:** 4 µm. **E,F,H,I,K,N, O:** 10 µm. **L:** 5 µm. **M:** 40 µm. **P:** 2,5 µm.

5.3.3 Determinação da composição química elementar dos cristais por Análise de Raios X por Dispersão de energia (EDS) acoplado à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-EDS)

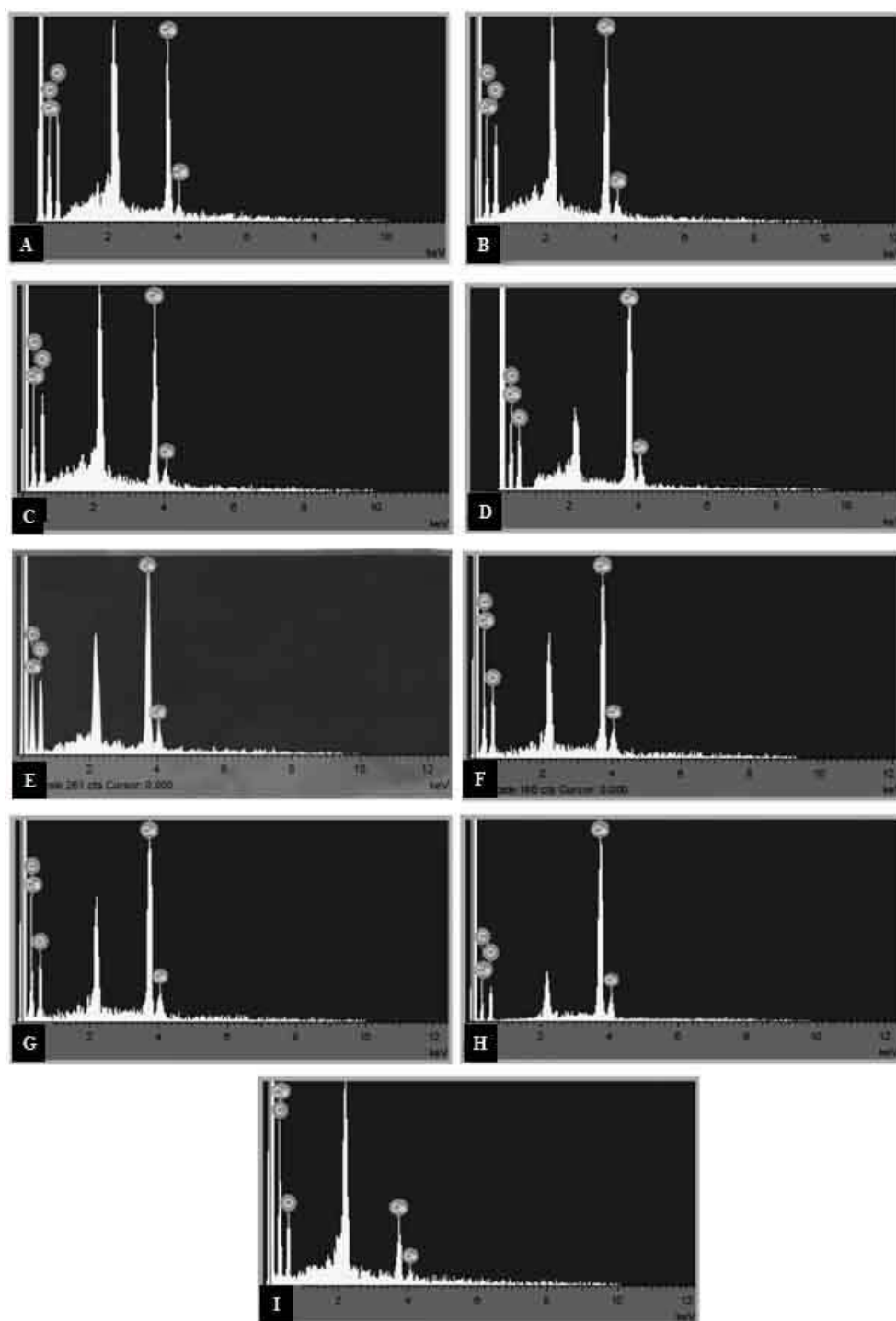
As microanálises químicas realizadas nas espécies analisadas revelaram a exata composição elementar dos cristais presentes. Os cristais tabulares de *P. americana* são constituídos em sua maior parte por oxigênio (0,45%), seguido de cálcio (0,09%) e carbono (0,08%). Em *Spondias mombim*, as drusas de *weddellite* apresentam em sua constituição 0,7% de oxigênio, 0,12 % de cálcio e 0,03% de carbono. As drusas com cristais de arranjo esférico, observadas *Anacardium occidentale*, são constituídas em sua maior parte por oxigênio (0,24%), cálcio (0,15%) e carbono (0,1%). Os cristais prismáticos de *Avherroa carambola* apontam uma composição cristalina elementar de 0,05% de oxigênio, 0,14% de cálcio e 0,03% de carbono. As partir das análises realizadas nas drusas de *Genipa americana*, é possível verificar que este cristal é constituído em sua maior parte por oxigênio (0,06%), cálcio (0,13%) e carbono (0,02%). Os cristais estiloides presentes nas folhas de *Citrus x aurantium* apresentaram uma constituição química predominante de oxigênio (0,04%), cálcio (0,09) e carbono (0,02%). Em *Citrus x latifolia*, os cristais estiloides analisados apresentaram uma alta composição de oxigênio (0,11%), cálcio (0,22%) e carbono (0,05%). Em *Punica granatum*, as análises nos cristais prismáticos cúbicos determinaram um perfil elementar de 0,04% de oxigênio, 0,17% de cálcio e 0,02% de carbono. Os cristais prismáticos estiloides em *Tamarindus indica* demonstram que estas inclusões são constituídas por 0,03% de cálcio, 0,035% de oxigênio e 0,04% de carbono.

De maneira geral, os resultados demonstram que os cristais prismáticos de *Citrus x latifolia* são os que apresentam a maior taxa de armazenamento de cálcio em sua composição. Entre as espécies de *Citrus*, o limoeiro possui maior teor de cálcio em sua composição quando comparado aos cristais presentes nas folhas da laranjeira. Em contrapartida, o abacateiro apresenta a maior taxa de oxigênio na formação dos cristais, enquanto que os cristais do tamarindeiro são os que apresentam os menores teores desses elementos (Gráfico 1). Para todas as espécies analisadas, a partir dos resultados da difratometria destes cristais, verificam-se três picos de absorbância para o cálcio (0,3; 3,8 e 4,0

KeV), um pico para o oxigênio (0,6 KeV) e um para o carbono (0,3 KeV) (Figura 21). Observa-se que esta disposição dos picos no difratograma representa um padrão para estes elementos químicos, conforme observado por Silva e colaboradores (2014) ao analisarem macropadrões de rosetas e concreções cristalinas silicificadas em espécies de *Piper* (Piperaceae). Estes autores relatam picos de absorbância elevados para cálcio, intermediário para oxigênio e discreto para carbono, demonstrando valores semelhantes no espectro de difração para os cristais de oxalato de cálcio analisados. Para Monje e Baran (2002) e Lersten e Horner (2011), esse padrão de distribuição dos picos são esperados para cálcio e oxigênio em análises de cristais de oxalato de cálcio por MEV-EDS.

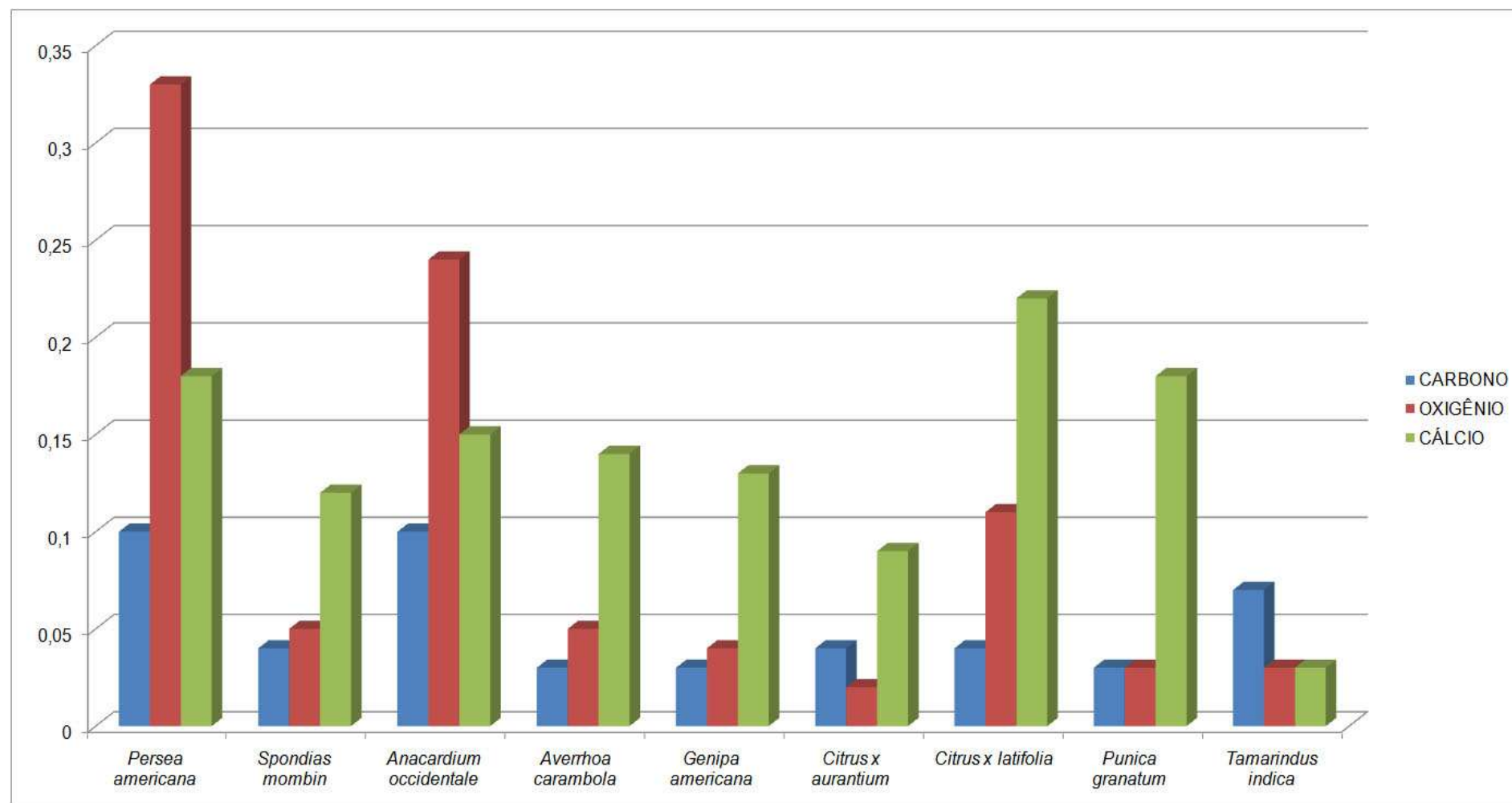
De acordo com os resultados histoquímicos descritos anteriormente, a reação dos cristais aqui descritos com o ácido clorídrico demonstrou a sua natureza solúvel, confirmando a composição química de oxalato de cálcio desses cristais. Observou-se que os cristais que apresentam macropadrões do tipo drusa e concreções cristalinas apresentaram velocidade de solubilização em ácido superior ao que foi observado em cristais prismáticos. Sabe-se que a forma dihidratada do oxalato de cálcio (*weddellite*), presente em alguns tipos de drusas, é a forma mais instável termodinamicamente, com uma maior taxa de dissolução e um menor potencial zeta do que o monohidrato (Zhang et al., 2014).

Figura 22 – Difrátogramas obtidos na determinação da composição química elementar dos cristais das espécies analisadas.



A. *Persea americana* Mill. **B.** *Spondias mombin* L. **C.** *Anacardium occidentale* L. **D.** *Averrhoa carambola* L. **E.** *Genipa americana* L. **F.** *Citrus x aurantium* L. **G.** *Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jimenéz. **H.** *Punica granatum* L. **I.** *Tamarindus indica* L.

Gráfico 1 – Composição química elementar dos cristais comparada entre as espécies analisadas.



Quadro 4 –Resumo dos resultados obtidos na análise morfológica e composição elementar dos cristais presentes nas espécies analisadas.

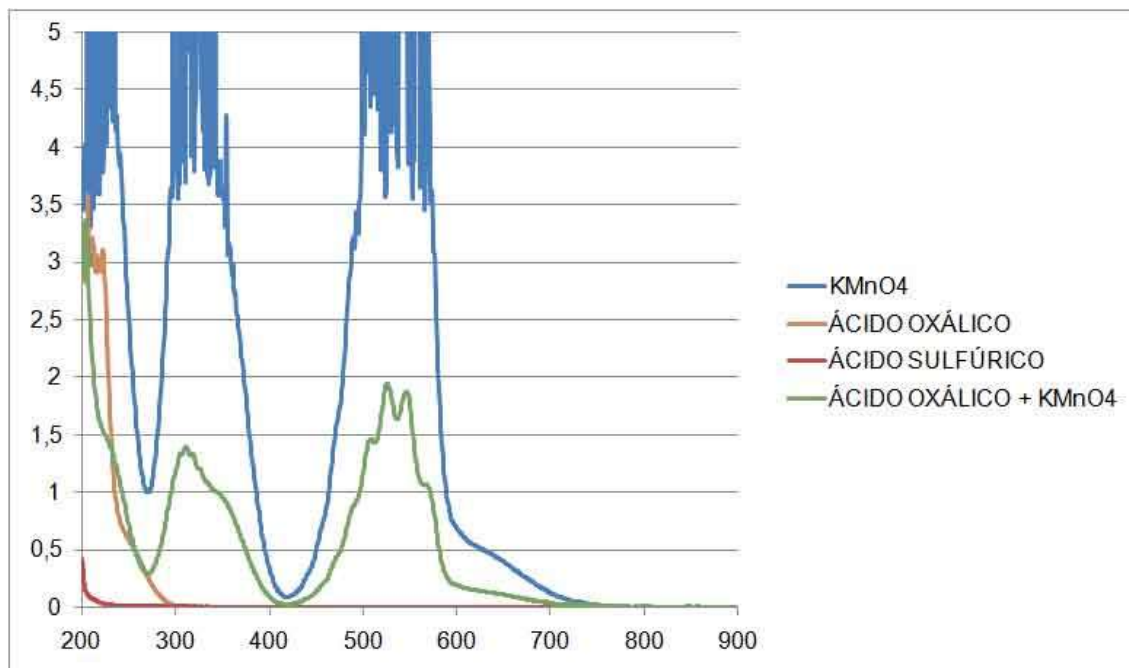
ESPÉCIE	MORFOTIPO CRISTALINO	DISTRIBUIÇÃO TISSULAR	COMPOSIÇÃO QUÍMICA ELEMENTAR	PERCENTUAL DE PESO	PERCENTUAL ATOMICO
<i>Persea americana</i> Mill.	Cristal prismático tabular e Concreções cristalinas aciculiformes	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,08	24,48
			Cálcio	0,09	12,77
		Parênquima Palicádico	Oxigênio	0,45	121,74
			TOTAL	0,62	158,99
<i>Spondias mombin</i> L.	Drusa do tipo Weddellite com cristais em bloco	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,03	24,62
			Cálcio	0,12	30,41
		Parênquima Palicádico	Oxigênio	0,07	44,97
			TOTAL	0,22	100
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Drusa Weddellite com cristais em agregado esférico	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,1	30,63
			Cálcio	0,15	14,03
			Oxigênio	0,24	55,34
			TOTAL	0,49	100
<i>Averrhoa carambola</i> L.	Cristal prismático bipiramidal	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,03	24,24
		Parênquima Palicádico	Cálcio	0,14	39,49
		Parênquima Esponjoso	Oxigênio	0,05	36,27
		Região vascular	TOTAL	1,06	358,99
<i>Genipa americana</i> L.	Drusa em roseta cristalina	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,02	19,93
			Cálcio	0,13	36,14
			Oxigênio	0,06	43,93
			TOTAL	0,21	100
<i>Citrus x aurantium</i> L.	Cristal prismático estiloide	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,02	30,15
		Parênquima Palicádico	Cálcio	0,09	35,05
		Parênquima Esponjoso	Oxigênio	0,04	34,8
			TOTAL	1,21	458,99
<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka ex Q. Jimenez	Cristal prismático estiloide	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,05	23,61
		Parênquima Palicádico	Cálcio	0,22	33,76
		Parênquima Esponjoso	Oxigênio	0,11	42,63
			TOTAL	0,38	100
<i>Punica granatum</i> L.	Cristal prismático cúbico	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,05	23,61
			Cálcio	0,22	33,76
			Oxigênio	0,11	42,63
			TOTAL	0,38	100
<i>Tamarindus indica</i> L.	Cristal prismático estiloide	Parênquima cortical da nervura central	Carbono	0,04	53,95
		Parênquima Palicádico	Cálcio	0,03	12,1
		Parênquima Esponjoso	Oxigênio	0,03	33,95
		Região vascular	TOTAL	0,1	100

5.4 METODOLOGIA ANALÍTICA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO OXÁLICO

5.4.1 Seleção do comprimento de onda

A sobreposição das curvas de absorbância para as soluções reagentes (SR) apontam a diversidade de picos apresentados individualmente pelo permanganato de potássio (Figura 23). Os espectros de varredura obtidos para as soluções reagentes, realizados em uma amplitude de comprimento de onda compreendida entre 200 a 900 nm, demonstram que a adição de ácido oxálico à solução de permanganato de potássio promove diminuição da intensidade da banda, apresentando uma nova absorção máxima em 525 nm. Desta forma pode-se observar que o método é específico, útil na determinação do comprimento de onda a ser utilizado para as leituras posteriores.

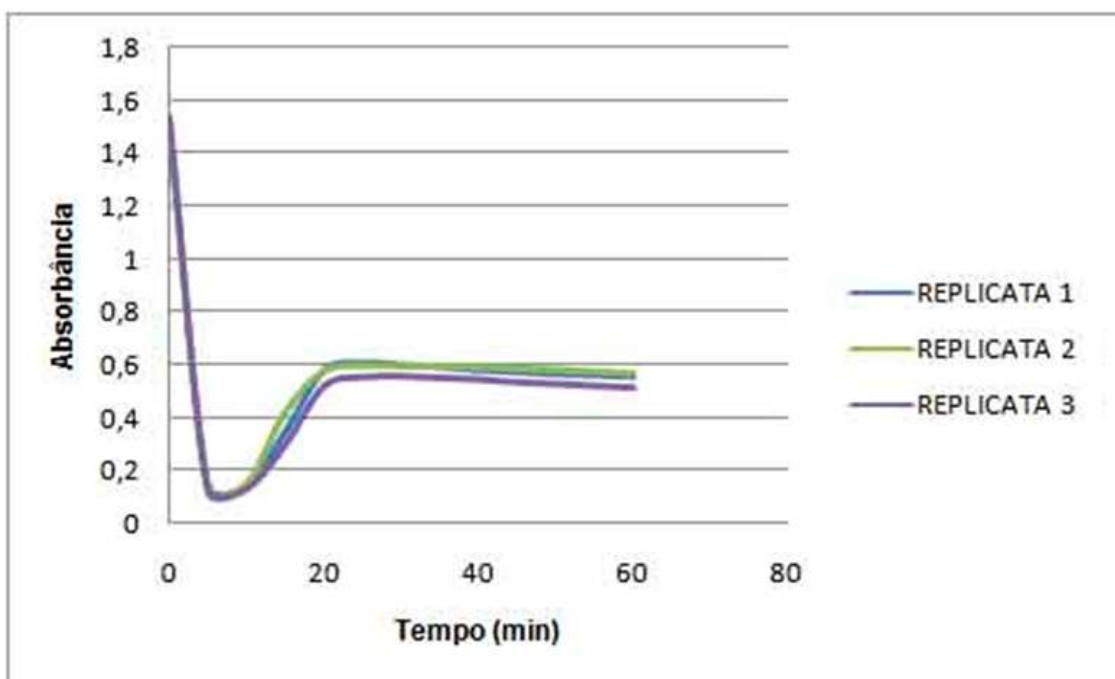
Figura 23 – Varredura dos espectros de absorção na determinação do comprimento de onda.



5.4.2 Estudo de cinética reacional para o ácido oxálico

A utilização de técnica espectrofotométrica UV-VIS pode ser utilizada para a determinação da cinética de reação, uma vez que a intensidade das bandas pode ser correspondente à concentração do analito nas espécies de interesse em um meio reacional (Vasilyeva et al., 2008). A partir dos resultados observados na Figura 24, verifica-se que as curvas para a redução do ácido oxálico num período de uma hora demonstram que após um intervalo de 20 minutos ocorre a estabilização nas leituras das absorbâncias, sendo este tempo necessário para que a cinética reacional diminua e as leituras apresentem menor interferência.

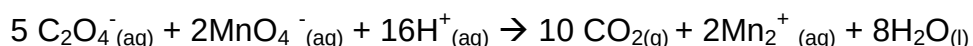
Figura 24 – Estudo de cinética para o padrão de Ácido Oxálico



5.4.3 Linearidade

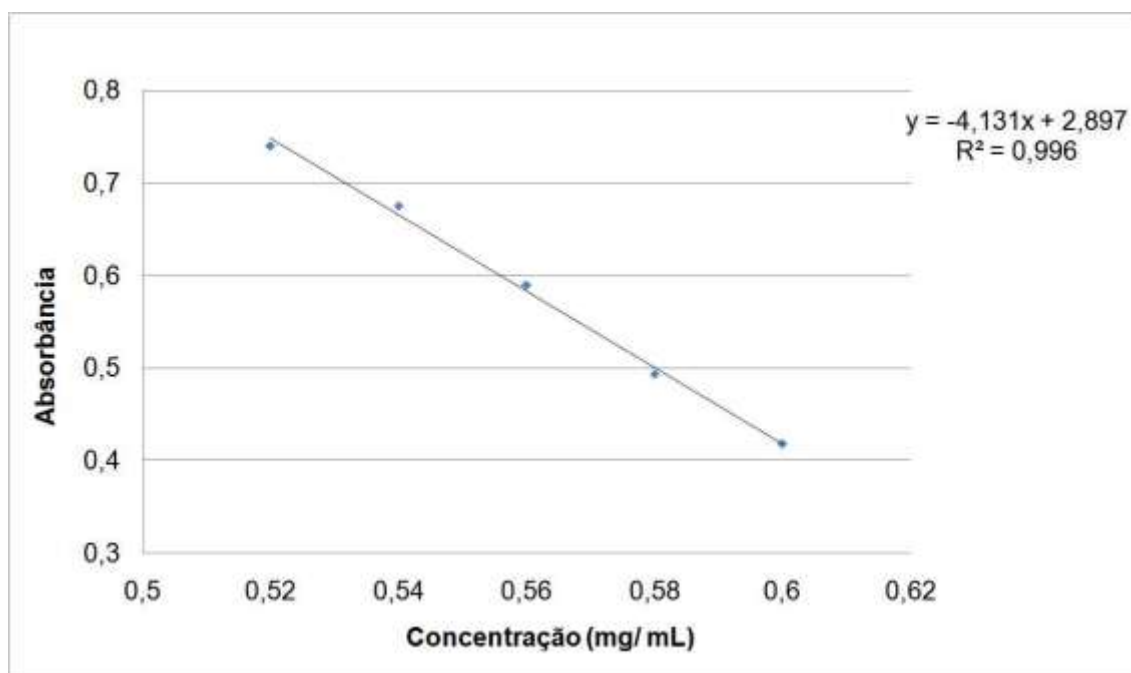
A análise da Figura 25 demonstra que o método espectrofotométrico apresenta linearidade para as concentrações estudadas no intervalo de 0,52 a 0,6 mg/mL. A equação da regressão linear média obtida a partir de três curvas de calibração foi $y = -4,131x + 2,897$, em que Y é a absorbância e X a concentração (mg/mL) em equivalentes de ácido oxálico. O coeficiente de determinação obtido foi $R^2 = 0,996$, comprovando a adequação do método ao intervalo avaliado, levando-se em consideração a complexidade da matriz vegetal (BRASIL, 2003).

O intervalo do método analítico corresponde à faixa do maior ao menor nível que possa ser determinado com precisão e exatidão, utilizando-se a linearidade do método (ICH, 1996). Segundo Brito et al. (2003), considera-se satisfatória a linearidade do gráfico quando o coeficiente de correlação da reta obtida não é estatisticamente diferente de 1 (avaliado pelo teste “t” de Student). Dessa forma quando o valor de coeficiente de correlação do gráfico encontrar-se entre 0,91 e 0,99; observa-se uma correlação linear fortíssima para os dados analisados no intervalo determinado. As reações químicas que ocorrem nos sistemas correspondentes podem ser expressas da seguinte maneira:



O íon permanganato (MnO_4^{-}) apresenta a cor violeta e ao reagir com o íon oxalato ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) forma o MnO (Mn^{2+}) que é incolor em meio ácido. Desta forma pode-se determinar, de modo indireto, a concentração de ácido oxalato presente numa amostra a partir da mensuração da diminuição da absorbância na solução, decorrente da oxidação do carbono presente no íon oxalato, e concomitante redução do manganês presente no íon permanganato. Dessa forma, quanto maior a concentração de ácido oxálico presente na amostra, menores valores de absorbância são observados (SKOOG et al., 1996; VOGUEL, 2011).

Figura 25 – Curva de calibração para o Ácido Oxálico



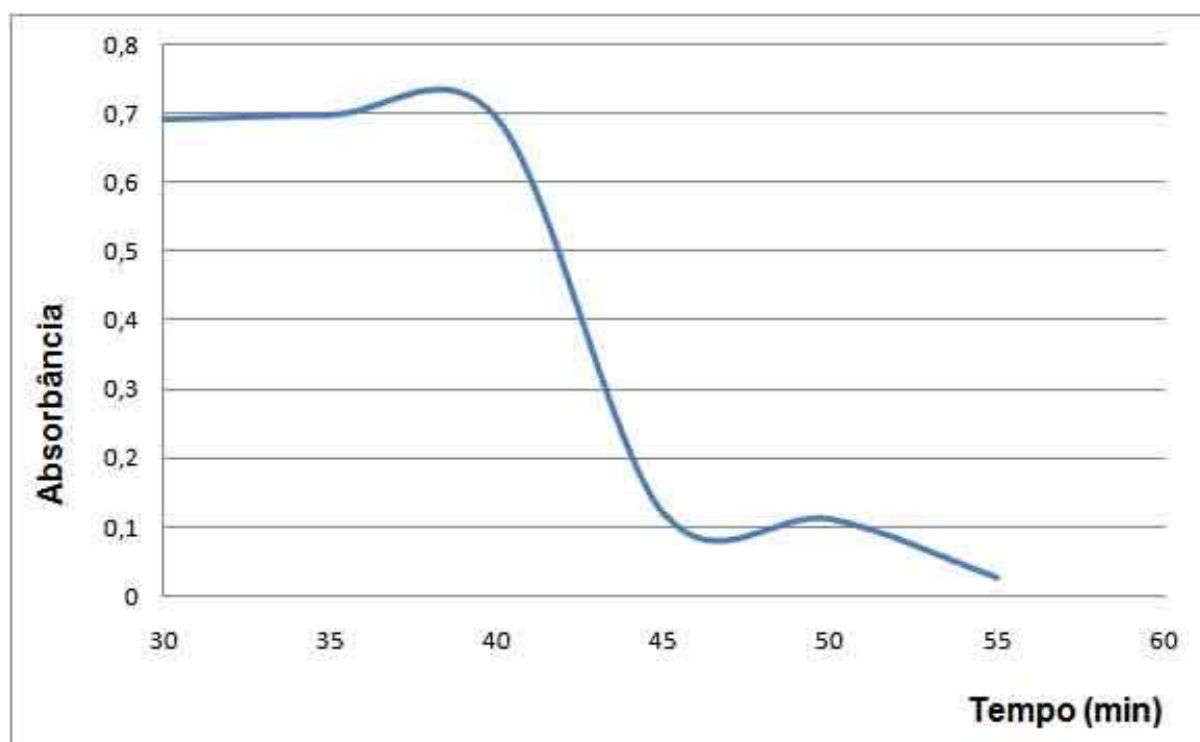
5.4.4 Avaliação da estabilidade da Solução de Leitura (SL)

Entre os parâmetros críticos para a reprodutibilidade de um método analítico observa-se que a estabilidade das soluções apresenta um papel fundamental (Soares, 2003). A partir dos resultados apresentados na Figura 26, observa-se que as leituras realizadas, utilizando-se soluções que possuem um período de armazenamento igual ou superior a quarenta minutos, apresentam uma variação nos valores de absorbância obtidos, demonstrando assim que as soluções permanecem estáveis apenas por este período, tornando-se duvidosos os resultados obtidos com soluções de trabalho que ultrapassem esse tempo. Dessa forma, recomenda-se o uso de soluções de leitura durante este período determinado, a fim de minimizar o erro inerente a instabilidade dos reagentes. Sabe-se que o permanganato é um oxidante forte, capaz de oxidar a água, segundo a reação:



O KMnO_4 não é uma substância estável em soluções aquosas, pois o íon MnO_4^- tende a oxidar a água e se decompõe com exposição à luz, devendo ser estocadas em frascos escuros e padronizadas periodicamente (Dash et al., 2009; Voguel, 2011). Observação semelhante é realizada por Naik et al (2014) ao afirmarem que as soluções reagentes neste tipo de metodologia devem ser preparadas pouco antes de serem utilizadas.

Figura 26 – Estudo de estabilidade da Solução Reagente (SR)



5.4.5 Precisão

A repetibilidade expressa a precisão nas mesmas condições de operação, sejam do equipamento, analista, reagentes, dia e condições ambientais, realizadas em um pequeno espaço de tempo (STUBBERUD e ASTROM, 1998; HUBERT et al., 1999). As análises realizadas demonstram que o método espectrofotométrico realizado é considerado preciso nos dois níveis de ensaios analisados: repetibilidade e precisão intermediária.

Segundo o Guia de Orientação Tripartite para Validação e Procedimentos Analíticos (ICH, 1996), a repetibilidade de um método pode ser avaliada utilizando-se um mínimo de 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada. Desta forma, o procedimento realizado apresentou desempenho dentro dos limites preconizados pela literatura, com coeficiente de variação médio de 1,87% (BRASIL, 2003; BRASIL, 2010) (Tabela 1).

Tabela 1 – Ensaio de repetibilidade do método para o Ácido Oxálico.

	[] (mg/mL)	Ab1	Ab2	Ab3	MÉDIA	D.P.	CV%
Ensaio 1	0,54	0,7	0,702	0,7	0,7007	0,00115	0,1648
	0,56	0,633	0,611	0,624	0,6227	0,01106	1,7763
	0,58	0,523	0,556	0,535	0,538	0,0167	3,1047
Ensaio 2	0,54	0,736	0,738	0,747	0,7403	0,00586	0,7915
	0,56	0,653	0,666	0,649	0,656	0,00889	1,3549
	0,58	0,562	0,531	0,571	0,5547	0,02098	3,7832
Ensaio 3	0,54	0,675	0,673	0,671	0,672	0,00141	0,2104
	0,56	0,576	0,591	0,568	0,5783	0,01168	2,0189
	0,58	0,419	0,449	0,443	0,437	0,01587	3,6326

Para determinação da precisão intermediária foram investigadas as contribuições das variabilidades oriundas da preparação de amostra e dias, de forma simultânea. Assim, três amostras foram submetidas à leitura, com as análises realizadas em triplicata, respeitando-se o tempo de leitura necessário de 20 minutos. O parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra é a precisão do processo analítico, usualmente expressa como o desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (CV) (HUBERT et al., 1999; SOARES et al., 2003). A avaliação dos resultados através do coeficiente de variação demonstrou que pouca interferência pode ser detectada para as variáveis. Enquanto a variação percentual para a preparação das amostras ficou entre 0,9 e 2,4%, a variação observada entre os dias foi de 0,76 a 2,91% (Tabela 2).

Tabela 2 – Ensaio de precisão intermediária do método para o Ácido Oxálico.

	DIA 1	DIA 2	DIA 3
Amostra 1	0,633	0,653	0,671
Amostra 2	0,641	0,650	0,649
Amostra 3	0,630	0,631	0,641
Média	0,635	0,645	0,654
Desvio Padrão	0,0057	0,012	0,0155
CV%	0,8959	1,8656	2,3766
Interdias	0,644 ± 0,011 (1,71 %)		

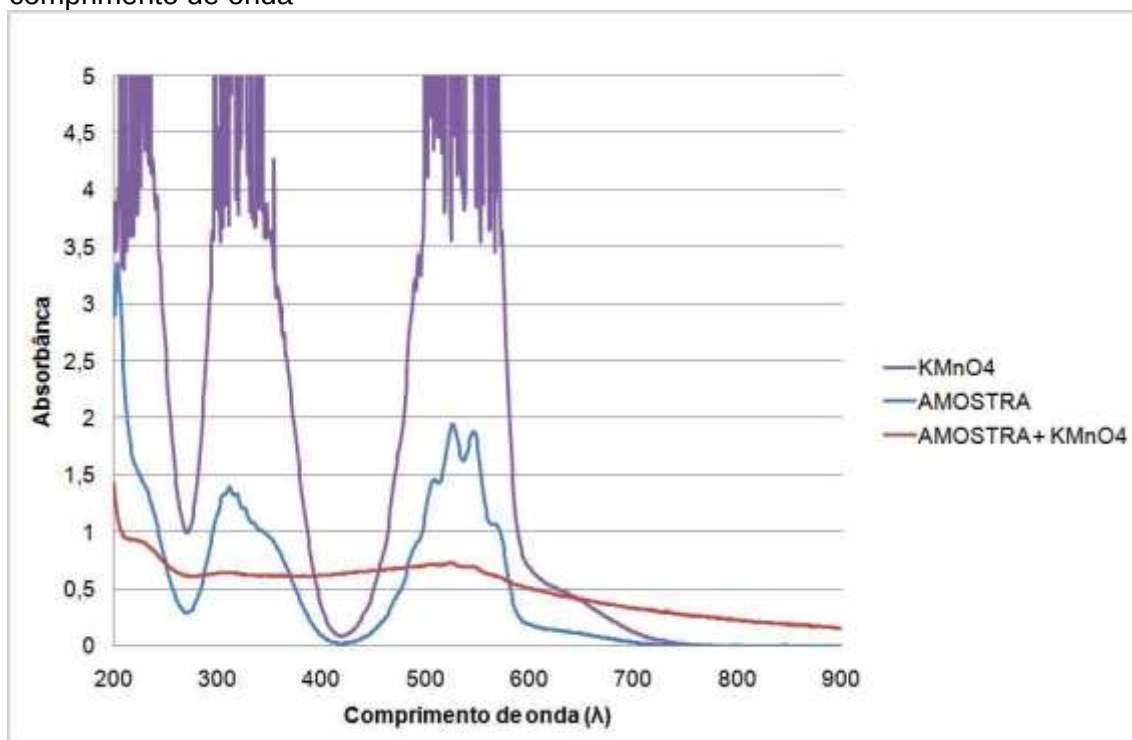
5.4.6 Quantificação de Ácido Oxálico em amostras vegetais.

As etapas aqui descritas referem-se a uma otimização de metodologia proposta por Naik et al. (2014) em seu estudo comparativo de metodologias para determinação de ácido oxálico em tecidos vegetais. Diante disto, a espécie *Avherroa carambola* foi selecionada para determinação do conteúdo deste ácido presente em seus folíolos, uma vez que, diante dos resultados apresentados anteriormente na caracterização botânica e morfoelementar de suas inclusões cristalinas, trata-se de uma espécie que apresenta grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio em seus tecidos.

5.4.7 Seleção do comprimento de onda para leitura da amostra de Avehorroa Carambola L

Os espectros de varredura obtidos para a solução extrativa sem o ácido oxálico e após sua adição, utilizando-se água destilada como compensação, podem ser observados na Figura 27. A partir da análise dos gráficos é possível observar que a adição do padrão de ácido oxálico na amostra promove a formação de um novo e único pico de absorção máxima em 525 nm. Desta forma pode-se observar que o método é específico, demonstrando não haver interferência da matriz no comprimento de onda máxima de absorção observada, útil na determinação do comprimento de onda a ser utilizado para as leituras posteriores.

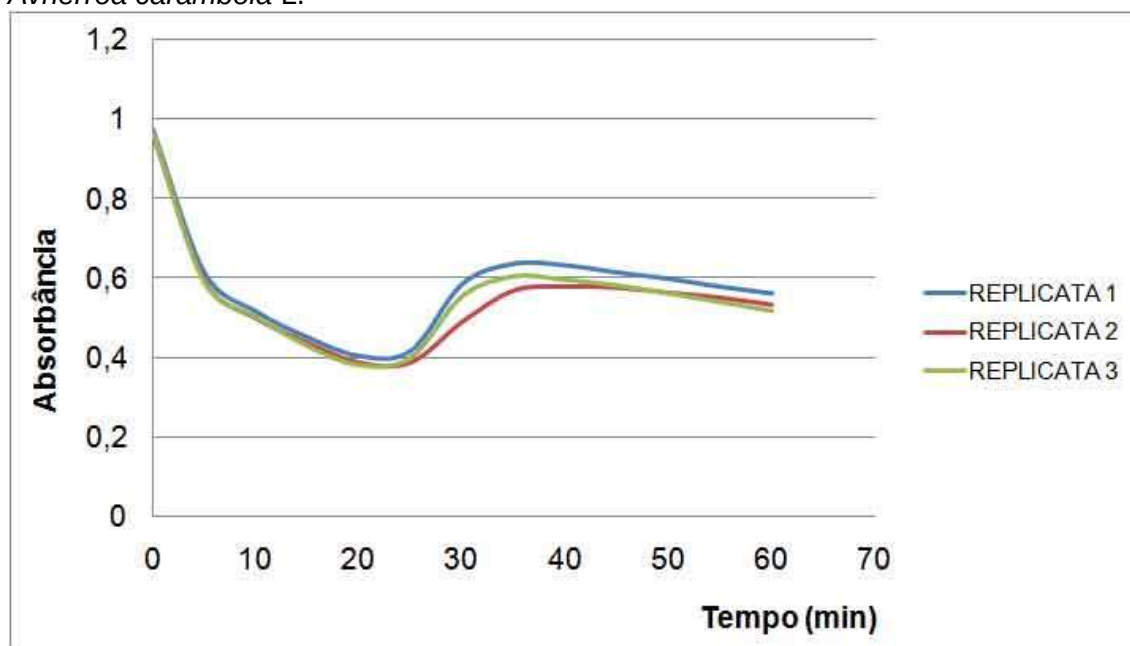
Figura 27 – Varredura dos espectros de absorção na determinação do comprimento de onda



5.4.8 Estudo de cinética reacional para amostra da amostra de *Avehorroa Carambola* L

A fim de se determinar o novo tempo de reação necessário para leitura na matriz biológica, realizou-se um estudo de cinética com a solução extrativa das folhas de *Avherroa carambola* na concentração de 1,55 mg/ mL, em triplicata, onde as absorbâncias foram registradas a cada cinco minutos e os resultados plotados em gráfico (Figura 28). As curvas para a redução do ácido oxálico presente na solução extrativa em um período de uma hora demonstram que somente após um intervalo de 40 minutos ocorre uma maior estabilização nas leituras das absorbâncias, sendo este tomado como tempo de reação necessário para que se efetuem as leituras. Comparando-se com a cinética obtida para o padrão, é possível observar um aumento nesse período, provavelmente decorrente da complexidade da matriz biológica analisada.

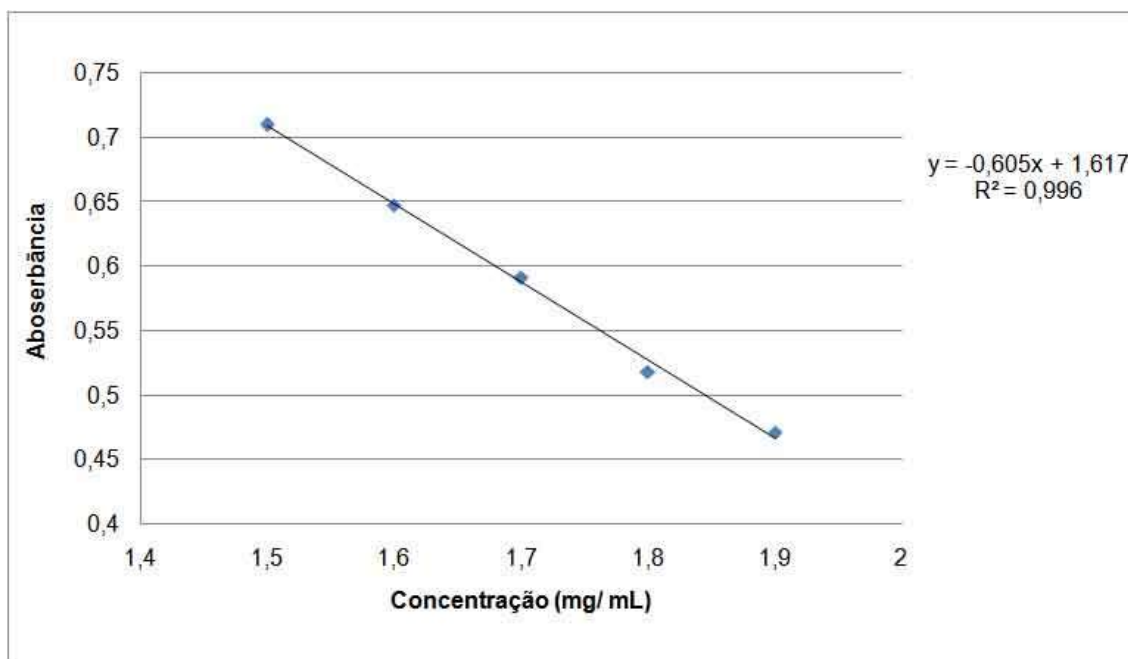
Figura 28 – Estudo de cinética reacional para a a solução extrativa das folhas de *Avherroa carambola* L.



5.4.9 Curva de calibração da amostra de *Avehorroa Carambola* L.

Os resultados obtidos a partir da construção da curva de calibração (Figura 29) denotam o caráter linear dessa distribuição. A equação de regressão para a curva realizada para a solução extrativa da espécie é determinada por $y = -0,605x + 1,617$. As absorbâncias foram determinadas em 525 nm após varredura, demonstra linearidade levando em consideração a complexidade da matriz vegetal. De acordo com a RE 899, o critério mínimo aceitável para o coeficiente de correlação da curva é de 0,99, sendo obtido um valor de 0,996 para o intervalo analisado (BRASIL, 2003).

Figura 29 - Curva de calibração para a solução extrativa das folhas de *Avherroa carambola* L.



A partir da equação de regressão linear obtida, verifica-se que as folhas desta espécie apresentam 1,7 g de ácido oxálico para cada 100g de droga vegetal. Esta espécie pertence à família das oxalidáceas, caracterizadas pela presença de ácido oxálico nas espécies que a compõem. Segundo Moreira et al. (2010), a maioria dos estudos realizados nesta espécie, reportam apenas o conteúdo deste ácido em ensaios realizados com os frutos. Nos que se apresentam mais azedos, os teores de ácido oxálico são mais elevados quando comparados com os frutos mais doces. De acordo com Borel et al. (2014) esta espécie é uma ótima fonte de ácido oxálico, apresentando altos teores, chegando a 1% em peso de massa molhada. Resultados semelhantes foram relatados por Joseph e Mendonça (1991) ao analisarem o suco dos frutos. Estes autores afirmam que os níveis desta substância variam entre 0,5 e 1,7 mg / g (peso úmido), observando-se um decréscimo em sua concentração à medida que os frutos amadurecem. As altas concentrações de ácido oxálico nesta fruta são responsáveis por sua toxicidade.

Moysés Neto et al. (2004) relatam quadros clínicos patológicos caracterizados pelo aparecimento de sintomas neurológicos, relacionados à ingestão de carambola por pacientes que apresentam insuficiência renal crônica. Diversos estudos têm sido realizados, demonstrando o risco que o consumo indiscriminado dessa espécie por pacientes que apresentam algum grau de comprometimento renal pode desenvolver graves quadros patológicos, podendo inclusive evoluir a óbito (CHANG et al., 2000; WANG et al., 2000; YAP et al., 2002; TSE et al., 2003). Estudos realizados demonstram que a formação de cálculos renais estão diretamente relacionados com a presença de altos níveis de oxalato na urina (SCHWILLE et al.; WILSON et al., 1989). Para Robertson (1999) uma das principais causas do incremento nos níveis de oxalato urinário é o aumento na ingestão dessa substância na dieta alimentar.

Com o objetivo de mensurar a quantidade de oxalato ingerido como parte de uma dieta típica, estudos realizados sugerem que a ingestão média diária é de 100 a 150 mg/ dia (HOLMES et al., 2000; SIENER et al., 2003). A recomendação do Manual de Cuidados Nutricionais da *American Dietetic Association* (ADA, 2005) para pacientes com algum comprometimento renal é restringir o oxalato dietético a menos de 40 a 50 mg por dia. Massey (2007)

adverte que a redução na ingestão de ácido oxálico requer inicialmente o conhecimento relativo aos níveis dessa substância nos alimentos. Se por um lado, observa-se a dificuldade de pesquisas que possam fornecer dados a respeito dos níveis de oxalato alimentar, ainda mais escassos são aquelas que relacionam a quantificação dessa substância em plantas utilizadas medicinalmente. Pacientes hipertensos ou diabéticos, que na busca do alívio ou mesmo da cura destas patologias consomem espécies medicinais que apresentem elevados teores de ácido oxálico, podem inconscientemente ocasionar o agravamento de seu quadro clínico, uma vez que apresentam-se fisiologicamente pré-dispostos a nefropatias devido às patologias de base que apresentam.

5.4.10 Exatidão

A exatidão pode ser definida como a correlação verdadeira entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico, constituindo o parâmetro essencial no propósito da validação. O uso de ensaios de recuperação constitui o método mais utilizado para validação dos processos analíticos (SKOOG, 1996; AMARANTE Jr. et al., 2001). Os resultados obtidos a partir da adição de soluções de ácido oxálico com diferentes concentrações, não apresentaram recuperação do analito de interesse. De acordo com González et al. (1999), o erro sistemático ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração ou substâncias interferentes na amostra. Observa-se que estudos referentes ao processo extrativo da amostra se fazem necessários.

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, observa-se que as diferentes técnicas utilizadas nesta pesquisa são consideradas como ferramentas úteis na identificação e caracterização da forma como o ácido oxálico é estocado nos tecidos vegetais, quais os seus exatos sítios de armazenamento e qual a quantidade desta

substância presente nestas espécies utilizadas no tratamento de diabetes e hipertensão, salientando o ineditismo das potencialidades tóxicas que os chás das folhas destas espécies apresentam aos pacientes que as utilizam indiscriminadamente.

Observou-se como perspectiva a necessidade de estudos complementares aos apresentados no que concerne ao estudo e descrição mais aprofundados sobre a forma, arranjo e composição elementar dos cristais de oxalato de cálcio, utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV - EDS). Além disso, estudos relativos à metodologia de extração desses cristais e posterior quantificação, a fim de se diminuir os possíveis interferentes da matriz biológica e obter ensaio de exatidão necessário à validação. Assim, é imperativo o conhecimento a respeito do conteúdo de ácido oxálico presente nas plantas medicinais, uma vez que são amplamente utilizadas pela população como adjuvantes no tratamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis, muitas vezes utilizadas indiscriminadamente, podendo tornar-se potencialmente tóxicas.

REFERÊNCIAS

- ABO, K. A.; OGUNLEYE, V. O.; ASHIDI, J. S. Antimicrobial potential of *Spondias mombin*, *Croton zambesicus* and *Zygotritonia crocea*. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 6, p. 494–497, 1999.
- ABULUDE, F. O. et al. Phytochemical screening of leaves and stem of cashew tree (*Anacardium occidentale*). **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 9, n. 4, p. 815–819, 2010.
- ABUMWEIS, S.; BARAKE, R.; JONES, P. Plant sterols/stanols as cholesterol lowering agents: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Food & nutrition research**, v. 52, n. 1, p. 1811, 2008.
- ACCIOLY, M. P. et al. Leishmanicidal activity in vitro of *Musa paradisiaca* L. and *Spondias mombin* L. fractions. **Veterinary parasitology**, v. 187, n. 1, p. 79–84, 2012.
- ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Anthelmintic activity of extracts of *Spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies in vitro and in vivo. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 3, p. 223–235, 2005.
- AGRA, M. DE F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472–508, 2008.
- AGUILAR, Y. M. et al. Chemical composition and phytochemical screening of leaf and shoot powder of *Anacardium occidentale* L. (cashew tree). **Composición química y tamizaje fitoquímico del polvo de hojas y retoños del Anacardium occidentale L. (marañón)**, v. 17, n. 1, p. 1–10, 2012.
- AI SWARYA, G. et al. Study for anthelmintic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 6, n. 1, p. 44–47, 2011.

- AJIBOLA, E. S. et al. Effect of intragastric administration of crude aqueous leaf extract of *Anacardium occidentale* on gastric acid secretion in rats. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 59–62, 2010.
- AKHLAGHI, M.; BANDY, B. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia--reperfusion injury. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 46, n. 3, p. 309–317, 2009.
- AKINMOLADUN, A. C. et al. Ramipril-like activity of *Spondias mombin* Linn against no-flow ischemia and isoproterenol-induced cardiotoxicity in rat heart. **Cardiovascular toxicology**, v. 10, n. 4, p. 295–305, 2010.
- ALHASSAN, A. M.; AHMED, Q. U. Averrhoa bilimbi Linn.: A review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 8, n. 4, p. 265, 2016.
- ALMA, M. H. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish pistachio (*Pistacia vera* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 12, p. 3911–3914, 2004.
- ALMEIDA, Camila Castelo Branco Rangel de. Estudo Farmacognóstico e Validação de Metodologia Espectrofotométrica para Quantificação de Taninos nas Cascas De *Schinus terebinthifolius* Raddi. 2013.
- ALMEIDA, M. B. D. E. et al. Caracterização física e química do fruto da carambola (*Averroa carambola* L.). **IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**, n. 1, 2009.
- AL-SNAFI, A. E. Nutritional value and pharmacological importance of citrus species grown in Iraq. **Journal of Pharmacy**, v. 6, n. 8, p. 76–108, 2016.
- ALVES LARA SILVA, R. et al. Cultivo de tamarindo sob malhas coloridas: plasticidade anatômica foliar. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, 2015.
- ALVES, L.; MING, L. Chemistry and pharmacology of some plants mentioned in the letter of Pero Vaz de Caminha. **Ethnobiology and Conservation**, v. 3, n. February, p. 1–15, 2015.

- AL-WAHSH, I. A.; WU, Y.; LIEBMAN, M. A comparison of two extraction methods for food oxalate assessment. **Journal of Food Research**, v. 1, n. 2, p. 233, 2012.
- AMARAL, R. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of *Anacardium occidentale* L. flowers in comparison to bark and leaves extracts. **Journal of Bioscience and Medicines**, v. 4, n. April, p. 87–99, 2016.
- AMAZ, E. o 15 Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA 24 e 25 de agosto de 2011 Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. p. 2004–2007, 2011.
- AMELUNXEN, F. Elektronenmikroskopische untersuchungen an den drüsenschuppen von *Mentha piperita* L. 1. **Planta medica**, v. 13, n. 4, p. 457–473, 1965.
- AMORIM, J. L. et al. Anti-inflammatory properties and chemical characterization of the essential oils of four citrus species. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0153643, 2016.
- ANACARDIUM, D. E. P. D. E. et al. Caracterização anatômica e histoquímica de raízes e folhas de plântulas de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 38, n. 2, p. 209–219, 2014.
- ANAKA, O. N.; OZOLUA, R. I.; OKPO, S. O. Effect of the aqueous seed extract of *Persea Americana* Mill (Lauraceae) on the blood pressure of Sprague-Dawley rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 3, n. 10, p. 485–490, 2009.
- ANDERSSON, B. L. et al. Morfoanatomia dossistemas gemíferos de poaia (*Carapichea ipecacuanha* (Brot) L . Andersson) - Rubiaceae Morphoanatomy of Shoot-Bud Forming Root Systems of Poaia. v. 9, n. X, p. 9–17, 2015.
- ANDRIAMANANTENA, R. W. et al. Fatty acid and sterol compositions of Malagasy Tamarind kernel oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 7, p. 1318–1321, 1983.

- ANITHA, R.; SANDHIYA, T. Occurrence of calcium oxalate crystals in the leaves of medicinal plants. **International Journal of Pharmacognosy (Panchkula, India)**, v. 1, n. 6, p. 389–393, 2014.
- ANTIA, B. S. et al. Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana* Mill. **Indian journal of pharmacology**, v. 37, n. 5, p. 325, 2005.
- ANTUNES, T.; SEVINATE-PINTO, I. Glandular trichomes of *Teucrium scorodonia* L. Morphology and histochemistry. **Flora**, v. 185, n. 1, p. 65–70, 1991.
- APORI, S. O. et al. Chemical composition, in sacco degradation and in vitro gas production of some Ghanaian browse plants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 76, n. 1, p. 129–137, 1998.
- ARGYROPOULOU, C. et al. Leaf anatomy and histochemistry of *Lippia citriodora* (Verbenaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 58, n. 5, p. 398–409, 2010.
- ARNOTT, H. J. Three systems of biomineralization in plants with comments on the associated organic matrix. In: **Biological mineralization and demineralization**. [s.l.] Springer, 1982. p. 199–218.
- ARNOTT, H. J.; PAUTARD, F. G. E. Calcification in plants. In: **Biological calcification: Cellular and molecular aspects**. [s.l.] Springer, 1970. p. 375–446.
- ASCENSÃO, L. Estruturas secretoras em plantas: Uma abordagem morfo-anatômica. **Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-Prático**, p. 106–136, 2007.
- ASCENSÃO, L.; PAIS, M. S. Ultrastructure and histochemistry of secretory ducts in *Artemisia campestris* ssp. *maritima* (Compositae). **Nordic journal of botany**, v. 8, n. 3, p. 283–292, 1988.
- ASGARY, S. et al. Clinical investigation of the acute effects of pomegranate juice on blood pressure and endothelial function in hypertensive individuals. **ARYA atherosclerosis**, v. 9, n. 6, p. 326, 2013.

- ASSOCIATION, A. D.; OTHERS. Urolithiasis/ urinary stones. **ADA Nutrition Care Manual. Chicago, IL. USA**, p. 483–486, 2005.
- ASUQUO, O. R. et al. Effects of ethanolic leaf extract of *Spondias mombin* on the pituitary-gonadal axis of female Wistar rats. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v. 2, n. 3, p. 169–173, 2013.
- ASUQUO, R. O. et al. Haematinic Potential of *Spondias Mombin* Leaf Extract in Wistar rats. **Advances in BioResearch**, v. 4, n. June, p. 53–56, 2013.
- ATACEAE, B. A. B. Systematic Position of. v. 92, n. 4, p. 752–760, 2005.
- ATAWODI, S. E. et al. Indigenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 279–282, 2002.
- ATLÂNTICA, D. M. Anatomia foliar de Rubiaceae ocorrentes em fragmento florestal. v. 43, n. 2, p. 173–182, 2016.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. [s.l.] Artmed, 2008.
- AVIRAM, M. et al. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 3, p. 1148–1157, 2008.
- AYOKA, A. O. et al. Medicinal and economic value of *Spondias mombin*. **African Journal Biomedical Research**, v. 11, n. 2, p. 129–136, 2008.
- AYOKA, A. O. et al. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 166–175, 2006.
- AZANCHI, T.; SHAFAROODI, H.; ASGARPANAHI, J. Anticonvulsant activity of *Citrus aurantium* blossom essential oil (neroli): involvement of the GABAergic system. **Natural product communications**, v. 9, n. 11, p. 1615–1618, 2014.

- AZEEM, A. K. et al. Hepatoprotective effect of Averrhoa carambola fruit extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 8, p. 610–613, 2010.
- AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G. M.; BRUNO, R. L. A. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* raddi, anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 1, p. 95–102, 2015.
- AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G. M.; BRUNO, R. L. A. Pharmacobotanical study of the aerial parts of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 1, p. 26–35, 2015.
- B.E., P.; H.B.C., R. Phenology, growth, and response to light of ciruelamexicana (*Spondias purpurea* L., Anacardiaceae). **Econ.Bot.**, v. 57, n. 4, p. 481–490, 2003.
- B.S. ANTIA, J.E. OKOKON, P. A. O. Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana* Mill. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 37, n. 5, p. 325–326, 2005.
- BAILÃO, E. F. L. C. et al. Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 23760–23783, 2015.
- BAKER, E. A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: **Linnean Society symposium series**. 1982.
- BAKKOUR, Y. et al. Chemical analysis of the essential oils from *Punica granatum*, *Vitis vinifera* and *Cucurbita maxima* seeds growing in Lebanon by GC/MS. **Journal of Natural Products**, v. 4, p. 71–74, 2011.
- BARAN, E. J. Plant Physiology, v. 128, n. 2, p. 707–713, 2015. BARBOSA, D. A. **Avaliação fitoquímica e farmacológica de Genipa americana L. (Rubiaceae)**. [s.l.] Dissertação (mestrado), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

- BARBOSA, D. DE A. Avaliação Fitoquímica e Farmacológica de *Genipa americana* L. (RUBIACEAE). **Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro**, p. 115, 2008.
- BARBOSA, M. R. et al. Rubiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.
- BARRION, A. S. A. et al. Phytochemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Properties of Pummelo againsts *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, n. April, p. 749–758, 2014.
- BARROS, M. P. et al. Constituintes químicos e avaliação do potencial antiinflamatório e antioxidante de extratos das folhas de *Chomelia obtusa* Cham. & Schltdl. (Rubiaceae). **Quim Nova**, v. 31, n. 8, p. 1987–1989, 2008.
- BARTHLOTT, W. et al. Classification, and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical journal of the Linnean society**, v. 126, n. 3, p. 237–260, 1998.
- BASTOS, D. C. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Propagação da caramboleira por estacas caulinares e caracterização anatômica e histológica da formação de raízes adventícias Débora Costa Bastos Piracicaba 2006. 2006.
- BASTOS, Débora Costa. **Propagação da caramboleira por estacas caulinares e caracterização anatômica e histológica da formação de raízes adventícias**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- BENDAHA, H. et al. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of peel essential oils of citrus aurantium grown in Eastern Morocco. **Der Pharmacia Lettre**, v. 8, n. 4, p. 239–245, 2016.
- BERCU, Rodica. COMPARATIVE MORPHOMETRIC AND ANATOMICAL ASPECTS OF THREE CITRUS L. SPECIES (RUTACEAE) FRUITS. **Annales of West University of Timisoara. Series of Biology**, v. 19, n. 1, p. 49, 2016.

- BERCU, Rodica. COMPARATIVE MORPHOMETRIC AND ANATOMICAL ASPECTS OF THREE CITRUS L. SPECIES (RUTACEAE) FRUITS. **Annales of West University of Timisoara. Series of Biology**, v. 19, n. 1, p. 49, 2016.
- BERGERMAN, J.; ELLIOT, J. S. Method for direct colorimetric determination of oxalic acid. **Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 1014–1015, 1955.
- BHAT, R. et al. Quality attributes of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) juice treated with ultraviolet radiation. **Food Chemistry**, v. 127, n. 2, p. 641–644, 2011.
- BHUTKAR, M. A. et al. Hypoglycemic effects of *Berberis aristata* and *Tamarindus indica* extracts in vitro. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 55, n. 1, p. 91–94, 2016.
- BICAS, J. L. et al. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1843–1855, 2011.
- BIONDO, E.; SFFOGGIA MIOTTO, S. T.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Citogenética de espécies arbóreas da subfamília Caesalpinioideae-Leguminosae do sul do Brasil. **Ciência Florestal**, v. 15, n. 3, 2005.
- BOEGER, M. R. T. et al. Variabilidade morfológica foliar de *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin (Melastomataceae) em diferentes fitofisionomias no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 3, p. 443–452, 2008.
- BORELLA, J. et al. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea americana* Mill. sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 3, p. 260–265, 2009.
- BORGES, E. S.; REZENDE, C. M. Main aroma constituents of genipap (*Genipa americana* L.) and bacuri (*Platonia insignis* M.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 1, p. 71–74, 2000.
- BORTOLOTTI, L. A. Hipertensão arterial e insuficiência renal crônica. **Rev Bras Hipertens**, v. 15, n. 3, p. 152–155, 2008.

- BOSABALIDIS, A. M. Anatomical, histochemical and ultrastructural features of cell wall modifications in the secreting oil glands of *Citrus deliciosa* Ten. The microscopical study of oil glands in the fruit peel of *Citrus* species had begun in the late 19th century (Martin. **Biharean Biologist**, v. 4, n. 2, p. 99–102, 2010.
- BOSABALIDIS, A.; TSEKOS, I. Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* ten. II. Development of the essential oil-accumulating central space of the gland and process of active secretion. **Protoplasma**, v. 112, n. 1, p. 63–70, 1982.
- BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of plant pathology**, p. 7–37, 2006.
- BRAGATTO, J. Avaliação da composição química da parede celular de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) que superexpressam o gene *ugdh* de soja, que codifica a enzima UDP-glicose desidrogenase (EC 1.1.1.22). p. 73, 2007.
- BRAI, B. I. C.; ODETOLA, A. A.; AGOMO, P. U. Hypoglycemic and hypocholesterolemic potential of *Persea americana* leaf extracts. **Journal of medicinal food**, v. 10, n. 2, p. 356–360, 2007.
- BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 5^a ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, , 2010.
- BRASIL. **Resolução RE nº899 de 29/5/2003; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02/06/2003, seção 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprova Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**, 2003.
- BRASIL. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. ANVISA- **Resolução RE n 899, 29 de maio de 2003**, p. 1–15, 2003.
- BRITO, H. R. DE. **Caracterização química de óleos essenciais de *Spondias mombin* L., *Spondias purpurea* L. e *Spondias* sp (cajarana do sertão)**. 2010. 67 f. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)--Centro de

Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos--PB, 2010.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão.

Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 13, 2003.

BRITO, N. M. **Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e**

organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação.

São Paulo. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Estadual Paulista, 2001.

BRONZI, L. M.; OTHERS. Estudo da anatomia foliar de dois cultivares de

Citrus sinensis (L.) Osbeck (Rutaceae): Cv. Folha murcha e Cv. Pera. 1981.

CABRAL, A. S. **Insuficiência Renal: O que você precisa saber sobre insuficiência renal - Sociedade Brasileira de Nefrologia**, 2014.

ÇALIŞKAN, M. The metabolism of oxalic acid. **Turkish Journal of Zoology**, v.

24, n. 1, p. 103–106, 2000.

CAMPBELL, C. W.; SAULS, J. W. Spondias in Florida. **University of Florida**,

n. April, p. 1–4, 2005.

CAÑIZARES CHACÍN, A. E.; SANABRIA, M. E.; ROJAS, E. Anatomía del tallo

de lima Tahiti (Citrus latifolia Tanaka). **Revista Científica UDO Agrícola**, v.

7, n. 1, p. 221–227, 2007.

CAÑIZARES CHACÍN, A. E.; SANABRIA, M. E.; ROJAS, E. Stem Anatomy of

Tahitian Lime (Citrus Latifolia Tanaka). **Revista Científica UDO Agrícola**, v.

7, n. 1, p. 221–227, 2007.

CAÑIZARES, A.; SANABRÍA, M.; ROJAS, E. Anatomy of the Tahiti Lime Leaf

(Citrus Latifolia Tanaka). **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 5, n. 1, p. 68–

73, [s.d.].

CAÑIZARES, Adolfo; SANABRÍA, Marielena; ROJAS, Eybar. Anatomy of the

Tahiti Lime Leaf (Citrus Latifolia Tanaka). **Revista Científica UDO Agrícola**,

v. 5, n. 1, p. 68-73.

- CANUTO, G. A. B. et al. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, 2010.
- CARMELLO, S. M.; MACHADO, S. R.; GREGÓRIO, E. A. Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.(Anacardiaceae). **Revta bras. Bot**, v. 18, p. 95–103, 1995.
- CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; PAOLI, A. A. S. Ontogeny and structure of the pericarp of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 73–79, 2002.
- CARRILLO-OCAMPO, D. et al. Anti-inflammatory activity of iridoids and verbascoside isolated from *Castilleja tenuiflora*. **Molecules**, v. 18, n. 10, p. 12109–12118, 2013.
- CARVALHO, E. B. T. DE et al. Characterization of constituents, quality and stability of pomegranate seed oil (*Punica granatum* L.). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 36, n. 1, p. 132–139, 2016.
- CARVALHO-FREITAS, M. I. R.; COSTA, M. Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, n. 12, p. 1629–1633, 2002.
- CASQUETE, R. et al. Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 31, p. 37–44, 2015.
- CAZAROLLI, L. H. Caracterização de compostos naturais e avaliação da atividade insulino-mimética em tecidos alvos da insulina em estudos in vivo e in vitro. 2009.
- CAZAROLLI, Luisa Helena et al. Anti-hyperglycemic action of apigenin-6-C- β -fucopyranoside from *Averrhoa carambola*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 7, p. 1176–1183, 2012.

- CHACKO, C. M.; ESTHERLYDIA, D. Antimicrobial evaluation of jams made from indigenous fruit peels. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 1, p. 202–207, 2014.
- CHAI, W.-M. et al. Avocado proanthocyanidins as a source of tyrosinase inhibitors: Structure characterization, inhibitory activity, and mechanism. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 33, p. 7381–7387, 2015.
- CHANDA, S.; BHAYANI, D.; DESAI, D. Polyphenols, and Flavonoids of Twelve Indian Medicinal Plants. **The Bioscan**, v. 8, n. 2, p. 595–601, 2013.
- CHANDLER, W. H.; OTHERS. **Frutales de hojaperenne**. 1962.
- CHANG, J.-M. et al. Fatal outcome after ingestion of star fruit (Averrhoa carambola) in uremic patients. **American journal of kidney diseases**, v. 35, n. 2, p. 189–193, 2000.
- CHARTZOULAKIS, K. et al. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Scientia horticulturae**, v. 95, n. 1, p. 39–50, 2002.
- CHISOM, I. F.; N, O. C.; U, O. C. A comparative foliar anatomical and morphological study on Anacardium occidentale L. and Spondias mombin L. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 2, n. 2, p. 150–153, 2014.
- COELHO, V. P. DE M.; AGRA, M. DE F.; BARBOSA, M. R. DE V. Estudo farmacobotânico das folhas de Tocoyena formosa (Cham. & Schltdl.) K.Schum. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 170–177, 2006.
- CORRÊA, M. P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. In: **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. [s.l.] Imprensa Nacional Brasília, 1984. CORRÊA, M. M. et al. Helieae). p. 5–8, 2014.

- CORRÊA, P. G.; DAS CHAGAS, M. DAS G. S.; DE MENDONÇA PIMENTEL, R. M. Anatomia foliar de *Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl.(Ochnaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. pg--813, 2008.
- CORREIA, S. DE J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287–1300, 2006.
- CORTHOUT, J. et al. Antiviral ellagitannins from *Spondias mombin*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 4, p. 1129–1130, 1991.
- COSTA, A. et al. Essential Oils from *Citrus latifolia* and *Citrus reticulata* Reduce Anxiety and Prolong Ether Sleeping Time in Mice. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 121–124, 2008.
- COSTA, L. M. DA et al. Extraction and concentration of biogenic calcium oxalate from plant leaves. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 3, p. 729–733, 2009.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. [s.l.] Columbia University Press, 1981.
- CUMPSTON, K. L. et al. Acute airway compromise after brief exposure to a *Dieffenbachia* plant. **The Journal of emergency medicine**, v. 25, n. 4, p. 391–397, 2003.
- CUNHA, A. P.; SALGUEIRO, L.; ROQUE, O. R. Alcalóides-aspectos gerais. **Cunha, AP**, p. 670, 2005.
- CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia Vegetal: uma abordagem aplicada**. [s.l.] Artmed Editora, 2009.
- CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**. [s.l.] Roca, 1986.
- DA CONCEIÇÃO, A. O. et al. *Genipa americana* (Rubiaceae) fruit extract affects mitogen-activated protein kinase cell pathways in human trophoblast-derived BeWo cells: implications for placental development. **Journal of medicinal food**, v. 14, n. 5, p. 483–494, 2011.

- DA ROCHA SILVA, I. G.; TAKEMURA, O. S. Aspectos de intoxicações por *Dieffenbachia ssp* (Comigo-ninguém-pode)-Araceae. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 5, n. 2, 2006.
- DA ROSA, E. A. et al. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 484–488, 2010.
- DA SILVA FIGUEIREDO, A. C. et al. Histoquímica e Citoquímica em Plantas: Princípios e Protocolos. **Cell. Res**, v. 11, p. 640–643, [s.d.].
- DAHAKA, A. P. et al. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. leaves. **International Journal of ChemTech Research**, v. 1, n. 4, p. 856–858, 2009.
- DANDO, I. et al. UCP2 inhibition trigger ROS-dependent nuclear translocation of GAPDH and autophagic cell death in pancreatic adenocarcinoma cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1833, n. 3, p. 672–679, 2013.
- DAS, B. N.; AHMED, M. Analgesic activity of the fruit extract of *Averrhoa carambola*. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research**, v. 1, n. 3, p. 22–26, 2012.
- DAS, B. N.; AHMED, M. Antibacterial and Cytotoxic Activities of the Fruit Extract of *Averrhoa carambola*. v. 2, n. 3, p. 58–61, 2012.
- DASH, S.; PATEL, S.; MISHRA, B.K. Oxidation by permanganate: synthetic and mechanistic aspects. *Tetrahedron*, v. 65, n. 4, 2009.
- DAVID RAND CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif nadi. **CR Acad Sci Paris D**, v. 258, p. 1338–1340, 1964.
- DE ALMEIDA, E. F. et al. Leaf anatomy of *Xylopia* L.(Annonaceae), occurring in Ecological Park of Gunma, Santa Bárbara, Pará State. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais**, v. 4, n. 2, p. 175–194, 2009.

- DE ALMEIDA, R. N. et al. Essential oils and their constituents: Anticonvulsant activity. **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2726–2742, 2011.
- DE AMARANTE JUNIOR, O. P. et al. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. **Cadernos de Pesquisa**, v. 2, p. 116–131, 2001.
- DE LIMA, H. C. Leguminosas da Flora Fluminensis—JM da C. Vellozo—Lista atualizada das espécies arbóreas. **Acta Bot. Bras**, v. 9, n. 1, p. 123–146, 1995.
- DE OLIVEIRA, D. M.; DA SILVA, I. V.; ROSSI, A. A. B. Estudo anatômico foliar de espécies de Citrus com potencial medicinal. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, 2014
- DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. [s.l.] EdIPUCRS, 2007.
- DEMBITSKY, V. M. et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1671–1701, 2011.
- DEMIRAY, H. Calcium oxalate crystals of some Crataegus (Rosaceae) species growing in Aegean region. **Biologia**, v. 62, n. 1, p. 46–50, 2007.
- DENG, Y. et al. Geniposide inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. **International immunopharmacology**, v. 17, n. 3, p. 561–567, 2013.
- DHANAVADE, M. J. et al. Study Antimicrobial Activity of Lemon (Citrus lemon L.) Peel Extract. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2, n. 3, p. 119–122, 2011.
- DHINESH BABU, K. Floral Biology of Pomegranate (Punica granatum L.). **Global Science Books**, 2010.
- DIAS SOUZA, R. K.; ALCANTARA MORAIS MENDONÇA, A. C.; PESSOA DA SILVA, M. A. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos de

- espécies de Rubiaceae no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 1, p. 140–156, 2013.
- DICKISON, W. C. **Integrative plant anatomy**. [s.l.] Academic Press, 2000.
- DIGHE, N. S. et al. Analgesic activity of Tamarindus indica. **Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 1, n. 1, p. 69–71, 2009.
- DOS SANTOS, M. R. A.; DE LIMA, M. R.; FERREIRA, M. Uso de plantas medicinais pela população de Ariquemes, em Rondônia. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 244–250, 2008.
- DOSS, Vijayakumar Arul; THANGAVEL, Kalaichelvan Puthupalayam. Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of anacardium occidentale L. 2011.
- DUARTE, Márcia do Rocio et al. ANATOMIA FOLIAR COMPARADA DE ESPÉCIES DE AROEIRA: Myracrodruon urundeuva ALLEMÃO E Schinus terebinthifolius RADDI ANATOMIA FOLIAR COMPARADA DE ESPÉCIES DE AROEIRA: Myracrodruon urundeuva ALLEMÃO E Schinus terebinthifolius RADDI. **Visão Acadêmica**, v. 10, n. 1, 2009.
- DUARTE, O. R. et al. Ocorrência e distribuição geográfica do Taperebá (Spondias mombin L.) em Roraima. **21 Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 2010.
- DUNITZ, J. D. Are crystal structures predictable? **Chemical Communications**, n. 5, p. 545–548, 2003.
- DUVALL, C. S. On the origin of the tree Spondias mombin in Africa. **Journal of Historical Geography**, v. 32, n. 2, p. 249–266, 2006.
- DZAMIC, A. et al. Essential oil composition of Anacardium occidentale from Nigeria. **Chemistry of natural compounds**, v. 45, n. 3, p. 441–442, 2009.
- DZEUFLET, P. D. D. et al. Antihypertensive potential of the aqueous extract which combine leaf of Persea americana Mill.(Lauraceae), stems and leaf of Cymbopogon citratus (DC) Stapf.(Poaceae), fruits of Citrus medica

- L.(Rutaceae) as well as honey in ethanol and sucrose experimental model. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 507, 2014.
- EDEM, D. O. Antihyperlipidemic effects of ethanolic extracts of alligator pear seed (*Persea Americana* Mill) in alloxan-induced diabetic rats. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 901–908, 2010.
- EDEOGA, H. O.; ERIATA, D. O. Alkaloid, tannin and saponin contents of some Nigeria medicinal plants. **J. Med. Aromatic Plant Sci**, v. 23, p. 344–349, 2001.
- ERBANO, M.; DUARTE, M. R. Leaf and stem morpho-anatomy of *Genipa americana* L., Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 825–832, 2010.
- ERBANO, M.; DUARTE, M. R. Morfoanatomia de folha e caule de *Genipa americana* L., Rubiaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 825–832, 2010.
- ES, O.; JUSTINA, E.; SCHLEDER, D. No Title. v. 1, 2013. ESAU, K. Anatomy of Seed Plants. 2^{ed}. **New York**, 1977.
- ESAU, K.; OTHERS. Plant anatomy. **Plant Anatomy**, n. 2nd Edition, 1965.
- ESCALONA-ARRANZ, J. C. et al. Antimicrobial activity of extracts from *Tamarindus indica* L. leaves. **Pharmacognosy magazine**, v. 6, n. 23, p. 242, 2010.
- ETXEBERRIA, E.; NARCISO, C. Phloem Anatomy of Citrus Trees: Healthy vs. Greening-affected. **Proc. Fla. State Hort. Soc**, v. 125, p. 1–4, 2012.
- EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development**. [s.l.] Wiley, 2006.
- EZEJIOFOR, A. N.; OKORIE, A.; ORISAKWE, O. E. Hypoglycaemic and tissue-protective effects of the aqueous extract of *Persea americana* seeds on

- alloxan-induced albino rats. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 20, n. 5, p. 31, 2013.
- FAA, G. Doenças crônicas não transmissíveis: estratégias de controle e desafios para os sistemas de saúde. **Brasília: Organização pan-americana da saúde**, 2011.
- FAGBOHUN, T. R.; ODUFUNWA, K. T. Hypoglycemic effect of methanolic extract of *Anacardium occidentale* leaves in alloxan-induced diabetic rats. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 87–90, 2010.
- FAHEED, F.; MAZEN, A.; ELMOHSEN, S. A. B. D. Physiological and ultrastructural studies on calcium oxalate crystal formation in some plants. **Turkish Journal of Botany**, v. 37, n. 1, p. 139–152, 2013.
- FAHN, A.; OTHERS. **Plant anatomy**. [s.l.] Pergamon Press, 1982.
- FAHN, A.; OTHERS. **Secretory tissues in plants**. [s.l.] Academic Press., 1979.
- FANG, H. C. et al. The role of oxalate in star fruit neurotoxicity of five-sixths nephrectomized rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 9, p. 1764–1769, 2007.
- FAVELA-HERNÁNDEZ, J. et al. Chemistry and Pharmacology of *Citrus sinensis*. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 247, 2016.
- FERHAT, M.; KABOUCHE, A.; KABOUCHE, Z. Comparative compositions of essential oils of three *ruta* species growing in different soils. **Journal of Materials and Environmental Science**, v. 5, n. 3, p. 735–738, 2014.
- FERNANDA, A. et al. Monitorado Por Bioensaios Simples. 2004.
- FERNANDES, Aline Gurgel. **Utilização de métodos multivariados na avaliação sensorial de bebidas de goiaba, caju e cajá adoçadas com diferentes edulcorantes**. 2013. Tese de Doutorado.
- FILHO, R. B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010.

- FOLIAR, M. et al. Morfoanatomia foliar de. p. 759–767, [s.d.]. FORZZA, R. C. et al. Catálogo de plantas e fungos do Brasil. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**, 2010.
- FRANCESCHI, V. R.; HORNER, H. T. Calcium oxalate crystals in plants. **The Botanical Review**, v. 46, n. 4, p. 361–427, 1980.
- FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 56, p. 41–71, 2005.
- FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 56, p. 41–71, 2005.
- FRED-JAIYESIMI, A. A.; WILKINS, M. R.; ABO, K. A. Hypoglycaemic and amylase inhibitory activities of leaves of *Spondias mombin* Linn. **African journal of medicine and medical sciences**, v. 38, n. 4, p. 343–349, 2009.
- FRIED, N. T. et al. Functional mitochondrial analysis in acute brain sections from adult rats reveals mitochondrial dysfunction in a rat model of migraine. **AJP: Cell Physiology**, v. 307, n. 11, p. C1017--C1030, 2014.
- GALLARDO, Luis Hermoso; JIMÉNEZ, Marcia Escala. ANATOMÍA FOLIAR DE *PILOCARPUS GOUDOTIANUS* TUL.(RUTACEAE)/Leaf anatomy of *Pilocarpus goudotianus* Tul.(Rutaceae). **Caldasia**, p. 269-275, 2002.
- GALLETI, S. R. Introdução à microscopia eletrônica. **Biológico, São Paulo**, v. 65, n. 1/2, p. 33–35, 2003.
- GAO, Chong et al. Geniposide Ameliorates Learning Memory Deficits, Reduces Tau Phosphorylation and Decreases Apoptosis via GSK3 β Pathway in Streptozotocin-Induced Alzheimer Rat Model. **Brain pathology**, v. 24, n. 3, p. 261-269, 2014.
- GEISSMAN, T. A. **The chemistry of flavonoid compounds**. [s.l.] Oxford, London, New York, Paris.: Pergamon Press, 1962.

- GHEEWALA, P. et al. Phytochemical and pharmacological profile of Averrhoa carambola Linn: An overview. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 1, p. 88–92, 2012.
- GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 395–406, 2010.
- GOMATHINAYAGAM, S.; TEWARI, B. B.; REKHA, G. Heavy Metal and Phytochemical Studies of Crude Leaf Extract of Tamarind (Tamarindus indica). v. 7, n. 1, p. 1–4, 2017.
- GOMES, D. M. S.; DE JESUS NEVES, L. Anatomia foliar de *Gomidesia spectabilis* (DC) Berg. e *Gomidesia nitida* (Vell.) Legr.(Myrtaceae). **Rodriguésia**, p. 51–70, 1993.
- GOMES, R. et al. Estudo morfoanatômico comparativo entre a poaia (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes-Rubiaceae) obtida da região Amazônica (habitat original) e proveniente de processo biotecnológico submetida a diferentes tratamentos de interceptação da radiação solar. **Rev Bras Farmacogn**, v. 19, p. 276–283, 2009.
- GONZÁLES, W. L. et al. Induction of glandular and non-glandular trichomes by damage in leaves of *Madia sativa* under contrasting water regimes. **actaoecologica**, v. 33, n. 1, p. 128–132, 2008.
- GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. A.; ASUERO, A. G. Intra-laboratory testing of method accuracy from recovery assays. **Talanta**, v. 48, n. 3, p. 729–736, 1999.
- GOUTHAMAN, T. et al. A review on *Semecarpus anacardium* L: An anticancer medicinal plant. **Recent Progress in Medicinal Plants**, v. 19, p. 193-222, 2008.
- GUALDANI, R. et al. **The Chemistry and Pharmacology of Citrus Limonoids**. [s.l: s.n.]. v. 21

- GUAN, L. et al. Genipin ameliorates age-related insulin resistance through inhibiting hepatic oxidative stress and mitochondrial dysfunction. **Experimental gerontology**, v. 48, n. 12, p. 1387–1394, 2013.
- GUEDES, A. DA S. Contribuição ao estudo farmacognóstico das espécies medicinais *Averrhoa bilimbi* L. e *Poiretia bahiana* C. Muller. 2009.
- Guedes, A.S. Contribuição ao estudo farmacognóstico das espécies medicinais *Averrhoabilimbi* L. e *Poiretia bahiana* C. Muller. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação do Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia. 2009.
- GUSSONI, A. C. P. et al. Larvicidal activity of *Anacardium occidentale* as an alternative to control *Aedes aegypti* and its toxicity in *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 3, p. 363–367, 2013.
- HAJIBAGHERI, M. A.; HALL, J. L.; FLOWERS, T. J. the Structure of the Cuticle in Relation To Cuticular Transpiration in Leaves of the Halophyte *Suaeda Maritima* (L.) Dum. **New Phytologist**, v. 94, n. 1, p. 125–131, 1983.
- HALLAM, N. D. **An electron microscope study of the leaf waxes of the genus *Eucalyptus* L'Heritier**. [s.l.] University of Melbourne, Office of Research, 1967.
- HAMMOND, C.; HAMMOND, C. **Basics of crystallography and diffraction**. [s.l.] Oxford, v. 214, 2001.
- HARBORNE, A. J. **Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis**. [s.l.] springer science & business media, 1998.
- HE, H. et al. Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia roborum* (Leguminosae: Mimosoideae). **Annals of botany**, v. 109, n. 5, p. 887–896, 2012.
- HE, H. et al. Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia roborum* (Leguminosae: Mimosoideae). **Annals of botany**, v. 109, n. 5, p. 887–896, 2012.

- HEBER, David; SCHULMAN, Risa N.; SEERAM, Navindra P.
(Ed.). **Pomegranates: ancient roots to modern medicine**. CRC press,
2006.
- HEWITT, J. D.; CASEY, L. L.; ZOBEL, R. W. Effect of day length and night
temperature on starch accumulation and degradation in soybean. **Annals of
botany**, v. 56, n. 4, p. 513–522, 1985.
- HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-TERESA, S.
Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity.
Food chemistry, v. 121, n. 3, p. 691–696, 2010.
- HIRATA, T. et al. Anti-obesity compounds in green leaves of *Eucommia
ulmoides*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 21, n. 6, p. 1786–
1791, 2011.
- HOLLAND, D.; HATIB, K.; BAR-YA'AKOV, I. Pomegranate: Botany,
Horticulture, Breeding. **Horticultural Reviews**, v. 35, p. 127–191, 2009.
- HOLMES, R. P.; ASSIMOS, D. G. The impact of dietary oxalate on kidney stone
formation. **Urological research**, v. 32, n. 5, p. 311–316, 2004.
- HOLMES, R. P.; GOODMAN, H. O.; ASSIMOS, D. G. Contribution of dietary
oxalate to urinary oxalate excretion. **Kidney international**, v. 59, n. 1, p.
270–276, 2001.
- HOLMES, R. P.; KENNEDY, M. Estimation of the oxalate content of foods and
daily oxalate intake. **Kidney international**, v. 57, n. 4, p. 1662–1667, 2000.
- HÖNOW, R.; BONGARTZ, D.; HESSE, A. An improved HPLC-enzyme-reactor
method for the determination of oxalic acid in complex matrices. **Clinica
chimica acta**, v. 261, n. 2, p. 131–139, 1997.
- HÖNOW, R.; HESSE, A. Comparison of extraction methods for the
determination of soluble and total oxalate in foods by HPLC-enzyme-reactor.
Food chemistry, v. 78, n. 4, p. 511–521, 2002.

- HOPKINS, W. G.; OTHERS. **Introduction to plant physiology**. [s.l.] John Wiley and Sons, 1999.
- HORNER JR, H. T.; WAGNER, B. L. The association of druse crystals with the developing stomium of *Capsicum annuum* (Solanaceae) anthers. **American Journal of Botany**, p. 1347–1360, 1980.
- HORNER, H. T. Peperomia leaf cell wall interface between the multiple hypodermes and crystal-containing photosynthetic layer displays unusual pit fields. **Annals of Botany**, v. 109, n. 7, p. 1307–1315, 2012.
- HORNER, H. T.; WANKE, S.; SAMAIN, M. S. A comparison of leaf crystal macropatterns in the two sister genera piper and peperomia (Piperaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, n. 6, p. 983–997, 2012.
- HORWITZ, W. **Oxalic acid**. ed. AOAC Methods. 13th ed. Washington, DC: American of Analytical Chemists; 1980:541-542.
- HUBERT, P. et al. The SFSTP guide on the validation of chromatographic methods for drug bioanalysis: from the Washington Conference to the laboratory. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 135–148, 1999.
- ICH. ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. **International Conference on Harmonization**, v. 1994, n. November 1996, p. 17, 2005.
- IFTEKHAR, A. S. et al. Effect of *Tamarindus indica* fruits on blood pressure and lipid-profile in human model: an in vivo approach. **Pak J Pharm Sci**, v. 19, n. 2, p. 125–129, 2006.
- INCH, S. et al. Histological and anatomical responses in avocado, *Persea americana*, induced by the vascular wilt pathogen, *Raffaelea lauricola*. **Botany**, v. 90, n. 7, p. 627–635, 2012.
- JAISWAL, Y. et al. Pharmacognostic and preliminary phytochemical investigations of *Anacardium occidentale* (Linn.) leaves. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci**, v. 4, p. 625–631, 2012.

- JANET, J. O. et al. Variation in Essential Oil Constituents of the Leaf of *Anacardium Occidentale* found in Ondo, South Western-Nigeria. **World Journal of Analytical Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 10–16, 2015.
- JAYAPRAKASHA, G. K.; GIRENNAVAR, B.; PATIL, B. S. Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, p. 4484–4494, 2008.
- JEFFREE, C. E.; BAKER, E. A.; HOLLOWAY, P. J. Ultrastructure and recrystallization of plant epicuticular waxes. **New Phytologist**, v. 75, n. 3, p. 539–549, 1975.
- JENSEN, William A. William A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. 1962.
- JETTER, R.; SCHÄFFER, S. Chemical composition of the *Prunus laurocerasus* leaf surface. Dynamic changes of the epicuticular wax film during leaf development. **Plant physiology**, v. 126, n. 4, p. 1725–1737, 2001.
- JIANG, Fengrong et al. Genipin inhibits TNF- α -induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration via induction of HO-1. **PloS one**, v. 8, n. 8, p. e74826, 2013.
- JOÃO SHOJIRO TANGO , CÁSSIA REGINA LIMONTA CARVALHO, N. B. S. Caracterização Física E Química De Frutos De Abacate Visando a Seu Potencial Para Extração De Óleo. **Rev. Bras. Frutic**, v. 26, n. 1, p. 17–23, 2004.
- JORGE, L. I. F. et al. *Averrhoa carambola* L.(Oxalidaceae) e *Achras sapota* L.(Sapotaceae)--elementos morfo-anatômicos de orientação diagnóstica. **Rev. Bras. Farm**, v. 86, n. 3, p. 104–108, 2005.
- JOURNAL, B. Instructions to authors Revista Brasileira de Farmacognosia. n. IC, [s.d.]. JURENKA, J.; OTHERS. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. **Alternative medicine review**, v. 13, n. 2, p. 128, 2008.

- KAHN, T. L. et al. Citrus genetic resources in California: Analysis and recommendations for long-term conservation. **Report of the Citrus Genetic Resources Assessment Task Force**, 2001.
- KAMAL, G. M. et al. Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 4, p. 1275–1282, 2011.
- KARIMI, E. et al. Phenolic compounds characterization and biological activities of citrus aurantium bloom. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 1203–1218, 2012.
- KASIDAS, G. P.; ROSE, G. A. Oxalate content of some common foods: determination by an enzymatic method. **Journal of human nutrition**, v. 34, n. 4, p. 255–266, 1980.
- KAUR, M.; BHULLAR, G. K. Partial characterization of tamarind (*Tamarindus indica* L.) kernel starch oxidized at different levels of sodium hypochlorite. **International journal of food properties**, v. 19, n. 3, p. 605–617, 2016.
- KHAN, Ahmed Abdullah et al. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2016, 8 (3): 555-563. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 3, p. 555-563, 2016.
- Khanal, T.; Kim, H.G.; Do, M.T.; Choi, J.H.; Chung, Y.C.; Kim, H.S.; Park, Y.J.; Jeong, T.C.; Jeong, H.G. Genipin induces cyclooxygenase-2 expression via NADPH oxidase, MAPKs, AP-1, and NF- κ B in RAW 264.7 cells. **Food and Chemical Toxicology**, 2014.
- KHANDARE, A. L.; KUMAR, P. U.; LAKSHMAIAH, N. Beneficial effect of tamarind ingestion on fluoride toxicity in dogs. **Fluoride**, v. 33, n. 1, p. 33–38, 2000.
- KHATOON, S. A comprehensive review on *Spondias pinnata*. **International Journal of Asia Pacific Studies**, v. 2, n. 4, 2015.
- KIM, G.-S. et al. Citrus aurantium flavonoids inhibit adipogenesis through the Akt signaling pathway in 3T3-L1 cells. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 12, n. 1, p. 31, 2012.

- KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. [s.l.] Basf Brasileira São Paulo, v. 2, 1991.
- KLUKLINSKY, C. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. **Editorial Omega**, 2000.
- KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A. M.; CHARTZOULAKIS, K. Leaf anatomical alterations induced by drought stress in two avocado cultivars. **Journal of Biological Research-Thessaloniki**, v. 1, p. 115–120, 2004.
- KORIYAMA, Y. et al. Requirement of retinoic acid receptor β for genipin derivative-induced optic nerve regeneration in adult rat retina. **PloS one**, v. 8, n. 8, p. e71252, 2013.
- KOSIŃSKA, A. et al. Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 18, p. 4613–4619, 2012.
- KRAUSE, M. V; MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. [s.l.] Roca, 1998.
- KUMAR, A. et al. Evaluation of radio protective effect of *Averrhoa carambola* leaves extract in Wistar rats. **Nitte University Journal of Health Science**, v. 4, n. 2, p. 70–80, 2014.
- KUMAR, K. A. et al. ISSN : 2249-0337 Review Article A REVIEW ON PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOLOGICAL ASSAYS OF AVERRHOA BILIMBI. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research**, v. 3, n. 4, p. 136–139, 2013.
- KUMAR, M. S.; PRASHANT, T.; KUMAR, S. P. Review Article Pharmacology, Phytochemistry and Toxicology of *Semecarpus anacardium*. v. 42, n. 6, p. 25–31, 2017.
- KUMMER, R. et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Citrus latifolia* Tanaka essential oil and limonene in experimental mouse models. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

- LACCHIA, A. P. S.; GUERREIRO, S. M. C.; OTHERS. Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae. **Acta Botanica Brasilica**, 2009.
- LANSKY, E. P.; NEWMAN, R. A. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. **Journal of ethnopharmacology**, v. 109, n. 2, p. 177–206, 2007.
- LARCHER, W.; PICCIONI, M. **Ecofisiologia vegetal**. [s.l.] Edagricole, v. 350, 1993.
- LARSLAN, H. I.; ALMER, R. G. P.; MSANDE, J. I. Determination of Calcium Oxalate (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 84, n. 9, p. 1042–1046, 1997.
- LAWOKO, M.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Structural differences between the lignin- carbohydrate complexes present in wood and in chemical pulps. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 6, p. 3467–3473, 2005.
- LEISEROWITZ, L. **To monitor and control nucleation of molecular crystals**. ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. **Anais of American Chemical Society** 2002, 223, 12002
- LEITE, A. D. S. et al. Pharmacological properties of cashew (*Anacardium occidentale*). **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 35, p. 1855–1863, 2016.
- LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69–75, 2002.
- LERSTEN, N. R.; HORNER, H. T. Unique calcium oxalate “duplex” and “concretion” idioblasts in leaves of tribe Naucleeae (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 1, p. 1–11, 2011.
- LERSTEN, N. R.; HORNER, H. T. Unique calcium oxalate “duplex” and “concretion” idioblasts in leaves of tribe Naucleeae (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 1, p. 1–11, 2011.

- LEWANDOWSKI, S.; RODGERS, A. L. Idiopathic calcium oxalate urolithiasis: risk factors and conservative treatment. **Clinica Chimica Acta**, v. 345, n. 1, p. 17–34, 2004.
- LEWIS, G. P. Legumes of the World. [s.l.] **Royal Botanic Gardens Kew**, 2005.
- LEWIS, G. P.; POLHILL, R. M. A situação atual da sistemática de Leguminosae neotropicais. **Monographs in Systematics Botany from the Missouri Botanical Garden, Kew**, vol. 68. p. 113-145, 1998.
- LI, B. B.; SMITH, B.; HOSSAIN, M. M. Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. **Separation and Purification Technology**, v. 48, n. 2, p. 189–196, 2006.
- LI, X. X.; FRANCESCHI, V. R. Distribution of peroxisomes and glycolate metabolism in relation to calcium oxalate formation in *Lemna minor* L. **European journal of cell biology**, v. 51, n. 1, p. 9–16, 1990.
- LIBRANDI, A. P. L. et al. Effect of the extract of the tamarind (*Tamarindus indica*) fruit on the complement system: studies in vitro and in hamsters submitted to a cholesterol-enriched diet. **Food and chemical toxicology**, v. 45, n. 8, p. 1487–1495, 2007.
- LIM, C. Y. et al. In Vivo Biochemical and Gene Expression Analyses of the Antioxidant Activities and Hypocholesterolemic Properties of *Tamarindus indica* Fruit Pulp Extract. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, 2013.
- LIM, S. M.; LOH, S. P. In vitro antioxidant capacities and antidiabetic properties of phenolic extracts from selected citrus peels. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 1, p. 211–219, 2016.
- LIM, Y. S.; LEE, S. T. In vitro Antioxidant Capacities of Star Fruit (*Averrhoa carambola*), an Underutilised Tropical Fruit. **Journal of Biology**, v. 1, n. 1, p. 21–24, 2013.
- LIN, Y.-J. et al. Inhibition of enterovirus 71 infections and viral IRES activity by Fructus gardeniae and geniposide. **European journal of medicinal chemistry**, v. 62, p. 206–213, 2013.

- LIU, J. et al. Geniposide regulate glucose-stimulated insulin secretion possibly through controlling glucose metabolism in INS-1 cells. **PloS one**, v. 8, n. 10, p. e78315, 2013.
- LOPES, L. T. A. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettioides* Tanaka (Rutaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 4, p. 503–511, 2014.
- LOSS, A. C. S. Bioatividade da cera industrial de lima-ácida (*Citrus latifolia* Tanaka) sobre *Cryptotermes brevis* Walker. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul. 2008.
- LOURTEIG, A. O. Flora Ilustrada Catarinense: I Parte Fascículo. **Itajaí: Herbário “Barbosa Rodrigues**, 1983.
- LÜCKER, J. et al. Monoterpene biosynthesis in lemon (*Citrus limon*). **The FEBS Journal**, v. 269, n. 13, p. 3160–3171, 2002.
- LUSA, M. G.; BONA, C.; OTHERS. Caracterização morfoanatômica e histoquímica de *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) Jf Macbr. (Lythraceae). **Acta botanica brasílica**, 2011.
- LUZA, J. G.; LIZANA, L. A. Ultrastructure and Cytology of the Postharvest Avocado (*Persea americana* Mill) Fruit . p. 443–448, 1992.
- MABBERLEY, D. J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. [s.l.] Cambridge university press, 1997.
- MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.
- MACLEOD, G.; AMES, J. M. Volatile components of starfruit. **Phytochemistry**, v. 29, n. 1, p. 165–172, 1990.
- MAGALHÃES, M. A. Diversidade genética em taperebazeiro (*Spondias mombin* L., Anacardiaceae). p. 41, 2013.

- MAHMOUD, A. H. et al. Pharmacognostical investigation of leaf and stem of *Persea americana*. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 8, n. 4, p. 690–700, 2016.
- MAHUNU, G.; ADJEI, P. Anatomical studies on graft formation in Cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 3, n. 4, p. 150–153, 2012.
- MAITI, R. et al. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 92, n. 1, p. 85–91, 2004.
- MAITI, R.; DAS, U. K.; GHOSH, D. Attenuation of hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats by aqueous extract of seed of *Tamarindus indica*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 7, p. 1172–1176, 2005.
- MALAININE, M. E. et al. First Evidence for the Presence of Weddellite Crystallites in *Opuntia ficus indica* Parenchyma. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 58, n. 11–12, p. 812–816, 2003.
- MANDEL, N. **Mechanism of stone formation**. Seminars in nephrology. **Anais...**1996
- MARANHO, L. T.; PREUSSLER, K. H.; ROCHA, L. D. Organização estrutural da casca de *Persea major* Kopp (Lauraceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 2, p. 509–515, 2009.
- MARIA, I. et al. CIM.pdf. 2009. MARQUES, J. P. R. et al. Comparative morpho-anatomical studies of the lesions caused by citrus leprosis virus on sweet orange. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 82, n. 2, p. 501–511, 2010.
- MARTINELLO, F. et al. Hypolipemic and antioxidant activities from *Tamarindus indica* L. pulp fruit extract in hypercholesterolemic hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 6, p. 810–818, 2006.

MARTÍNEZ AGUILAR, Y. et al. Composición química y tamizaje fitoquímico del polvo de hojas y retoños del *Anacardium occidentale* L. (marañón). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, n. 1, p. 1–10, 2012.

MARTÍNEZ AGUILAR, Y. et al. Fitoesteroles y escualeno como hipocolesterolémicos en cinco variedades de semillas de *Cucurbita maxima* y *Cucurbita moschata* (calabaza). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, n. 1, p. 72–81, 2011.

MARTÍNEZ -NATARÉN, D. A. et al. Morphology and density of glandular trichomes in populations of Mexican oregano (*Lippia graveolens* HBK, Verbenaceae), and the relationship between trichome density and climate¹. **The Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 138, n. 2, p. 134–144, 2011.

MARTÍNEZ, Á. T. et al. Monolignol acylation and lignin structure in some nonwoody plants: a 2D NMR study. **Phytochemistry**, v. 69, n. 16, p. 2831–2843, 2008.

MARTINS, T. P.; TEIXEIRA, S. P.; GROPPPO, M. Anatomia foliar comparada de *Metrodorea* A. St.-Hil.(Rutaceae). **Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, [s.d.].

MASSEY, L. K. A figure is presented Food Oxalate: Factors Affecting Measurement, Biological Variation, and Bioavailability. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 107, n. 7, p. 1191–1194, 2007.

MASSEY, L. K. Food oxalate: factors affecting measurement, biological variation, and bioavailability. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 107, n. 7, p. 1191–1194, 2007.

MASSEY, L. K.; ROMAN-SMITH, H.; SUTTON, R. A. L. Effect of dietary oxalate and calcium on urinary oxalate and risk of formation of calcium oxalate kidney stones. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 93, n. 8, p. 901–906, 1993.

- MATAS, A. J. et al. Tissue-specific transcriptome profiling of the citrus fruit epidermis and sub-epidermis using laser capture microdissection. **Journal of experimental botany**, v. 61, n. 12, p. 3321–3330, 2010.
- MATHEW, B. B.; JATAWA, S. K.; TIWARI, A. Phytochemical analysis of Citrus limonum pulp and peel. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 369–371, 2012.
- MAURO, C. et al. Estudo anatômico das espécies de cerrado Anemopaegma arvense (Vell.) Stellf. ex de Souza (catuaba), Zeyheria montana Mart.(bolsa-de-pastor) e Jacaranda decurrens Chamisso (caroba)-Bignoniaceae. **Rev. bras. farmacogn**, v. 17, n. 2, p. 262–265, 2007.
- MAVI, A. et al. Antioxidant properties of some medicinal plants: Prangos ferulacea (Apiaceae), Sedum sempervivoides (Crassulaceae), malva neglecta (malvaceae), Cruciata taurica (Rubiaceae), Rosa pimpinellifolia (Rosaceae), Galium verum subsp. verum (Rubiaceae), urtica dioica (urticaceae). **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 5, p. 702–705, 2004.
- MAZEN, A.; ZHANG, D.; FRANCESCHI, V. R. Calcium oxalate formation in Lemna minor: physiological and ultrastructural aspects of high capacity calcium sequestration. **New Phytologist**, v. 161, n. 2, p. 435–448, 2004.
- MEDRI, M. M. M. E. **Alguns Aspectos da Anatomia-Ecológica de Persea americana Mill (abacateiro) e interpretações fisio-ecológicas**. Semina, 1985.
- MEHER, B.; DASH, D. K.; ROY, A. A Review on :Phytochemistry ,Pharmacology and Traditional Uses of Tamarindus Indica L . v. 3, n. 10, p. 229–240, 2014.
- MELÉNDEZ, P. A.; CAPRILES, V. A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytomedicine**, v. 13, n. 4, p. 272–276, 2006.
- MENDES, C. E. et al. Avaliação do potencial fitotóxico de Persea venosa Nees & Mart. (Lauraceae) sobre sementes e plântulas de diferentes espécies

cultivadas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 15, n. 3, p. 337–346, 2013.

MENDES, V. M. S. Efeito tóxico da carambola em pacientes renais.

Nutrociência Assessoria em Nutrologia, [s.d.]. METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons:: vol. 2. Wood structure and conclusion of the general introduction** oxford, Clarendon Press, 1983.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons:: vol. 2. Wood structure and conclusion of the general introduction** oxford, Clarendon Press, 1983.

METCALFE, C. R.; CHALK, L.; OTHERS. *Anatomy of the dicotyledons*, Vols. 1 & 2. **Anatomy of the dicotyledons, Vols. 1 & 2**, 1950.

METOUI, N. et al. Activity antifungal of the essential oils; aqueous and ethanol extracts from *Citrus aurantium* L. **Natural product research**, v. 29, n. 23, p. 2238–2241, 2015.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. [s.l.] Tecmed, 2004.

MILLER, A.; SCHAAL, B. Domestication of a Mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 36, p. 12801–12806, 2005.

MINEIRÃO, S. C. V. Characterization of Trichome Types in Shoots of. v. 10, n. 3, p. 7–12, 2005.

MITCHELL, J. D.; DALY, D. C. A revision of *Spondias* (Anacardiaceae) in the Neotropics. **Phytotaxa**, v. 92, p. 1–92, 2015.

MONJE, P. V; BARAN, E. J. Characterization of calcium oxalates generated as biominerals in cacti. **Plant Physiology**, v. 128, n. 2, p. 707–713, 2002.

MONSEF-ESFAHANI, H. R. et al. GC / MS Analysis of *Citrus aurantium* L . Hydrolate and its Comparison with the Commercial Samples. n. April 2003, p. 177–179, 2004. MORAES, T. M. DA S. et al. Comparative leaf anatomy and

- micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 178–190, 2011.
- MORAES, T. M. DA S. et al. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 178–190, 2011.
- MOREIRA, F. G. et al. Intoxicação por carambola em paciente com insuficiência renal crônica: relato de caso. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 22, n. 4, p. 395–398, 2010.
- MOREIRA, F. G. et al. Intoxicação por carambola em paciente com insuficiência renal crônica: relato de caso. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 22, n. 4, p. 395–398, 2010.
- MOREIRA, F. G. et al. Star fruit intoxication in a chronic renal failure patient: case report. **Revista Brasileira de terapia intensiva**, v. 22, n. 4, p. 395–398, 2010.
- MOREIRA-CONEGLIAN, I. R.; OLIVEIRA, D. M. T. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 2, p. 193–207, 2006.
- MOREIRA-CONEGLIAN, I. R.; OLIVEIRA, D. M. T.; OTHERS. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). **Brazilian Journal of Botany**, 2006.
- MORESCO, H. H. et al. Chemical constituents and evaluation of the toxic and antioxidant activities of *Averrhoa carambola* leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 2, p. 319–324, 2012.
- MOTT, K. A.; GIBSON, A. C.; O'LEARY, J. W. The adaptive significance of amphistomatic leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 5, n. 6, p. 455–460, 1982. MUNTOREANU, T. G. **Descrição e mapeamento de caracteres morfo-anatômicos foliares em *Pilocarpus Vahl* (Rutaceae) e gêneros relacionados**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2008.

MUTHU, S. E.; NANDAKUMAR, S.; RAO, U. A. The effect of methanolic extract of *Tamarindus indica* Linn. on the growth of clinical isolates of *Burkholderia pseudomallei*. **Indian Journal of Medical Research**, v. 122, n. 6, p. 525, 2005.

MYBURG, A. A.; LEV-YADUN, S.; SEDEROFF, R. R. Xylem Structure and Function. **eLS**, p. 1–9, 2013.

NAIK NIRMALA, V. V et al. **Methodology in determination of oxalic acid in plant tissue: a comparative approach**JGTPS, , 2014.

NAIK NIRMALA, V. V et al. **Methodology indetermination of oxalic acid in plant tissue: a comparative approach**. JGTPS, , 2014.

NAKATA, P. A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, v. 164, n. 6, p. 901–909, 2003.

NAM, J.-W. et al. Heat shock factor 1 inducers from the bark of *Eucommia ulmoides* as cytoprotective agents. **Chemistry & biodiversity**, v. 10, n. 7, p. 1322–1327, 2013.

NARAIN, N. et al. Compostos voláteis dos frutos de maracujá (*Passiflora edulis* forma *Flavicarpa*) e de cajá (*Spondias mombin* L.) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 212–216, 2004.

NASCIMENTO-SILVA, O.; ANDRADE CHINALIA, L.; DE PAIVA, J. G. Caracterização histoquímica dos folíolos de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae Lindl.). **Revista Caatinga**, v. 21, n. 3, 2008.

NASCIMENTO-SILVA, O.; CHINALIA, L. A.; PAIVA, J. G. A. Caracterização Histoquímica Dos Folíolos De *Spondias Tuberosa* Arruda (Anacardiaceae Lindl .). **Revista Caatinga**, v. 21, n. 3, p. 62–68, 2008.

NASCIMENTO-SILVA, O.; DE PAIVA, J. G. Estudos morfológicos e anatômicos em folhas adultas de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae Lindley).

Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas, v. 6, n. 2, 2007.

- NASSAR, M. A. A. A.; RAMADAN, H. R. H.; IBRAHIM, H. M. S. Anatomical structures of vegetative and reproductive organs of *Senna occidentalis* (Caesalpiniaceae). **Turkish Journal of Botany**, v. 37, n. 3, p. 542–552, 2013.
- NAYAK, B. S.; RAJU, S. S.; RAO, A. V. Wound healing activity of *Persea americana* (avocado) fruit: a preclinical study on rats. **Journal of Wound Care**, v. 17, n. 3, 2008.
- NAIK, V.V.; PATIL, N.S.; APARADH, V.T.; KARADGE, B.A. Methodology in determination of oxalic acid in plant tissue: a comparative approach. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*. v.5, n.2, p.1662-1672. 2014.
- NAZARI, A. S. et al. Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Randia Hebecarpa*. and Major Constituents. **Pharmaceutical biology**, v. 44, n. 1, p. 7–9, 2006.
- NELSON, B. C. et al. *Citrus aurantium*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 55, n. 24, p. 1–5, 2007.
- NETO, M. M. et al. Intoxicação por carambola (*Averrhoa Carambola*) em quatro pacientes renais crônicos pré-dialíticos e revisão da literatura. **J Bras Nefrol**, v. 24, n. 4, p. 229–232, 2004.
- NETO, M. M. et al. Quatro Pacientes Renais Crônicos Pré-Dialíticos e Revisão da Literatura. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 26, n. Ix, p. 228–232, 2003.
- NETO, M. M. Case Report. Star fruit as a cause of acute kidney injury. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 2, p. 246–249, 2014.
- NGUEFACK MARIUS BOREL, N. et al. *Averrhoa carambola*: A Renewable Source of Oxalic Acid for the Facile and Green Synthesis of Divalent Metal (Fe, Co, Ni, Zn, and Cu) Oxalates and Oxide Nanoparticles. **Journal of Applied Chemistry**, v. 2014, 2014.

- NGUYỄN, H. V. H.; SAVAGE, G. P. Oxalate content of New Zealand grown and imported fruits. **Journal of food composition and analysis**, v. 31, n. 2, p. 180–184, 2013.
- NODA, Y. et al. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 1, p. 166–171, 2002.
- NOOR, A.; NORIHAM, A. Antioxidant Activity and Bioactive Components of Oxalidaceae Fruit Extracts. **The Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 18, n. 1, p. 116–126, 2014.
- NWAOGUIKPE, R. N. The effect of aqueous seed extract of persea americana (avocado pear) on serum lipid and cholesterol levels in rabbits. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology Research**, v. 1, n. 2, p. 23–29, 2011.
- NWODO, U. U. et al. Assessment of tamarindusindica extracts for antibacterial activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 10, p. 6385–6396, 2011.
- OBAINEH, M. Phytochemical Constituents and Medicinal Properties of Different Extracts of Anacardium Occidentale and Psidium Guajava. p. 1–4, 2013.
- OBAINEH, O. M.; SHADRACH, A. Phytochemical constituents and medicinal properties of different extracts of Anacardium occidentale and Psidium guajava. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 16, p. 20, 2013.
- OBIREMI, E. O.; OLADELE, F. A. Water conserving stomatal systems in selected Citrus species. **South African journal of botany**, v. 67, n. 2, p. 258–260, 2001.
- OBOH, G. et al. Aqueous extracts of avocado pear (Persea americana Mill.) leaves and seeds exhibit anti-cholinesterases and antioxidant activities in vitro. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology**, v. 27, n. 2, p. 131–140, 2016.

- OGBONNA O. A.; OGBONNA, P. C.; DIKE, M. **Phytochemical screening, Quantitative estimates of Bioactive compounds in Spondias mombin and Azadirachta indica**, 2016.
- OHKAWA, H. Gas chromatographic determination of oxalic acid in foods. **Journal-Association of Official Analytical Chemists**, v. 68, n. 1, p. 108–111, 1985.
- OJEWOLE, J. et al. Cardiovascular effects of Persea americana Mill (Lauraceae)(avocado) aqueous leaf extract in experimental animals. **Cardiovascular Journal of South Africa**, v. 18, n. 2, p. 69, 2007.
- OLAITAN, R. A. et al. Antigonadotrophic Effect of Spondias Mombin Leaf Extract In Male Wistar Rats. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 2, n. 7, p. 14–18, 2012.
- OLIVEIRA, S. A. C. et al. The antimicrobial effects of Citrus limonum and Citrus aurantium essential oils on multi-species biofilms. **Brazilian oral research**, v. 28, n. 1, p. 22–27, 2014.
- OLOWOKUDEJO, J. D.; OTHERS. Comparative morphology of leaf epidermis in the genus Annona (Annonaceae) in West Africa. **Phytomorphology**, v. 40, n. 3–4, p. 407–422, 1990.
- OLUFUNKE, M. D.; KASALI, A. A.; OLUSEGUN, E. Constituents of the Spondias mombin Linn and the comparison between its fruit and leaf essential oils. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 6, n. 3, p. 148–152, 2003.
- OLUGBUYIRO, J. A. O.; MOODY, J. O.; HAMANN, M. T. AntiMtb activity of triterpenoid-rich fractions from Spondias mombin L. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 9, 2009.
- OLUGBUYIRO, J. A. O.; MOODY, J. O.; HAMANN, M. T. Phytosterols from Spondias mombin Linn with antimycobacterial activities. **African Journal of Biomedical Research**, v. 16, n. 1, p. 19–24, 2013.

- OM, S. et al. RESEARCH ARTICLE UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences Available at www.ukjpb.com Role of Persea americana and Vitamin E in Reducing the Tendency for Prostate Cancer Growth. v. 4, n. 5, p. 14–20, 2016.
- ONASANWO, S. A. et al. Analgesic and anti-inflammatory properties of the leaf extracts of Anacardium occidentale in the laboratory rodents. **Niger. J. Physiol. Sci**, v. 27, p. 65–71, 2012.
- ONO, M. et al. Three new monoterpenoids from the fruit of Genipa americana. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 55, n. 4, p. 632–634, 2007.
- ONO, M. et al. Iridoid glucosides from the fruit of Genipa americana. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 53, n. 10, p. 1342–1344, 2005.
- ONWUKA, C. F. I. Hydrocyanic acid contents of tropical browse and their influence on performance of goats. **Food Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 5–10, 1992.
- ORWA, C. et al. Averrhoa bilimbi L. **Agroforestry Database 4.0**, v. 0, p. 1–5, 2009.
- OSARUMWENSE, P. O.; OKUNROBO, L. O.; UWUMARONGIE-ILORI, E. G. Phytochemical screening, proximate and elemental analysis of Citrus sinensis peels (L.) Osbeck. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 17, n. 1, p. 47–50, 2013.
- OSUOHA VUN, I. C. N. Comparative Morphology of the Leaf Epidermis in Six Citrus Species and its Biosystematic Importance. **Medicinal {&} Aromatic Plants**, v. 4, n. 3, 2015.
- OTUKI, M. F. et al. Analysis of the potential topical anti-inflammatory activity of Averrhoa carambola L. in mice. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1–7, 2011.
- OXALIC ACID CONTENT OF CARAMBOLA AND BILIMBI.
(2017). *Rfcarchives.org.au*. Acesso em 21 julho de 2017, de <http://rfcarchives.org.au/Next/Fruits/Carambola/CarambolaAcid1-91.htm>

OXALIDACEAE, A. L.; SAPOTACEAE, L. *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) e *Achras sapota* L. (Sapotaceae) – elementos morfo-anatômicos de orientação diagnóstica. v. 86, n. 3, p. 104–108, 2005.

OYESOMI, T. O.; SALIHU, A. M. Histological effect of aqueous extract of *Anacardium occidentale* (Cashew) stems bark on adult Wistar rat testis. **Medical Practice and Review**, v. 2, n. December, p. 73–77, 2011.

P. DASGUPTA, P. CHAKRABORTY, N. N. B. *Averrhoa-Carambola-an-Updated-Review.Pdf*. **International Journal of Pharma Research & Review**, v. 2, n. 7, p. 54–63, 2013.

P., D.; G., P.; A., M. Morphological and physiological characteristics in pomegranate cultivars with different yields. **Options Méditerranéennes. Séries A: Mediterranean Seminars**, v. 103, n. 103, p. 67–69, 2012.

PADMAJA, V.; SRISAILAM, K.; REDDY, V. M. Pharmacognostic and Preliminary Phytochemical Investigations on *Holoptelea integrifolia*. **Pharmacognosy Journal**, v. 1, n. 2, p. 71–74, 2009.

PALAZZOLO, E.; ARMANDO LAUDICINA, V.; ANTONIETTA GERMANÀ, M. Current and Potential Use of Citrus Essential Oils. **Current Organic Chemistry**, v. 17, n. 24, p. 3042–3049, 2013.

PANARA, K.; JOSHI, K.; NISHTESWAR, K. A Review on Phytochemical and Pharmacological Properties of *Citrus medica* Linn. v. 3, n. 6, p. 1292–1297, 2012.

PANDEY, A. et al. Evaluation of Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Citrus limon. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical science**, v. 13, n. 13, p. 1–7, 2011.

PARKHURST, D. F. The adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. **The Journal of Ecology**, p. 367–383, 1978.

PARVIN, A. et al. Study of the Hypoglycemic Effect of *Tamarindus indica* Linn. Seeds on Non-Diabetic and Diabetic Model Rats. v. 3, n. 4, p. 1094–1105, 2013.

- PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**, v. 3, p. 417–452, [s.d.].
- PASQUAL, M. et al. Cultivo de tamarindo sob malhas coloridas: plasticidade anatômica foliar. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 238–244, 2015.
- PATIL, A. G. et al. Comparative In Vitro Antioxidant Activity and HPTLC Fingerprint of *Averrhoa bilimbi* linn . and *Averrhoa carambola* linn . Fruit Extracts. **Asian J. Exp. Sci.**, v. 25, n. 1, p. 93–102, 2011.
- PAULA, J. E. DE; ALVES, J. L. DE H. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Bth, Ex Engl.(Anacardiaceae da Amazônia). **Acta Amazonica**, v. 3, n. 1, p. 39–53, 1973.
- PEDRO, L.; CAMPOS, P.; PAIS, M. S. Morphology, ontogeny and histochemistry of secretory trichomes of *Geranium robertianum* (Geraniaceae). **Nordic journal of botany**, v. 10, n. 5, p. 501–509, 1990.
- PEREIRA, A. et al. *Tamarindus indica* L. A plant with multiple medicinal purposes. v. 5, n. 3, p. 50–54, 2016. PEREIRA, Z. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A. Leaf morpho-anatomy of *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v. 27, n. 6, p. 759–767, 2003.
- PERVEEN, A.; QAISER, M. Pollen flora of Pakistan-XLVIX. Zygophyllaceae. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 2, p. 225, 2006.
- PESCO, D. C. S. et al. Avaliação da atividade antioxidante de amostras de uvas (*Vitis vinifera* L.). 2012.
- PILARSKI, R. et al. Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Journal of ethnopharmacology**, v. 104, n. 1, p. 18–23, 2006.
- PIMPLE, B. P. et al. Protective effect of *Tamarindus indica* linn against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 69, n. 6, p. 827, 2007.

- PINHO, P. M. D. et al. Síndrome metabólica e sua relação com escores de risco cardiovascular em adultos com doenças crônicas não transmissíveis. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd**, v. 12, n. 1, p. 1010–1679, 2014.
- PINO, J. A. et al. Leaf Oil of *Tamarindus indica* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n. 3, p. 187–188, 2002.
- PINO, J. A. et al. Leaf Oil of *Tamarindus indica* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, n. 3, p. 187–188, 2002.
- PINO, J.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. Volatile constituents of genipap (*Genipa americana* L.) fruit from Cuba. **Flavour and fragrance journal**, v. 20, n. 6, p. 583–586, 2005.
- PINTO, A. B. et al. Volatile constituents from headspace and aqueous solution of genipap (*Genipa americana*) fruit isolated by the solid-phase extraction method. **Flavour and fragrance journal**, v. 21, n. 3, p. 488–491, 2006.
- PINTO, W. D. S. et al. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1059–1066, 2003.
- PIOLA, J. C. **Plantas que contienen oxalatos Servicio de toxicologia del sanatorio de niños (SERTOx)**, 2013.
- PIRANI, J. R. Estudos taxonômicos em Rutaceae: Revisão de *Helietta* e *Balfourodendron* (Pteleinae). Análise cladística de Pteleinae. Sinópsis de Rutaceae do Brasil. **Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo**, 1999.
- PIRBALOUTI, A. G.; KOOHPAYEH, A.; KARIMI, I. The wound healing activity of flower extracts of *Punica granatum* and *Achillea khalalensis* in Wistar rats. **Acta Pol Pharm**, v. 67, n. 1, p. 107–110, 2010.
- PLATT, K. A.; THOMSON, W. W. Idioblast oil cells of avocado: distribution, isolation, ultrastructure, histochemistry, and biochemistry. **International Journal of Plant Sciences**, v. 153, n. 3, p. 301–310, 1992.

- PLATT-ALOIA, K. A. A.; OROSS, J. W. W.; THOMSON, W. W. W. W.
Ultrastructural study of the development of oil cells in the mesocarp of
avocado fruit. **Botanical gazette**, v. 144, n. 1, p. 49, 1983.
- POORNIMA, M.; GOTHECHA, S. A.; KUMAR, V. Semecarpus Anacardium: a
Review. [s.d.].
- PORTO, R. G. C. L. et al. Chemical Composition and Antioxidant Activity of
Genipa americana L. (Jenipapo) of the Brazilian Cerrado. **Journal of
Agriculture and Environmental Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1–13, 2014.
- PRABHA, M. S. et al. Preliminary and Pharmacognostic Investigation on
Leaves of Punica Granatum. **International Research Journal of Pharmacy**,
v. 4, n. 12, p. 30–35, 2014.
- PRESS, C. Persea americana, Mesocarp Cell Structure, Light and Electron
Microscope Study Author (s): Flora Murray Scott, Barbara G . Bystrom, E .
Bowler Published by : The University of Chicago Press Stable URL :
<http://www.jstor.org/stable/2473211>. **Flora**, v. 124, n. 6, p. 423–428, 2009.
- PROCÓPIO, S. O. et al. Anatomia foliar de plantas daninhas do Brasil. **Viçosa,
MG: Universidade Federal de Viçosa**, v. 1, p. 118, 2003.
- PROD, J. N. et al. Phytochemical studies and GC / MS analysis on the isolated
essential oil from the leaves of Piper betle . var. sirugamani1 (SGM1).
Cancer, v. 4, n. 7, p. 2411–2413, 2011.
- PROVASI, M. et al. Avaliação da toxicidade e do potencial antihiperglicemiante
daAverrhoa carambola L. (Oxalidaceae). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 3, p.
665–669, 2008.
- QIN, H.; GRAHAM, S. A.; GILBERT, M. G. Lythraceae 千屈菜科. **Wu, Z. Y., P.
H. Raven {&} D. Y. Hong, eds. 2007. Flora of China. Vol. 13**, v. 5, n. or 6,
p. 274–289, 2007.

- QIU, W. et al. Genipin inhibits mitochondrial uncoupling protein 2 expression and ameliorates podocyte injury in diabetic mice. **PloS one**, v. 7, n. 7, p. e41391, 2012.
- RACOWSKI, I. et al. Evaluation of Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Thaiti Lemon Peels (*Citrus latifolia* Tanaka). **Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 2, p. 39–44, 2017.
- RAHARJO, S. H. T. et al. Recovery of avocado (*Persea americana* Mill.) plants transformed with the antifungal plant defensin gene PDF1. 2. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 44, n. 4, p. 254, 2008.
- RAHIMI, H. R.; ARASTOO, M.; OSTAD, S. N. A comprehensive review of *Punica granatum* (pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and molecular biology researches. **Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR**, v. 11, n. 2, p. 385, 2012.
- RAHIMI, H. R.; ARASTOO, M.; SHIRI, M. *Punica granatum* is more effective to prevent gastric disorders induced by *Helicobacter pylori* or any other stimulator in humans. **Asian Journal of Plant Sciences**, 2011.
- RAJAEI, H.; YAZDANPANA, P. Buds and leaves in pomegranate (*Punica granatum* L.): Phenology in relation to structure and development. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 214, n. June 2015, p. 61–69, 2015.
- RAMOS, G. Q. No Title. p. 1–105, 2015. RAMOS, G. Q.; COTTA, E. A.; DUARTE, H. Análise morfológica das folhas de *Anacardium occidentale* L. p. 16–19, 2016.
- RANDAU, K. P. et al. Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* HBK and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 89–96, 2004.
- RANGANAYAKI, S.; SINGH, R.; SINGH, A. K. The chemical examination of the bark of *Avehrroa carambola*. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section A**, v. 50, p. 61–63, 1980.

- RAUT, A. B. Newsletter Shah et al. Shah et al. v. 527, p. 524–527, 2011.
- RAYMOND CHIA, T. W.; DYKES, G. A. Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 7, p. 753–756, 2010.
- REIS, A. L. L. E. et al. Anatomical and histochemical characterization of roots and leaves of *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) seedlings. **Revista Árvore**, v. 38, n. 2, p. 209–219, 2014.
- REIS, R. E.; ALVIM, M. N. **Anatomia foliar comparada de três espécies do gênero Oxalis L.(Oxalidaceae). NBC-Periódico Científico do Núcleo de Biociências**, Belo Horizonte, MG vol. 3, 59-72, 2013.
- REIS, Ruth Ellen; ALVIM, Marina Neiva. Anatomia foliar comparada de três espécies do gênero Oxalis L.(Oxalidaceae) [http://dx. doi. org/10.15601/2238-1945/pcnb. v3n6p59-72](http://dx.doi.org/10.15601/2238-1945/pcnb.v3n6p59-72). **NBC-Periódico Científico do Núcleo de Biociências**, v. 3, n. 06, p. 59-72, 2014.
- REUTHER, W. **The Citrus Industry: Crop protection, postharvest technology, and early history of citrus research in California**. [s.l.] UCANR Publications, 1989. v. 3326
- RICARDO, L.; SANTOS, D. O. S. Tricomas glandulares em *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) do Cerrado: morfologia, densidade e secreção em diferentes populações Tricomas glandulares em *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) do Cerrado : morfologia , densidade e secreção em dif. 2014.
- RINALDO, D.; MBÉGUIÉ-A-MBÉGUIÉ, D.; FILS-LYCAON, B. Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 12, p. 599–606, 2010.
- ROBERTSON, W. G. **Mild hyperoxaluria: a critical review and future outlook**. Kidney Stones: Proceedings of the 8th European Symposium on Urolithiasis. Parma. Editoriale Bios, Cosenza, Italy. **Anais...**1999
- RODRIGUES, I. M. C. et al. Anatomia e Histoquímica das folhas de *Senna alata*. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 515–526, 2009.

- RODRIGUES, R. et al. Artigo Original / Original Article Avaliação do perfil glicêmico de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 com e sem administração de infusão de folhas de Averrhoa carambola. v. 20, p. 161–165, 2010.
- ROSA, E. A. DA et al. Flavonoids and antioxidant activity in *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 484–488, 2010.
- ROY, S. D. et al. Pharmacognostic, Phytochemical, Physicochemical Property and Antimicrobial Activity Studies of Lemon Peel Oil. **Journal of Natural Product and Plant Resources**, v. 2, n. 3, p. 431–435, 2012.
- ROYO, V. DE A. et al. Anatomy, Histochemistry, and Antifungal Activity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae) Leaf. Microscopy and microanalysis: the official journal of Microscopy Society of America. **Microbeam Analysis Society, Microscopical Society of Canada**, v. 21, n. 6, p. 1549–1561, 2015.
- RUIZ-PÉREZ, N. J. et al. Antimycotic Activity and Genotoxic Evaluation of *Citrus sinensis* and *Citrus latifolia* Essential Oils. **Scientific reports**, v. 6, 2016.
- SAEED, M.; DODD, P. B.; SOHAIL, L. Anatomical studies of stems, roots and leaves of selected citrus rootstock varieties in relation to their vigour. **Journal of Horticulture and Forestry**, v. 2, n. 4, p. 87–94, 2010.
- SAIKIA, S.; MAHNOT, N. K.; MAHANTA, C. L. Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. **Food Chemistry**, v. 171, p. 144–152, 2015.
- SAILAKSHMI, T.; RAO, C. S. V. R. Studies on phytochemical evaluation of *Tamarindus indica* extracts as anti-snake venom agents. v. 1, p. 44–49, 2012.

- SANT'ANNA-SANTOS, B. F. et al. Anatomy and histochemistry of stem secretory structures of *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 481–489, 2006.
- SANT'ANNA-SANTOS, B. F. et al. Diagnostic and prognostic characteristics of phytotoxicity caused by fluoride on *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 84, n. 3, p. 689–702, 2012.
- SANT'ANNA-SANTOS, B. F. et al. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 2, p. 313–321, 2006.
- SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev bras plantas med**, v. 13, n. 4, p. 486–491, 2011.
- SANZIO, R. et al. biotecnológico submetida a diferentes tratamentos de interceptação da radiação solar **Artigo**. v. 19, p. 276–283, 2009.
- SCARDELATO, A. et al. Ocorrência de cristais em plantas medicinais utilizadas no tratamento da nefrolitíase: paradoxo? **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, p. 161–168, 2013.
- SCARELI-SANTOS, C.; DIAS, M.; GUTTEMBERG, F. Morfologia e distribuição de galhas foliares de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) **Artigo científico**. v. 2, n. 4, p. 166–171, 2015.
- SCHMUCH, J. et al. Extract from *Rumex acetosa* L. for prophylaxis of periodontitis: inhibition of bacterial in vitro adhesion and of gingipains of *Porphyromonas gingivalis* by epicatechin-3-O-(4 β →8)-epicatechin-3-O-gallate (procyanidin-B2-Di-gallate). **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0120130, 2015.
- SCHWILLE, P. O. et al. Oxalate measurement in the picomol range by ion chromatography: values in fasting plasma and urine of controls and patients

- with idiopathic calcium urolithiasis. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 27, n. 2, p. 87–96, 1989.
- SEAL, S. N.; SEN, S. P. The photosynthetic production of oxalic acid in *Oxalis corniculata*. **Plant and Cell Physiology**, v. 11, n. 1, p. 119–128, 1970.
- SHAMMI, N. J. et al. A Comparative Study on the Hepatoprotective Effect of *Tamarindus indica* and Vitamin E in Long Evans Rats. p. 3–7, [s.d.].
- SHARON, Y.; BRAVDO, B.; BAR, N. Aspects of the water economy of avocado trees (*Persea Americana*, cv. Hass). **South African Avocado Growers' Association Yearbook**, v. 24, p. 55–59, 2001.
- SHISHODIA, S. et al. Anticancer potential of pomegranate. **Pomegranates: ancient roots to modern medicine**. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, p. 107–116, 2006.
- SHUI, G.; LEONG, L. P. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1022, n. 1–2, p. 67–75, 2004.
- SIENER, R. et al. Dietary risk factors for hyperoxaluria in calcium oxalate stone formers. **Kidney international**, v. 63, n. 3, p. 1037–1043, 2003.
- Silva, T.C. Estudo dos efeitos funcionais da goma de cajueiro, *Anacardium occidentale* L., sobre o sistema cardiovascular de ratos espontaneamente hipertensos. Dissertação (Mestrado). Programa de PósGraduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2006.
- SILVA, A. R. A. et al. Antiviral activities of extracts and phenolic components of two *Spondias* species against dengue virus. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 17, n. 4, p. 406–413, 2011.
- SILVA, Elizamar Ciríaco da. Respostas fisiológicas do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda) aos estresses hídrico e salino. 2008.

- SILVA, G. A et al. Gênero Spondias: Aspectos Botânicos, Composição química e potencial farmacológico. **Biofar**, v. 10, p. 1–16, 2014.
- SILVA, L. C. DA et al. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 4, p. 385–393, 2000.
- SILVA, M. L. DA et al. Morfoanatomia dos sistemas gemíferos de poaia (Carapichea ipecacuanha (Brot.) L. (Andersson)-Rubiaceae. **Rev. Fitos**, p. 9–17, 2015.
- SILVA, R. J. F.; AGUIAR-DIAS, A. C. A. DE; MENDONÇA, M. S. DE. Silicified crystal concretions and rosettes in Piper (Piperaceae): unpublished reports on their macropatterns. **Acta Amazonica**, v. 44, n. 4, p. 435–446, 2014.
- SILVA, I. G. R.; TAKEMURA, O. S. Aspectos de intoxicações por *Dieffenbachia* ssp (Comigo-ninguém-pode) – Araceae. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 151-159, 2006.
- SINGH, R.; SHARMA, J.; GOYAL, P. K. Prophylactic role of *Averrhoa carambola* (Star Fruit) extract against chemically induced hepatocellular carcinoma in Swiss albino mice. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2014, 2014.
- SINGH, T. et al. Systematics and Taxonomic Disposition of the Genus Punica L .
- SKOOG, D. A.; WEST D.M.; HOLLER, F.J. **Fundamentals of analytical chemistry**, 7^a ed. Hancourt College Publishers: Orlando, 1996, p. 21.
- SOARES, L. A. L. et al. Total flavonoid determination for the quality control of aqueous extractives from *Phyllanthus niruri* L. **Acta Farmac{é}utica Bonaerense**, v. 22, n. 3, p. 203–208, 2003.
- SOARES, S. E.; MIRANDA, M. S.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e perfil de ácidos fenólicos de semente de abacate das variedades Wagner e Prince. **Diálogos & Ciência**, v. 10, n. 32, p. 233–237, 2012.

- SOKENG, S. D. et al. Hypoglycemic activity of *Anacardium occidentale* L. aqueous extract in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes research**, v. 36, n. 1, p. 1–9, 2001.
- SONCINI, R. et al. Hypotensive effect of aqueous extract of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) in rats: An in vivo and in vitro approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 353–357, 2011.
- SONG, J. et al. Natural borneol enhances geniposide ophthalmic absorption in rabbits. **International journal of pharmaceutics**, v. 445, n. 1, p. 163–170, 2013.
- SONI, A.; SOSA, S. Phytochemical analysis and free radical scavenging potential of herbal and medicinal plant extracts. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 4, 2013.
- SRI P, M. D.; C, A.; R, I. Morphological and Anatomical Studies on Ornamental Flowers of *Punica Granatum* Linn. **Journal of Pharmaceutical {&} Scientific Innovation**, v. 4, n. 1, p. 44–51, 2015.
- STATE, C. R. Effects of *Spondias Mombin* Leaf Extract on the Cytoarchitecture of the Cerebral Cortex and on Learning and Memory in Wistar Rats. v. 2, n. 9, p. 5–8, 2013.
- STATES, U.; BARBARA, S.; BERNARDINO, S. Citrus leaves affected. **Methods**, n. 484, 1943.
- STOREY, R.; LEIGH, R. A. Processes modulating calcium distribution in citrus leaves. An investigation using X-ray microanalysis with strontium as a tracer. **Plant Physiology**, v. 136, n. 3, p. 3838–3848, 2004.
- STOREY, R.; LEIGH, R. A. Processes modulating calcium distribution in citrus leaves. An investigation using X-ray microanalysis with strontium as a tracer. **Plant Physiology**, v. 136, n. 3, p. 3838–3848, 2004.
- STUBBERUD, K. P.; ASTROM, O. Separation of ibuprofen, codeine phosphate, their degradation products and impurities by capillary electrophoresis: II Validation. **J. Chromatogr. A.**, v. 826, p. 95-102, 1998.

- SUDJAROEN, Y. et al. Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 11, p. 1673–1682, 2005.
- SUJA, D. et al. Phytochemical Screening, Antioxidant, Antibacterial Activities of *Citrus Limon* and *Citrus Sinensis* Peel Extracts. p. 1–7, 2017.
- SUMAN, D. Issn - 0974-2441 Activities of Green and Ripe Fruits of. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 5, n. 3, p. 100–103, 2012.
- SURYAWANSHI, J. A. S. An overview of Citrus aurantium used in treatment of various diseases. **African Journal of Plant Science**, v. 5, n. 7, p. 390–395, 2011.
- SWINKELS, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches. **Starch-Stärke**, v. 37, n. 1, p. 1–5, 1985.
- TAN, Y. P.; CHAN, E. W. C. Antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties of fresh and processed leaves of *Anacardium occidentale* and Piper betle. **Food Bioscience**, v. 6, p. 17–23, 2014.
- TAYADE, P. M.; SH, G. M. M. J. S. A. D. Anti-asthmatic activity of methanolic extract of leaves of *Tamarindus Indica* Linn. **Journal of Pharmacy Research Vol**, v. 2, n. 5, 2009.
- TEIXEIRA, G. H. D. A. et al. Caracterização Pós-Colheita de Seis Cultivares de Carambola (*Averrhoa carambola* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 546–550, 2001.
- TEPE, B. et al. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. **Food Chemistry**, v. 97, n. 4, p. 719–724, 2006.
- THOMAS, S. et al. Pharmacognostic evaluation and physicochemical analysis of *Averrhoa carambola* L. fruit. **J Herb Med Toxicol**, v. 2, n. 2, p. 51–54, 2008.

- THOMSON, W. W.; PLATT-ALOIA, K. A.; ENDRESS, A. G. Ultrastructure of oil gland development in the leaf of *Citrus sinensis* L. **Botanical Gazette**, v. 137, n. 4, p. 330–340, 1976.
- TIAN, J.-S. et al. Antidepressant-like effect of genipin in mice. **Neuroscience letters**, v. 479, n. 3, p. 236–239, 2010.
- TIPTON, J. L.; WHITE, M. Differences in leaf cuticle structure and efficacy among eastern redbud and Mexican redbud phenotypes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 120, n. 1, p. 59–64, 1995.
- TORRES, L. B. V et al. Caracterização Química de Carambolas Produzidas Em Região Semi-Árida Do Nordeste Brasileiro. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 1, p. 43–54, 2003.
- TORRES, R. C.; GARBO, A. G.; WALDE, R. Z. M. L. Larvicidal activity of *Persea americana* Mill. against *Aedes aegypti*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, n. S1, p. S167--S170, 2014.
- TSE, K.-C. et al. Star fruit intoxication in uraemic patients: case series and review of the literature. **Internal medicine journal**, v. 33, n. 7, p. 314–316, 2003.
- TURNER, G. W.; BERRY, A. M.; GIFFORD, E. M. Schizogenous secretory cavities of *Citrus limon* (L.) Burm. F. and a reevaluation of the lysigenous gland concept. **International journal of plant sciences**, v. 159, n. 1, p. 75–88, 1998.
- UCHENDU, C. N.; CHOUDHARY, M. I. The in vitro effects of butanolic leaf extract of *Spondias mombin* on rat uterine muscle. **Niger. J. Exp. Appl. Biol.** (1), p. 1109–1113, 2004.
- UCHENDU, C. N.; ISEK, T. Antifertility activity of aqueous ethanolic leaf extract of *Spondias mombin* (Anacardiaceae) in rats. **African Health Sciences**, v. 8, n. 3, p. 163–167, 2008.
- UGBABE, G. E. et al. Research Article Foliar epidermal microscopy and preliminary phytochemical screening of the leaves and stem bark of

- Tamarindus indica Linn. (Family : Fabaceae / Caesalpinioideae). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 1, p. 452–457, 2016.
- UKWENYA, V. et al. Evaluation of antioxidant potential of methanolic leaf extract of *Anacardium Occidentale* (Linn) on the testes of streptozotocin-induce. v. 17, n. May 2017, p. 72–81, 2013.
- UKWENYA, V.O.; ASHAOLU, J.O.; ADEYEMI, D.O.; AKINOLA, O.A.; CAXTON-MARTINS, E.A. Antihyperglycemic activities of methanolic leaf extract of *Anacardium occidentale* (Linn.) on the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Cell and Animal Biology**, v. 6, n. 11, p. 169–174, 2012.
- ULLAH, N. et al. Nephroprotective potentials of Citrus Aurantium: A prospective pharmacological study on experimental models. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 3, p. 505–510, 2014.
- ULOTH, M. B. et al. Calcium oxalate crystals: an integral component of the Sclerotinia sclerotiorum/Brassica carinata pathosystem. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0122362, 2015.
- USHANANDINI, S. et al. The anti-snake venom properties of Tamarindus indica (leguminosae) seed extract. **Phytotherapy research**, v. 20, n. 10, p. 851–858, 2006.
- VALLI, M.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. A Beleza Invisível da Biodiversidade: O Táxon Rubiaceae. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 296–310, 2016.
- VASCONCELOS, A. L.; DE VASCONCELOS, A. L.; RANDAU, K. P. Pharmacognostic Characterization of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). **Pharmacognosy Journal**, v. 8, n. 6, p. 513–519, 2016.
- VASCONCELOS, C. M. L.; ARAÚJO, M. S.; CONDE-GARCIA, E. A. Electrophysiological effects of the aqueous extract of *Averrhoa carambola* L. leaves on the guinea pig heart. **Phytomedicine**, v. 13, n. 7, p. 501–508, 2006.

- VASILYEVA, S.V.; VOROTYNTSEV, M.A.; BEZVERKHYY, I.; LESNIEWSKA, E.; HEINTZ, E.; CHASSAGNON, R. Synthesis and Characterization of Palladium Nanoparticle/ Polypyrrole Composites. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 112, p. 19878 – 19885, 2008
- VENDITTI, A.; SERRILLI, A. M.; BIANCO, A. Iridoids from *Bellardia trixago* (L.) All. **Natural product research**, v. 27, n. 15, p. 1413–1416, 2013.
- VENNING, F. D. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. **American Journal of Botany**, p. 637–644, 1948.
- VIEIRA, R. C. *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (Rubiaceae). Anatomia foliar. **Rodriguésia**, p. 33–39, 1986.
- VIJAYLAKSHMI, P.; RADHA, R. An overview: *Citrus maxima*. **The Journal of Phytopharmacology**, v. 4, n. 5, p. 263–267, 2015.
- VILJOEN, A. M. et al. The composition, geographical variation and antimicrobial activity of *Lippia javanica* (Verbenaceae) leaf essential oils. **Journal of ethnopharmacology**, v. 96, n. 1, p. 271–277, 2005.
- VINHA, A. F. et al. Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill.). **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 12, p. 100–109, 2013.
- VIUDA-MARTOS, M. et al. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Food control**, v. 19, n. 12, p. 1130–1138, 2008.
- VOGEL, A.I. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de janeiro: LTC, 2011. 488p.
- VOLK, G. M.; GOSS, L. J.; FRANCESCHI, V. R. Calcium channels are involved in calcium oxalate crystal formation in specialized cells of *Pistia stratiotes* L. **Annals of botany**, v. 93, n. 6, p. 741–753, 2004.

- VUN, O. et al. Medicinal {&} Aromatic Plants Stematic Characterization of Six Citrus Species Using Petiole Anatomy. p. 1–3, 2015.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 1996.
- WANG, J. L. et al. Status epilepticus in two patients with chronic renal failure after ingestion of star fruit. **Kidney Dial**, v. 8, p. 166–169, 2000.
- WEI, S. D. et al. Identification of antioxidant components and fatty acid profiles of the leaves and fruits from Averrhoa carambola. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 278–285, 2014.
- WEST, W. C. Ontogeny of oil cells in the woody Ranales. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, p. 329–344, 1969.
- WHARF, C.; KINGDOM, U. Assessment report on Citrus bergamia Risso et Poiteau, aetheroleum. **Search**, v. 44, n. September, 2011.
- WIELING, J. et al. Rational experimental design for bioanalytical methods validation illustration using an assay method for total captopril in plasma. **Journal of Chromatography A**, v. 730, n. 1–2, p. 381–394, 1996.
- WILSON III, C. W. et al. Volatile constituents of carambola (Averrhoa carambola L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 2, p. 199–201, 1985.
- WILSON, D. M. et al. Renal oxalate handling in normal subjects and patients with idiopathic renal lithiasis: Primary and secondary hyperoxaluria. In: **Urolithiasis**. [s.l.] Springer, 1989. p. 453–455.
- WINTERHALTER, P.; SCHREIER, P. The generation of norisoprenoid volatiles in starfruit (Averrhoa carambola L.): A review*. **Food Reviews International**, v. 11, n. 2, p. 237–254, 1995.
- YANG, D. et al. Two tetrahydroisoquinoline alkaloids from the fruit of Averrhoa carambola. **Phytochemistry Letters**, v. 7, n. 1, p. 217–220, 2014.

- YANG, X. et al. P38 MAP Kinase Mediates Apoptosis After Genipin Treatment in Non--Small-Cell Lung Cancer H1299 Cells via a Mitochondrial Apoptotic Cascade. **Journal of pharmacological sciences**, v. 121, n. 4, p. 272–281, 2013.
- YAP, H.-J. et al. Star fruit: a neglected but serious fruit intoxicant in chronic renal failure. **Dialysis and Transplantation**, v. 31, n. 8, p. 564–569, 2002.
- YURIKO, T.; KIKUCHI, S.; VILHENA, C. DE. Aspectos anatômicos dos feixes vasculares foliares de *Socratea xorrhiza* (Mart.) H. Wendl. (Arecaceae - Arecoideae - Iriarteeae). p. 127–131, 2016.
- ZAGO, A. M. et al. Estudo morfoanatômico das folhas de *Cuphea glutinosa* Cham. {&} Schltld., Lythraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 506–512, 2010.
- ZAINUDIN, M. A. M. et al. Variation of bioactive compounds and antioxidant activity of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at different ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 172, p. 325–331, 2014.
- ZAM, W. et al. Separation and purification of proanthocyanidins extracted from pomegranate's peels (*Punica granatum*). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**, v. 5, n. 3, p. 1808–1813, 2012.
- ZAPPI, D. **Genipa in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2015. ZHANG, G. et al. LPS-induced iNOS expression in N9 microglial cells is suppressed by geniposide via ERK, p38 and nuclear factor- κ B signaling pathways. **International journal of molecular medicine**, v. 30, n. 3, p. 561–568, 2012.
- ZINI, A. DA S. et al. Foliar anatomy of Rubiaceae occurring in an urban forest fragment of Atlantic Forest, Paraná State, Brazil. **Hoehnea**, v. 43, n. 2, p. 1–10, 2016.
- ABDUL, G. R.; ABDUL, M. F. A.; SARMIDI, M. R. Tyrosinase inhibition and melanin reduction of human melanocytes (HEMn-MP) using *Anacardium occidentale* L extract. **The Medical Journal of Malaysia**, v. 63, p. 100–101, 2008.