



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LARISSA GABRIELE SALES SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DOS ÓRGÃOS  
VEGETATIVOS DE *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K.  
Schum**

RECIFE  
2022

LARISSA GABRIELE SALES SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DOS ÓRGÃOS  
VEGETATIVOS DE *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K.  
Schum**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado a disciplina de TCC 2  
como parte dos requisitos para a  
Conclusão do curso de Graduação em  
Farmácia do Centro de Ciências da  
Saúde da Universidade Federal de  
Pernambuco.

**Orientadora:** Profa. Dra. Karina  
Perrelli Randau

**Co-orientador:** Cledson dos Santos  
Magalhães

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Larissa Gabriele Sales.

Caracterização Anatômica e Histoquímica dos Órgãos Vegetativos de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K.Schum. / Larissa Gabriele Sales Santos. - Recife, 2022. 27 : il.

Orientador(a): Karina Perrelli Randau

Coorientador(a): Cledson dos Santos Magalhães

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2022.

1. Rubiaceae. 2. Farmacobotânica. 3. Microscopia. I. Randau, Karina Perrelli. (Orientação). II. Magalhães, Cledson dos Santos. (Coorientação). III. Título. 570 CDD (22.ed).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Karina Perrelli Randau**

(Presidente e Orientadora)

Universidade Federal de  
Pernambuco

---

**Profa. Dra. Flávia Carolina Lins da Silva**

(Examinadora)

Universidade Federal Rural de Pernambuco.

---

**Herlayne Carolayne Caetano da Silva**

(Examinadora)

Universidade Federal de Pernambuco

---

**Dayzyane Farias dos Santos Melo**

(Examinadora Suplente)

Universidade Federal de



Pernambuco

À minha família que tanto amo, meus  
pais e irmã, vocês são a minha força.

## AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo primeiramente a Deus por estar concluindo mais uma etapa da vida com muita alegria. Ele que tem me sustentado sempre na caminhada árdua da graduação, pois nunca foi fácil.

A todos que sempre me apoiaram na caminhada durante esses 5 anos (e meio), meus amigos de turma, e mais especificamente ao grupo Acoplamento! Amo imensamente todos vocês, cada um com sua forma de encarar a vida! Guardarei-os sempre em minha vida, nunca esquecerei de vocês!

À minha família, a qual dedico toda minha vida, todas as dificuldades que passamos juntos, tudo vem sendo recompensado dia após dia. Meus pais, Patricia e Marcelo, como eu amo vocês... obrigada por sempre ter investido e sempre ter acreditado em mim. Tudo o que sou hoje, devo a vocês. Contem sempre comigo para o que der e vier nessa vida. Marcela, minha irmã, que mal sabe que a desejo ver voando bem alto nessa vida ainda.

Ao meu amor Kaíque Artur, que me acompanha desde sempre e me dá força nos momentos de ansiedade, você é luz na minha vida! Sem você eu não teria feito muito por mim. Obrigada demais meu amor. Conte comigo para sempre, você sabe bem disso prin.

Um agradecimento especial a Professora Karina Randau e a Cledson dos Santos Magalhães (PERFEITOS), obrigada por toda paciência nessa reta final, vocês são pessoas incríveis, quero levar em toda minha caminhada.

Nando Matias e Jessica Barroca, vocês são essenciais na minha vida, obrigada mesmo por tudo! Vocês são amigos pra vida de verdade.

Ramires Santos, Lucia Mota, Vera Santos, Marcia Duarte, Dora Reis, Paulo Duarte, Roseni Cerqueira, Maria Cícera... e tantos outros, devo a vocês tudo, obrigada por me fortalecerem sempre, apesar da distância! Sou vocês.



## RESUMO

*Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum, pertencente à família Rubiaceae Juss., é conhecida popularmente como carqueira-miúda. Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo realizar a caracterização anatômica e histoquímica dos órgãos vegetativos de *M. frigidus*. Com esta finalidade, métodos usuais em anatomia vegetal foram utilizados para o preparo e análise, em microscópio de luz e de polarização, de lâminas semipermanentes contendo secções transversais dos órgãos vegetativos e secções paradémicas da lâmina foliar da espécie. Também foram realizados testes histoquímicos com objetivo de localizar os constituintes químicos em secções transversais da lâmina foliar. A avaliação microscópica viabilizou a identificação de caracteres dos órgãos vegetativos, podendo-se citar na raiz súber apresentando camadas de felema, camadas de parênquima cortical, cilindro vascular do tipo colateral e cristais do tipo ráfides; caule com formato circular com 4 proeminências, colênquima angular distribuído nas proeminências do caule e tricomas tectores presentes também no caule e lâmina foliar; nervura central com contorno biconvexo apresentando 1 camada de colênquima angular. Por meio das técnicas histoquímicas evidenciou-se alcaloides, amido, compostos fenólicos, compostos lipofílicos, lignina e triterpenos e esteroides. Os resultados apresentados no presente estudo são fundamentais para a padronização farmacobotânica da espécie *M. frigidus*.

**Palavras Chave:** Rubiaceae. Farmacobotânica. Microscopia.

## ABSTRACT

*Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum, belonging to the Rubiaceae Juss. family, is popularly known as carqueira-miúda. In popular medicine, it is used for headaches, toothache, amenorrhea, dyspepsia, hepatic and venereal diseases, leprosy, and in the treatment of skin diseases. In this context, this study aimed to perform the anatomical and histochemical characterization of the vegetative organs of *M. frigidus*. For this purpose, the general methods in plant anatomy were used for the preparation and analysis, under a light microscope and polarization, of semipermanent slides containing cross sections of the vegetative organs and parademic sections of the leaf blade of the species. Histochemical tests were also performed to locate the chemical constituents in cross sections of the leaf blade. Microscopic evaluation enabled the identification of characters of vegetative organs, and can be cited in the súber root presenting layers of felema, layers of cortical parenchyma, collateral-type vascular cylinder and rafide crystals; circular-shaped stem with 4 promethenics, angular collenchyma distributed in the stem's debuts and tectores trichos also present in the stem and leaf blade; central rib with biconvex contour presenting 1 layer of angular collenchyma. By histochemical techniques, alkaloids, starch, phenolic compounds, lipophilic compounds, lignin and triterpenes and steroids were evidenced. The results presented in the present study are fundamental for the pharmacobotanical standardization of the species *M. frigidus*.

**Keywords:** Rubiaceae. Pharmacobotanic. Microscopy.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Espécie <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. ex Reem Schult.) K. Schum                                                   | 13 |
| Figura 2 - Secção transversal de raiz de <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum                          | 18 |
| Figura 3 - Secção transversal de caule de <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum                         | 19 |
| Figura 4 - Secções paradérmicas da lâmina foliar de <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum               | 20 |
| Figura 5 - Secção transversal da nervura central e do mesofilo de <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum | 21 |
| Figura 6 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum        | 22 |

## SUMÁRIO

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                                               | <b>10</b> |
| <b>2 OBJETIVO</b>                                                                 | <b>11</b> |
| 2.1 OBJETIVO GERAL                                                                | 11        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS                                                         | 11        |
| <b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b>                                                      | <b>12</b> |
| 3.1 FAMÍLIA RUBIACEAE JUSS                                                        | 12        |
| 3.2 GÊNERO <i>Mitracarpus</i> Zucc. ex Schult. & Schult. f.                       | 12        |
| 3.3 ESPÉCIE <i>Mitracarpus aff. frigidus</i> (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum | 13        |
| 3.3.1 Aspectos Botânicos                                                          | 14        |
| 3.3.2 Aspectos Químicos                                                           | 14        |
| 3.3.3 Aspectos Farmacológicos                                                     | 14        |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>                                                      | <b>16</b> |
| 4.1 MATERIAL VEGETAL                                                              | 16        |
| 4.2 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA                                                      | 16        |
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA                                                   | 16        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                                   | <b>18</b> |
| 5.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA                                                      | 18        |
| 5.1.1 Raiz                                                                        | 18        |
| 5.1.2 Caule                                                                       | 19        |
| 5.1.3 Lâmina foliar                                                               | 20        |
| 5.2 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA                                                   | 21        |
| <b>6 CONCLUSÃO</b>                                                                | <b>23</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                | <b>24</b> |



## 1 INTRODUÇÃO

Rubiaceae Juss. é uma das maiores famílias de angiospermas, compreendendo cerca de mais de 13.500 espécies distribuídas em mais de 615 gêneros e 64 tribos. Está dividida em três subfamílias: Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae (COLE; CARVALHO; SHIMIZU, 2021). No Brasil, essa família é representada por aproximadamente 128 gêneros e 1416 espécies, dos quais 733 são endêmicas, com representação significativa na Mata Atlântica e Bacia Amazônica (FLORA DO BRASIL 2020).

A maioria das espécies de Rubiaceae se apresentam como árvores de pequeno porte ou arbustos encontradas em subosques. Esta família pode ser facilmente reconhecida pelas folhas opostas e pela presença de estípulas interpeciolares. A grande variação nas formas, tamanhos e cores das flores atrai um grande número de polinizadores para a família. Os frutos carnosos também variam nas cores e tamanhos, sendo dispersos por pássaros, morcegos ou ainda por pequenos mamíferos (TAYLOR; CAMPOS; ZAPPI, 2007).

Dentre os gêneros da família Rubiaceae, pode-se destacar *Mitracarpus* Zucc. ex Schult. & Schult. f., um gênero neotropical que engloba cerca de 30 espécies no Brasil e no mundo. Uma espécie de grande ocorrência no Brasil é tema deste trabalho, *Mitracarpus* aff. *frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum (JUNG-MENDAÇOLLI, 2007).

Conhecida também por seu nome popular carqueja-miúda, possui hábito herbáceo, e tem grandes propriedades medicinais amplamente estudada e comprovada antibacteriana, antioxidante, antiinflamatória, antifúngica, anti diabética e antiparasita (EKALU; ABICHE, 2020).

Segundo Fabri (2021), *M. frigidus* também apresenta grande potencial antioxidante e fotoprotetor, devido ao seu conteúdo flavonoídico. Com isso, o presente estudo teve por objetivo caracterizar anatomicamente *Mitracarpus frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum juntamente com a histoquímica da espécie encontrando seus metabólitos, contribuindo com a diferenciação de outras espécies do gênero *Mitracarpus*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a caracterização anatômica e histoquímica dos órgãos vegetativos de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever os caracteres anatômicos de lâmina foliar de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum;
- Realizar testes histoquímicos e identificar o local de acúmulo dos metabólitos secundários nas lâminas foliares de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 FAMÍLIA RUBIACEAE JUSS.

Rubiaceae Juss. é composta por cerca de 614 gêneros e 13.300 espécies (BREMER; ERIKSON, 2009; ZAPPI, 2009; STEVENS, 2019). Esta família ocupa o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, perdendo apenas para as Asteraceae, Orchidaceae e Leguminosae (DELPRETE; CORTÉS, 2006; DELPRETE; JARDIM, 2012). Possui variados hábitos, tais como, ervas, arbustos e árvores (ESTEVES et al., 2019).

No Brasil a família está representada por 128 gêneros e 1416 espécies distribuídas nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal (FLORA DO BRASIL, 2020).

Rubiaceae reúne espécies com importância econômica, principalmente como ornamental, medicinal ou alimentícia (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; MENDOZA et al., 2004). Seus representantes destacam-se pela ampla variedade de compostos químicos, incluindo alcaloides, alguns taninos, triterpenos e, com menos frequência, saponinas (CRONQUIST, 1981). Dentre esses representantes, pode-se citar *Coffea arabica* L. (café), fonte de bebidas mais apreciadas e, também apresenta substâncias farmacologicamente ativas, a exemplo, a cafeína (STEYERMARK, 1974; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Além disso, de uso medicinal, pode-se destacar ainda espécies do gênero *Cinchona* L. e *Cephaelis* Sw., dentre outros, das quais se extraem os alcaloides quinino, empregado no tratamento da malária, e emetina, empregado como emético (PORTO et al., 1977).

#### 3.2 GÊNERO *Mitracarpus* Zucc. ex Schult. & Schult. f.

Dentre os gêneros pertencentes à família Rubiaceae pode-se destacar o *Mitracarpus*, um gênero neotropical, encontrado no sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina. O gênero apresenta três centros de diversidade de espécies: o México, o Caribe e o Brasil (SOUZA; CABRAL; ZAPPI, 2010).

No Brasil, os representantes do gênero possuem hábitos arbustivos, herbáceo e subarbustivo. É um dos poucos gêneros dentro da tribo Spermacoceae cuja deiscência do fruto representa um caráter invariável que suporta seu monofiletismo. O gênero no país está representado por 28 espécies (SOUZA et al., 2020). *Mitracarpus* é conhecido por apresentar em sua composição vários metabólitos secundários, como fenóis, taninos, flavonoides, saponinas e esteroides (EKALU; ABICHE, 2020).

Segundo Irob e Daramola (1994), os extratos etanólicos das folhas e inflorescência de *Mitracarpus villosus* demonstraram atividades fungicida e fungistática contra *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Fusarium solani*. Como também atividade antibacteriana contra espécies dos gêneros de *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Streptococcus*.

### 3.3 ESPÉCIE *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum

A espécie *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. ex Reem Schult.) K. Schum. (FIGURA 1), conhecida popularmente como carqueira-miúda, está distribuída na América Tropical e Antilhas, sendo encontrada no Brasil desde o Amazonas até o Rio Grande do Sul (FERREIRA et al., 2020).

Figura 1 - Espécie *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. ex Reem Schult.) K. Schum



Fonte: Autoria própria.

### 3.3.1 Aspectos Botânicos

*Mitracarpus frigidus* caracteriza-se como erva perene ou subarbusto, ereto ou ascendente. Caules fortemente tetragonos, alados, glabros ou pubérulos nas faces, hispídeos ou pubescentes sobre as alas, tricomas geralmente retrorsos, mais densos na região estipular. Possui folhas pseudoverticiladas pela presença de braquiblastos nas axilas, sésseis; lâminas lanceoladas ou linear-lanceoladas, raramente lineares, agudo-mucronadas no ápice, atenuadas ou cuneadas base, cartáceas, face superior escabra, estrigosa ou glabra, face inferior escabra até glabra sobre a superfície laminar, glabras ou pilosas sobre as nervuras, margens ciliadas, escabras ou raramente glabras. Os ramos florais geralmente apresentam um glomérulo terminal, ou seguido por 1-2 glomérulos axilares, subtendidos por 2-4 brácteas foliáceas, reflexas. As flores são subsésseis, pedicelo inconspícuo. Apresenta cápsulas obcônicas, glabras ou pubérulas na parte superior. Suas sementes são oblongoides ou globosas, castanhas a castanho-escuras; face dorsal com depressão cruciforme profundamente impressa, exotesta fovéolo-reticulada; face ventral com encaixe em forma de “X” (FLORA DO BRASIL, 2020).

### 3.3.2 Aspectos Químicos

Souza (2013) identificou em *Mitracarpus frigidus* alcalóides, esteróides, saponinas, antraquinonas, leucoantocianidinas, taninos, catequinas, flavonóides como metabólitos secundários. Fabri et al. (2013) identificou psicorubrina, uma piranonaftoquinona. Ekalu e Abiche (2020) descreveram para a espécie terpenos, esteroides, quinonas e alcaloides.

### 3.3.3 Aspectos Farmacológicos

*Mitracarpus frigidus* é conhecida por seu uso medicinal. Na África Ocidental, há relatos de uso da espécie na medicina tradicional para dores de cabeça, dor de dente, amenorreia, dispepsia, doenças hepáticas e venéreas, hanseníase, e no tratamento de doenças de pele (FABRI et al., 2013).

Ekalu e Abiche (2020), observando a presença de terpenos, esteroides, quinonas e alcaloides, evidenciaram para a espécie atividades antibacteriana, antifúngica, leishmanicida e antidiabética. Ferreira et al. (2020) comprovaram atividade antioxidante e fotoprotetor, devido aos flavonoides contidos na espécie.

De acordo com os resultados de testes referentes à espécie *M. frigidus*, obtidos por Souza et al. (2021), a espécie possui constituintes promissores que podem sugerir boa resposta farmacológica frente às suas atividades como antimicrobiana e citotóxica. Os autores ainda enfatizam que os alcaloides contidos na espécie apresentam significativa atividade para microrganismos oportunistas causadores de diversas doenças como meningite, além de apresentarem promissora inibição de linhagens tumorais leucêmicas. Frente a isso, os resultados exibidos abrem perspectivas para futuro isolamento, purificação e identificação das substâncias bioativas que possam ser utilizadas no tratamento de infecções microbianas e do câncer.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

Espécimes vegetais foram coletados no Município de Arapiraca, Alagoas - Brasil. Uma exsicata foi depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), para identificação botânica sob o número de tombamento 93878.

### 4.2 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

Na análise foi utilizado material vegetal fresco e fixado (FAA 50% – formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico) (KRAUS; ARDUIN, 1997). Secções transversais da raiz, caule e folha foram obtidas a mão livre com o uso da lâmina de barbear comum, tendo como suporte a medulada pecíolo de embaúba (*Cecropia sp.*). Foram obtidos também secções paradérmicos das faces adaxial e abaxial da lâmina foliar (JOHANSEN, 1940). Em seguida as secções transversais e paradérmicos foram submetidas a uma solução de hipoclorito de sódio (50%) para descoloração (KRAUS; ARDUIN, 1997) e lavadas posteriormente três vezes em água destilada. As secções transversais foram coradas com Safrablau e as secções paradérmicas com azul de metileno, seguindo a técnica descrita por Bukastsch (1972) e Krauter (1985). Em seguida todas as secções foram montadas em lâminas semipermanentes, seguindo procedimentos usuais em anatomia vegetal (JOHANSEN, 1940; SASS, 1951). A análise de todas as lâminas foi realizada utilizando microscópio óptico de luz e de polarização (Leica DM750M), acoplado com câmera digital (Leica ICC50W), através da qual foram obtidas imagens processadas em *software* (LAS EZ).

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA

Os testes histoquímicos foram realizados em secções transversais das lâminas foliares frescas seguindo a mesma metodologia descrita para caracterização anatômica (JOHANSEN, 1940). No quadro 1 estão listados os reagentes utilizados na caracterização histoquímica. As imagens digitais das lâminas foliares foram

capturadas por microscópio óptico de luz (Leica DM750M), acoplado com câmera digital (Leica ICC50W), através da qual foram obtidas imagens processadas em *software* (LAS EZ).

Quadro 1 – Metodologia utilizada para a análise histoquímica da lâmina foliar

| <b>SUBSTÂNCIA</b>             | <b>REAGENTE</b>           | <b>REAÇÃO POSITIVA</b>  | <b>REFERÊNCIA</b>               |
|-------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| Alcaloides                    | Dragendorff               | Laranja                 | YODER;<br>MAHLBERG,<br>1976     |
| Amido                         | Lugol                     | roxo                    | JOHANSEN, 1940                  |
| Compostos fenólicos           | Dicromato de potássio 10% | Marrom escuro           | JOHANSEN, 1940                  |
| Cristais de oxalato de cálcio | Ácido clorídrico 10%      | Dissolução dos cristais | JENSEN, 1962                    |
| Ligninas                      | Fluoroglucinol            | Róseo-vermelho          | JOHANSEN, 1940                  |
| Compostos lipofílicos         | Sudan III                 | Vermelho                | MACE; HOWELL,<br>1974           |
| Taninos                       | Vanilina clorídrica       | Vermelho                | MACE; HOWELL,<br>1974           |
| Triterpenos e esteroides      | Tricloreto de antimônio   | Vermelho alaranjado     | MACE; BELL;<br>STIPANOVIC, 1974 |

Fonte: Randau et al., 2004.



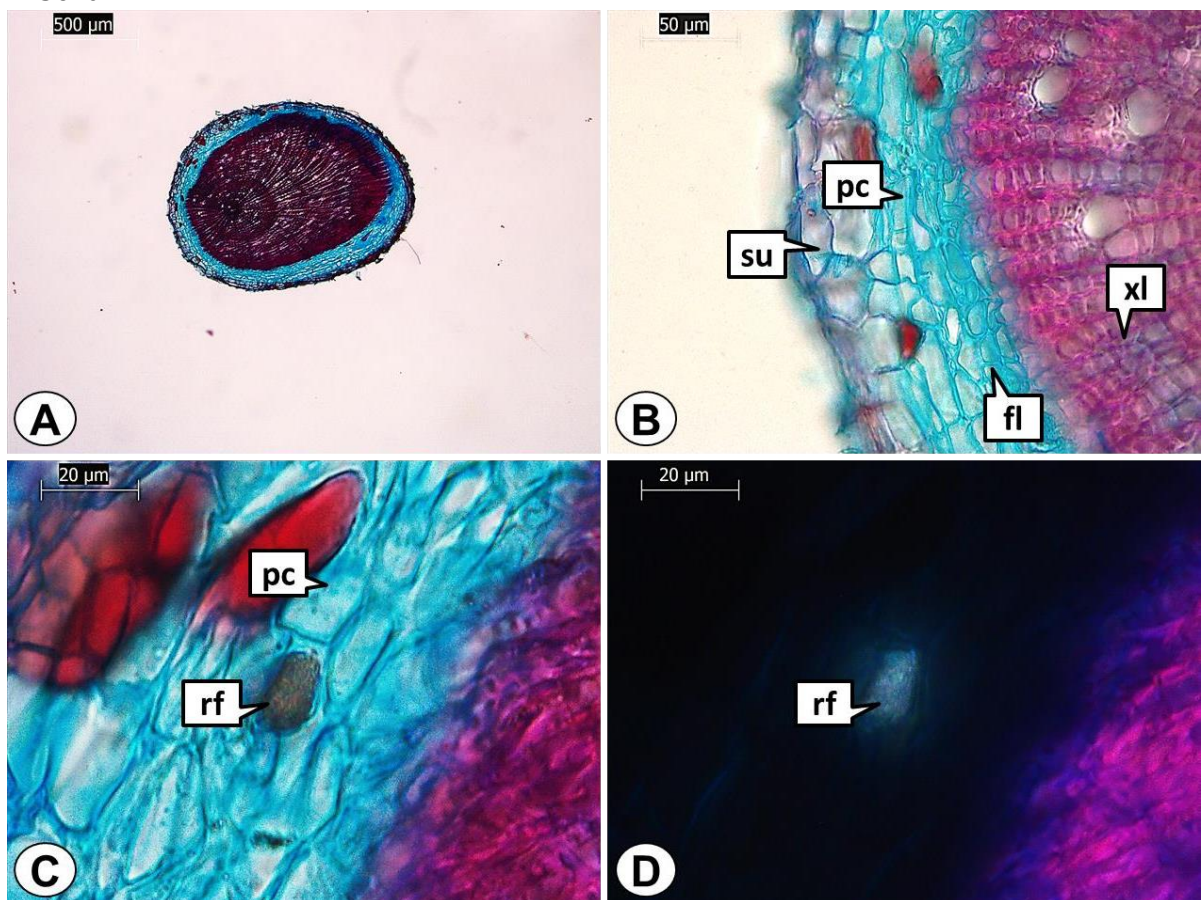
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

#### 5.1.1 Raiz

Em secção transversal da raiz em crescimento secundário observa-se formato ovoide (FIGURA 2A). Observa-se súber apresentando felema com 2 camadas de células (FIGURA 2B). Após o súber encontra-se 2-3 camadas de parênquima cortical (FIGURA 2B e 2C). O cilindro vascular é do tipo colateral, apresentando floema circundando todo o xilema (FIGURA 2B). Cristais do tipo ráfide foi observado no parênquima cortical de *M. frigidus* (FIGURA 2C e 2D). Metcalfe e Chalk (1950) descreveram cristais do tipo ráfides como característica comum à família Rubiaceae.

Figura 2 – Secção transversal de raiz de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum

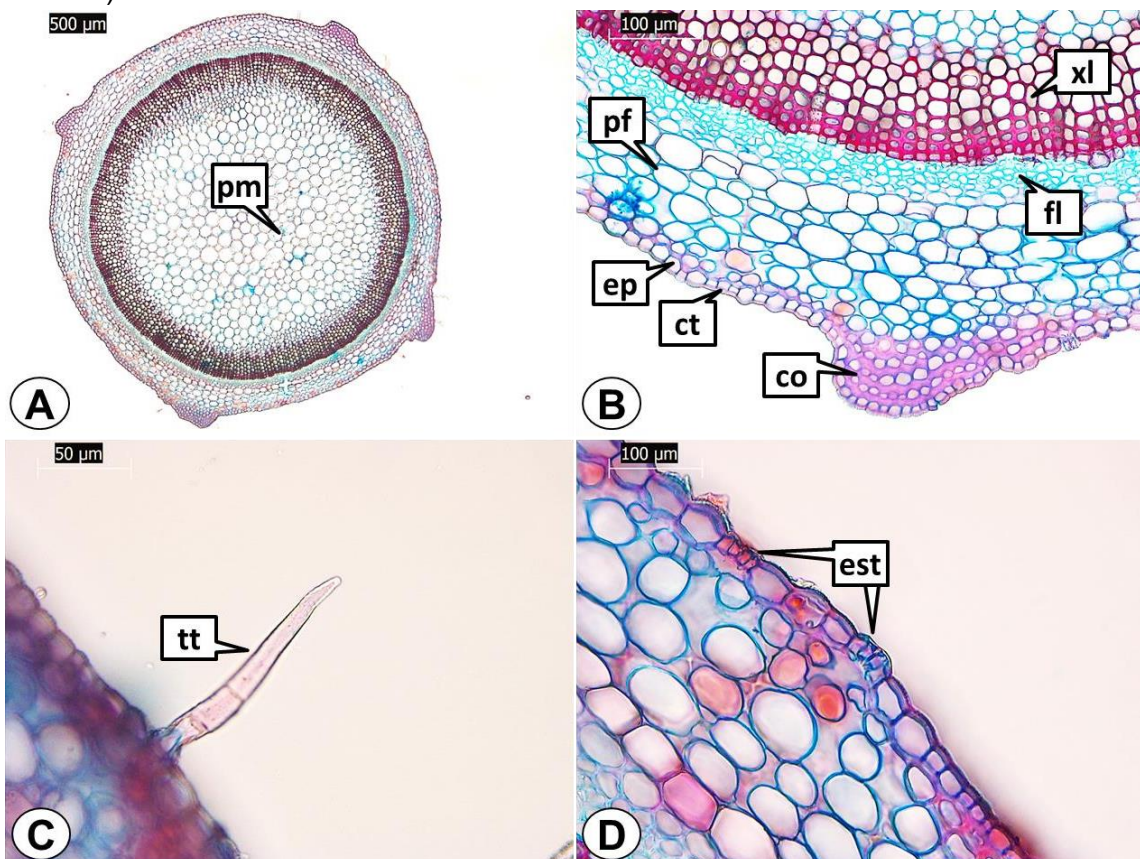


A-D: Raiz em crescimento secundário. fl: floema; pc: parênquima cortical; rf: ráfide; su: súber; xl: xilema. Fonte: Autoria própria.

### 5.1.2 Caule

Em secção transversal observa-se caule em secundário com formato circular apresentando quatro proeminências distribuídas de forma similar (FIGURA 3A). A cutícula espessa recobre a epiderme unisseriada (FIGURA 3B). Observa-se 3-4 camadas de colênquima angular nas quatro proeminências e 1 camada distribuída de forma contínua por todo caule (FIGURA 3B). Parênquima fundamental é observado em seguida ao colênquima (FIGURA 3B). O cilindro vascular é caracterizado como colateral, apresentando floema e xilema bem definidos (FIGURA 3B). Parênquima medular é observado na região central do caule (FIGURA 3A). Observa-se tricomas tectores (FIGURA 3C) e estômatos no caule (FIGURA 3D).

Figura 3 – Secção transversal de caule de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum



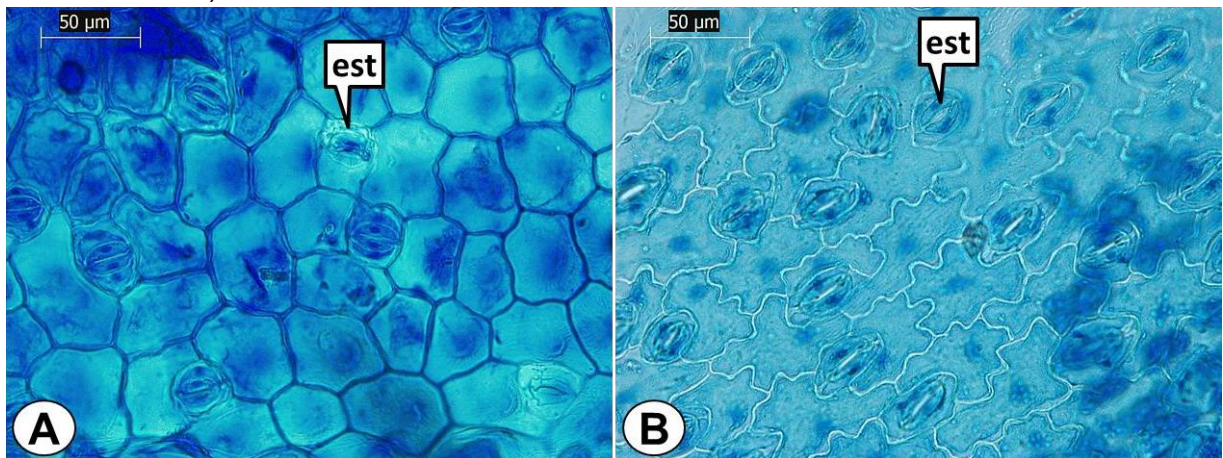
A-D: Caule em crescimento secundário. co: colênquima; ct: cutícula; ep: epiderme; est: estômato; fl: floema; pm: parênquima medular; tt: tricoma tector; xl: xilema. Fonte: Autoria própria.



### 5.1.3 Lâmina foliar

Nas secções paradérmicas, a lâmina foliar de *Mitracarpus frigidus* apresenta na face adaxial células epidérmicas com paredes retas (FIGURA 4A) e na abaxial células epidérmicas com paredes sinuosas (FIGURA 4B). A lâmina foliar é classificada como anfiestomática com estômatos paracíticos em ambas as faces (FIGURA 4A e 4B). *Mitracarpus hirtus* (L.) DC. apresenta lâmina foliar anfiestomática, já *Manettia tweedieana* K.Schum. Mart. Apresenta lâmina foliar hipoestomática (ZINI et al., 2016). Metcalfe e Chalk (1979) destacaram para família Rubiaceae lâminas foliares hipoestomática ou anfiestomática com estômatos paracíticos. Em *M. frigidus* nesse estudo encontrou-se somente estômatos paracíticos.

Figura 4 – Secções paradérmicas da lâmina foliar de *Mitracarpus aff. frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum



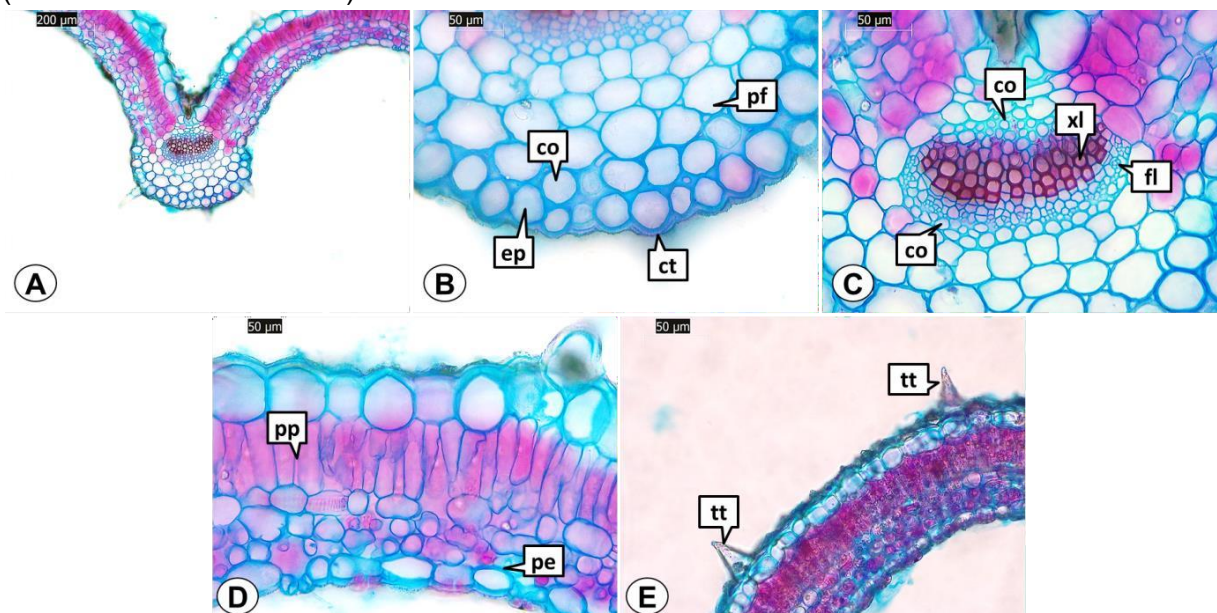
A: Face adaxial; B: Face abaxial. est: estômato. Fonte: Autoria própria.

A nervura central exibe um contorno biconvexo (FIGURA 5A). Observa-se cutícula fina recobrindo a epiderme unisseriada (FIGURA 5B). *M. hirtus* apresenta lâmina foliar, em secção transversal, com epiderme uniestratificada e cutícula delgada (ZINI et al., 2016). Adjacente a epiderme observa-se 1 camada de colênquima angular na face abaxial (FIGURA 5B). Observa-se ainda 1-3 camadas de colênquima angular próximo ao xilema e 1 camada próximo ao floema (FIGURA 5C). Em *M. hirtus* foi observado a presença de colênquima anelar (ZINI et al., 2016). Observa-se 3 camadas de parênquima fundamental (FIGURA 5B). O feixe vascular é do tipo colateral aberto disposto em um único feixe central (FIGURA 5C). Os feixes vasculares dos representantes da Rubiaceae são geralmente colaterais como

descrito em outros trabalhos para *Psychotria* (MORAES et al., 2011) e *Rudgea*

(MANTOVANI; VIEIRA, 1997). Em *M. hirtus* foi observado feixe vascular em forma de arco e a presença de cristais do tipo ráfides na lâmina foliar (ZINI et al., 2016).

Figura 5 – Secção transversal da nervura central e do mesofilo de *Mitracarpus frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum



A: Aspecto geral nervura central; B-C: detalhes da nervura central; D-E: mesofilo. co: colênquima; ct: cutícula; ep: epiderme; fl: floema; pe: parênquima esponjoso; pf: parênquima fundamental; pp: parênquima paliçádico; tt: tricoma tector; xl: xilema. Fonte: Autoria própria.

O mesofilo é dorsiventral composto por 1 camada de parênquima paliçádico e 3 camadas de parênquima esponjoso (FIGURA 5D). Lâmina foliar dorsiventral é uma característica anatômica comum à família Rubiaceae (METCALFE; CHALK, 1979). O mesofilo de *M. hirtus* foi descrito com apenas uma camada de parênquima paliçádico e 2-3 camadas de parênquima esponjoso (ZINI et al., 2016). Tricomas tectores são observados em toda lâmina foliar (FIGURA 5E). Em *M. hirtus* não foi descrito a presença de tricomas na lâmina foliar (ZINI et al., 2016).

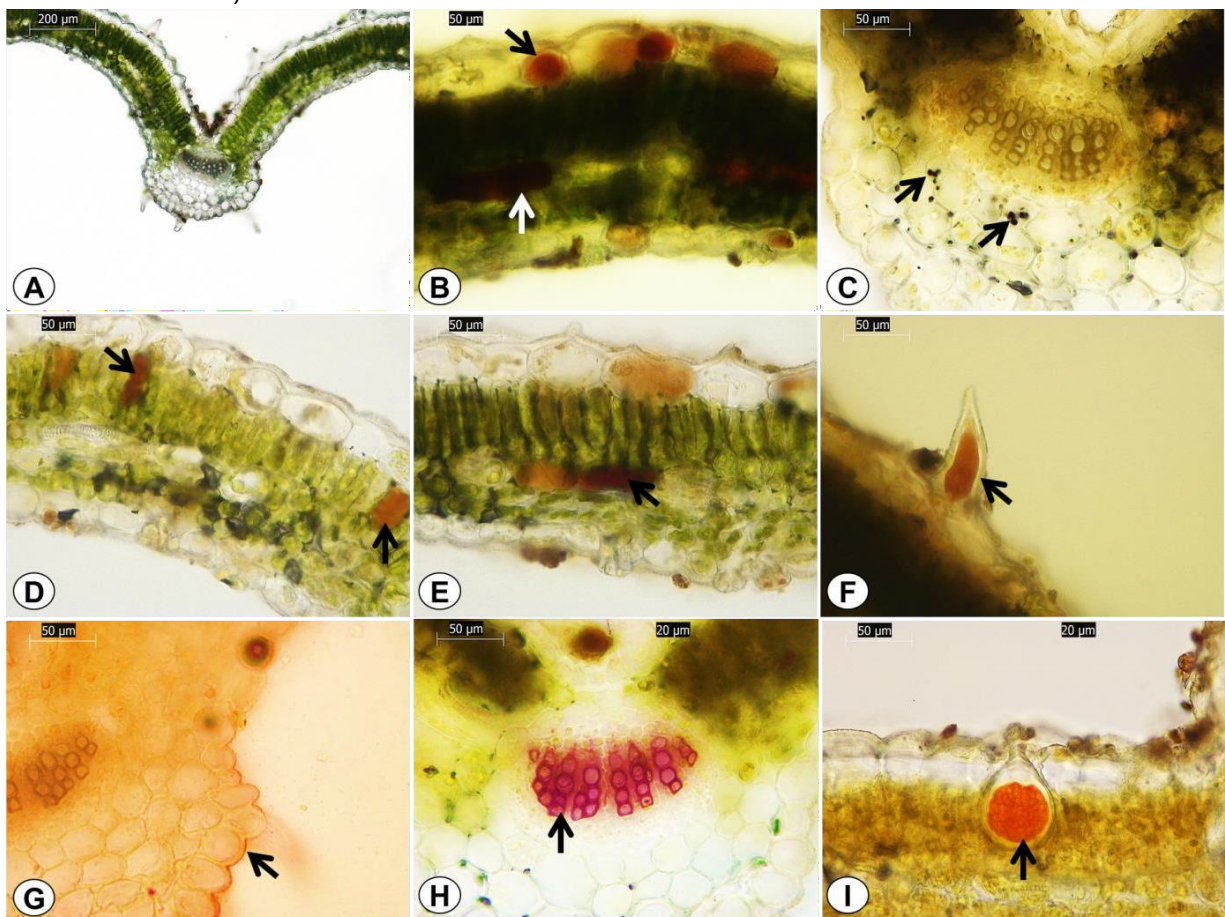
## 5.2 CARACTERIZAÇÃO HISTOQUÍMICA

A Figura 5 apresenta os resultados da histoquímica, mostrando na Figura 6A, em secção transversal, a lâmina foliar sem adição de nenhum reagente utilizada como controle. Alcaloides foram observados na epiderme e no parênquima esponjoso (FIGURA 6B). Em prospecção fitoquímica foi identificado alcaloides na espécie (SOUZA, 2013; EKALU; ABICHE, 2020). Amido foi evidenciado no



parênquima fundamental (FIGURA 6C) e compostos fenólicos no parênquima paliádico (FIGURA 6D), parênquima esponjoso (FIGURA 6E) e no tricoma tector (FIGURA 6F). Na cutícula foram observados compostos lipofílicos (FIGURA 6G). Lignina foi observada no xilema do feixe vascular (FIGURA 6H). Na figura 6I observa-se idioblasto contendo triterpenos e esteroides. Esteroides já foram identificados em prospecção fitoquímica (SOUZA, 2013; EKALU; ABICHE, 2020). O teste para taninos deu negativo. Souza (2013) identificou em *M. frigidus* taninos em estudo fitoquímico.

Figura 6 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Mitracarpus frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum



A: controle; B: Dragendorff; C: lugol; D-F: dicromato de potássio; G-H: Sudan III; I: fluoroglucinol; J-K: ácido clorídrico. Fonte: Autoria própria.

## 6 CONCLUSÃO

Esse estudo possibilitou a identificação de parâmetros anatômicos e histoquímicos para a diagnose de *Mitracarpus frigidus* (Willd. Ex Roem. & Schult.) K. Schum, podendo-se citar na raiz súber apresentando felema com 2 camadas de células, 2-3 camadas de parênquima cortical, cilindro vascular do tipo colateral, e cristais do tipo ráfides ; caule com formato circular com 4 proeminências, colênquima angular distribuído nas proeminências do caule e tricomas tectores presentes também no caule e lâmina foliar; nervura central com contorno biconvexo apresentando 1 camada de colênquima angular, feixe vascular colateral aberto disposto em um único feixe central.

Através da análise histoquímica foram evidenciados a presença de metabólitos importantes para o funcionamento da espécie, como alcaloides, amido, compostos fenólicos, compostos lipofílicos, lignina e triterpenos e esteroides, bem como de fonte para atividades farmacológicas.

Assim, esse estudo contribui com a padronização farmacobotânica da espécie *Mitracarpus frigidus* e trouxe dados sobre anatomia e histoquímica de seus órgãos vegetativos.

## REFERÊNCIAS

- BREMER, B.; ERIKSSON, T. Time Tree of Rubiaceae: Phylogeny and Dating the Family, Subfamilies, and Tribes. **International Journal of Plant Sciences**, v. 170, n. 6, p. 766–793, jul. 2009.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, n. 8, p. 255, 1972.
- COLE, T. C. H.; CARVALHO, F. A.; SHIMIZU, G. **Filogenia das Rubiaceae**, 2021.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: UNESP, 2002.
- EKALU, A. Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Activities of *Mitracarpus* species (Rubiaceae): A Review. **Scientific African**, p. e00692, 2020.
- FABRI, R. L. et al. Antitumor, antibiotic and antileishmanial properties of the Pyranonaphthoquinone Psychorubrin from *Mitracarpus frigidus*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 4, p. 1081–1090, 4 out. 2012.
- FERREIRA, K. C.; et al. **Avaliação das atividades antioxidante e fotoprotetora in vitro de partições do extrato metanólico de *Mitracarpus frigidus* (Rubiaceae)**. Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2020.
- FLORA DO BRASIL. *Rubiaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB210>. Acesso em: 19 out. 2022.
- IROB, O. N.; DARAMOLA, S. O. Bactericidal properties of crude extracts of *Mitracarpus villosus*. **J Ethnopharmacol**, v. 42, p. 39-43, 1994.
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry, principles and practice**. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408 p.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc., 1940. 523p.
- JUNG-MENDAÇOLLI, S. L. Rubiaceae. In: Wanderley M.G.L., Shepherd G.J., Melhem T. S.; Giulietti A.M. (Orgs). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v. 5. São Paulo: Instituto de Botânica, 2007. p. 259-446.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico em métodos de morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198p.



KRAUTER, D. Erfahrungen mit Etzolds FSA-Färbung für pflanzenschnitte. *Mikrokosmos*, v. 74, p. 231-233, 1985.

MABBERLEY, D.J. **The plant-book**: a portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press, Cambridge, 1997.

MACE, M. E.; BELL, A. A.; STIPANOVIC, R. D. Histochemistry and isolation of gossypol and related terpenoids in root of cotton seedlings. **Phytopathology**, v. 64, p. 1297-1302, 1974.

MACE, M. Z.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursors in roots of cotton seedlings. **Can. J. Bot.**, v. 52, p. 2423-2426, 1974.

MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Leaf surface of two understoreyshrubs *Rudgea decipiens* Müll. Arg. And *Rudgea macrophylla* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, v. 45, n. 49, p. 7-13, 1997.

MENDOZA, H.; BERNARDO, R.; RAMÍREZ, P.; JIMÉNEZ, L. C. **Rubiaceae de Colômbia**: guía ilustrada de géneros. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexandre von Humboldt, 2004. 351p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economy uses**. Oxford, Clarendon press, 1950.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons**. 2 ed. Oxford University Press, Oxford, 1979.

MORAES, T. M. S.; et al. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain forest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, p. 168-177, 2011

PORTO, M. L.; et al. Tribo Spermacoceae. Rubiaceae I. In: HOMRICH, M.H. (Coord.). **Flora Ilustrada do Rio Grande do Sul**. Boletim do Instituto Central de Biociências. Porto Alegre: Série Botânica 5, 1977. 114 p.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames: The Iowa State College Press, 1951. 391p.

SOUZA, E. B.; et al. **Mitracarpus in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB14117>. Acesso em: 19 out. 2022

SOUZA, E. B.; CABRAL, E. L.; ZAPPI, D. C. Revisão de *Mitracarpus* (Rubiaceae – Spermacoceae) para o Brasil. **Rodriguésia**, v.61, n.2, p.319-352, 2010.

SOUZA, T. F.; et al. **Evaluation of the antimicrobial and cytotoxic activities of alkaloid-rich fractions obtained from *Mitracarpus frigidus* aerial parts (Rubiaceae)**. Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, 2021.

STEYERMARK, J. A. Rubiaceae. In: LASSER, T.; STEYERMARK, J.A. (Eds.). **Flora de Venezuela**. Caracas: Instituto Botánico, 1974. vol. 9, n. 1-3, p. 1-2070.

TAYLOR, C. M.; CAMPOS, M. T. V. A.; ZAPPI, D. **Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil**: Rubiaceae. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2007.

YODER, L. R.; MAHLBERG, P. G. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). **Am. J. Bot.**, v. 63, p. 1167-1173, 1976.