



## Anatomia dos órgãos vegetativos de *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. (Rubiaceae)

### *Anatomy of vegetative organs of Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. (Rubiaceae)

Elisa Mitsuko Aoyama<sup>1</sup>, Alexandre Indriunas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro

#### RESUMO

O presente trabalho tem objetivo de caracterizar a anatomia dos órgãos vegetativos de *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. O material vegetal foi coletado em área da Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa, Espírito Santo. As plantas foram fixadas em FAA, mantidas por 48 horas e posteriormente transferidas para etanol 70%. Amostras da porção mediana das raízes e caules, bem como folhas adultas, retiradas do 4º ao 6º nós (pecíolo e limbo), foram seccionadas transversalmente, à mão livre, com auxílio de lâmina de barbear e placa de poliestireno expandido. Para determinação da natureza das paredes celulares e dos conteúdos citoplasmáticos, testes microquímicos foram realizados, com material recém-coletado, para amido, lignina, compostos fenólicos, lipídios e para verificar a natureza dos cristais. A caracterização anatômica de *C. cordifolium* e a comparação com outras publicações com espécies do gênero, contribuem para a ampliação do conhecimento desta grande e complexa família. Considerando ainda que os tricomas tem importância taxonômica para o gênero, estudos adicionais com plantas submetidas a variações nas condições ambientais ou com espécimes de diferentes origens, já que a espécie apresenta ampla distribuição, devem ser conduzidos a fim de verificar se a tipologia e densidade são mantidas.

**Palavras-chave:** tricomas, Rubioideae, anatomia foliar, taxonomia.

#### ABSTRACT

The present work aims to characterize the anatomy of vegetative organs of *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. The plant material was collected at Santa Lúcia Biological Station, Santa Teresa, Espírito Santo. The plants were fixed in FAA, maintained for 48 hours, and later transferred to 70% ethanol. Median portion of the roots and stems, as well from adult leaves (taken from the 4th to the 6th nodes, from petiole and limbus), samples were sectioned transversely, freehand, with the aid of a razor blade and Styrofoam plate. Micro-



chemical tests were performed with freshly collected material to access the nature of cell walls and cytoplasmic contents, for starch, lignin, phenolic compounds, lipids and to verify the nature of the crystals. The anatomical characterization of *C. cordifolium* and the comparison with other works with genus species, bring information that can contribute to the knowledge of this large and complex Family. Since the trichomes are taxonomically important for the genus, other studies should be carried out with plants subjected to variations in environmental conditions or within specimens of different origins, since the species has a wide distribution, to verify whether the typology and density are maintained.

**Key words:** trichome, Rubioideae, leaf anatomy, taxonomy.

## INTRODUÇÃO

Rubiaceae é a quarta maior família em número dentre as Angiospermas, com mais de 13000 espécies e 611 gêneros (Delprete & Jardim, 2012), no Brasil ocorrem cerca de 1400 espécies em 125 gêneros (Barbosa et al., 2016). Apresentando os mais diversos hábitos, compreendendo árvores, arbustos, subarbustos, ervas, trepadeiras, lianas ou epífitas (Jung-Mendaçolli, 2007).

Na literatura existem vários trabalhos anatômicos com representantes de Rubiaceae, como o de Kocsis et al. (2004) com espécies de *Rondeletia* neotropicais, Martínez-Cabrera et al. (2009) que estudaram espécies da Tribo Hamelieae e outras e Conceição & Aoyama (2015) com a descrição morfoanatômica foliar de *Diodella teres* (Walter) Small, entre outros.

Nesta grande e diversa família, alguns gêneros com menor número de espécies acabam por não receber atenção em estudos anatômicos detalhados, como *Coccocypselum* P. Browne. *Coccocypselum* P. Browne (Rubiaceae – Rubioideae – Coussareea *sensu* Bremer & Eriksson (2009))

compreende um pequeno gênero com cerca de 20 espécies com ampla distribuição nos Neotrópicos (Costa e Mamede, 2007) e no Brasil ocorrem 16 espécies (Zappi et al., 2020). Segundo Costa & Mamede (2002), o gênero pode ser facilmente reconhecido pelo hábito herbáceo, pelas estípulas unilaciniadas, pelas inflorescências congestionadas com flores tetrâmeras, distílicas, com ovário bilocular multiovulado, placenta horizontal e bagas azuis ou roxas, com muitas sementes. Piesschaert et al. (2000) assinalam que ainda podem ser reconhecidos pelo indumento denso e geralmente vívido, muito embora Costa & Mamede (2002, 2007) apontem espécies glabras, glabrescentes ou seríceas. Atualmente, trabalhos de filogenia com base em dados moleculares estabelecem o posicionamento do gênero na subfamília Rubioideae, tribo Coussareea (*sensu* Bremer & Eriksson (2009)).

Algumas espécies do gênero são apontadas como medicinais como *Coccocypselum hispidulum* (Standl.) Standl., a qual é utilizada pelos Cogui da Colômbia como antidiarreico e para o alívio de dores abdominais (Carbonó-Delahoze e Dib-Diazgranados,



2013). *Coccocypselum lanceolatum* (Ruiz y Pavón) Pers. de uso medicinal e ornamental (Sanqueta et al., 2010), foi alvo de estudos fitoquímicos em que apontam a presença de saponinas, cumarinas, fenóis e triperpenoides em extrato etanólico (Pino-Benítez, 2006). Do mesmo modo, o extrato etanólico de *C. hirsutum* Bartl. ex DC. apresenta esteroides e/ou triterpenoides e cumarinas (Martínez, 2009). *C. aureum* (Spreng.) Cham. & Schltdl., por sua vez, é acumuladora de alumínio (Castro, 2013).

Para este gênero há dois estudos anatômicos, o de Castro (2013) onde a anatomia foliar de *C. aureum* (Spreng.) Cham. & Schltdl é empregada para avaliar a histolocalização de alumínio em plantas do cerrado e o de Matos (2011), em estudo da anatomia foliar de Rubiaceae aplicada a taxonomia, onde são analisadas as espécies *C. hasslerianum* Chodat., *C. lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers. e *C. krauseanum* Standl. Nenhum dos estudos citados abordam anatomicamente todos os órgãos vegetativos.

*Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. é uma erva rastejante comumente encontrada em locais úmidos e sombreados compondo o extrato herbáceo de florestas ombrófilas densas. Ocorre no México, América Central e Brasil, estando neste último localizada no Distrito Federal e Mata Atlântica da Bahia ao Sul do país (Costa & Mamede, 2002; 2007). Segundo Costa & Mamede (2002), a espécie caracteriza-se pelos ramos hirsutos, folhas com pecíolos longos e lâminas cordiformes ou reniformes, tricomas retos, finos e macios por toda

planta, com inflorescências pedunculadas, cálice de lóbulos lineares desiguais, com tricomas somente na face abaxial, bagas arredondadas, azuis ou roxas.

Delprete & Jardim (2012) apontam a necessidade de melhor conhecimento das espécies de Rubiaceae da Região Sudeste, e principalmente do estado do Espírito Santo, sendo que a anatomia aponta como uma importante área para a compreensão do grupo. Dessa forma, o presente trabalho tem objetivo de caracterizar a anatomia dos órgãos vegetativos de *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi coletado em área da Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa, Espírito Santo, sendo o voucher depositado no herbário do Instituto Nacional da Mata Atlântica/MBML (MBML).

As plantas foram fixadas em FAA (formaldeído : ácido acético : álcool etílico 50%, 2:1:18, v/v), de acordo com Johansen (1940), mantidas por 48 horas e posteriormente transferidas para etanol 70%. Amostras da porção mediana das raízes e caules, bem como folhas adultas, retiradas do 4° a 6° nós (pecíolo e limbo), foram seccionadas transversalmente, à mão livre, com auxílio de lâmina de barbear e placa de poliestireno expandido. Como as secções obtidas são extremamente frágeis, foram montadas lâminas temporárias com glicerina 50%. As folhas foram



diafanizadas segundo técnica de Shobe & Lersten (1967).

Para determinação da natureza das paredes celulares e dos conteúdos citoplasmáticos, testes microquímicos foram realizados com material recém-coletado: reagente de Lugol para identificar amido (Johansen, 1940), solução de floroglucina em meio ácido para lignina (Jensen, 1962), Sudan IV para lipídios (Sass, 1951), cloreto férrico 10% para compostos fenólicos (Johansen, 1940) e ácido clorídrico 10% e ácido acético 10% para verificar a natureza dos cristais (Chamberlain, 1932).

As lâminas foram analisadas ao microscópio de luz, Leica® DM500 e as ilustrações obtidas em fotomicroscópio (modelo LEICA DM750), com câmera Leica® ICC50 HD, software LAS EZ (Leica Application Suite®) Version 2.1.0, com projeção de escalas micrométricas.

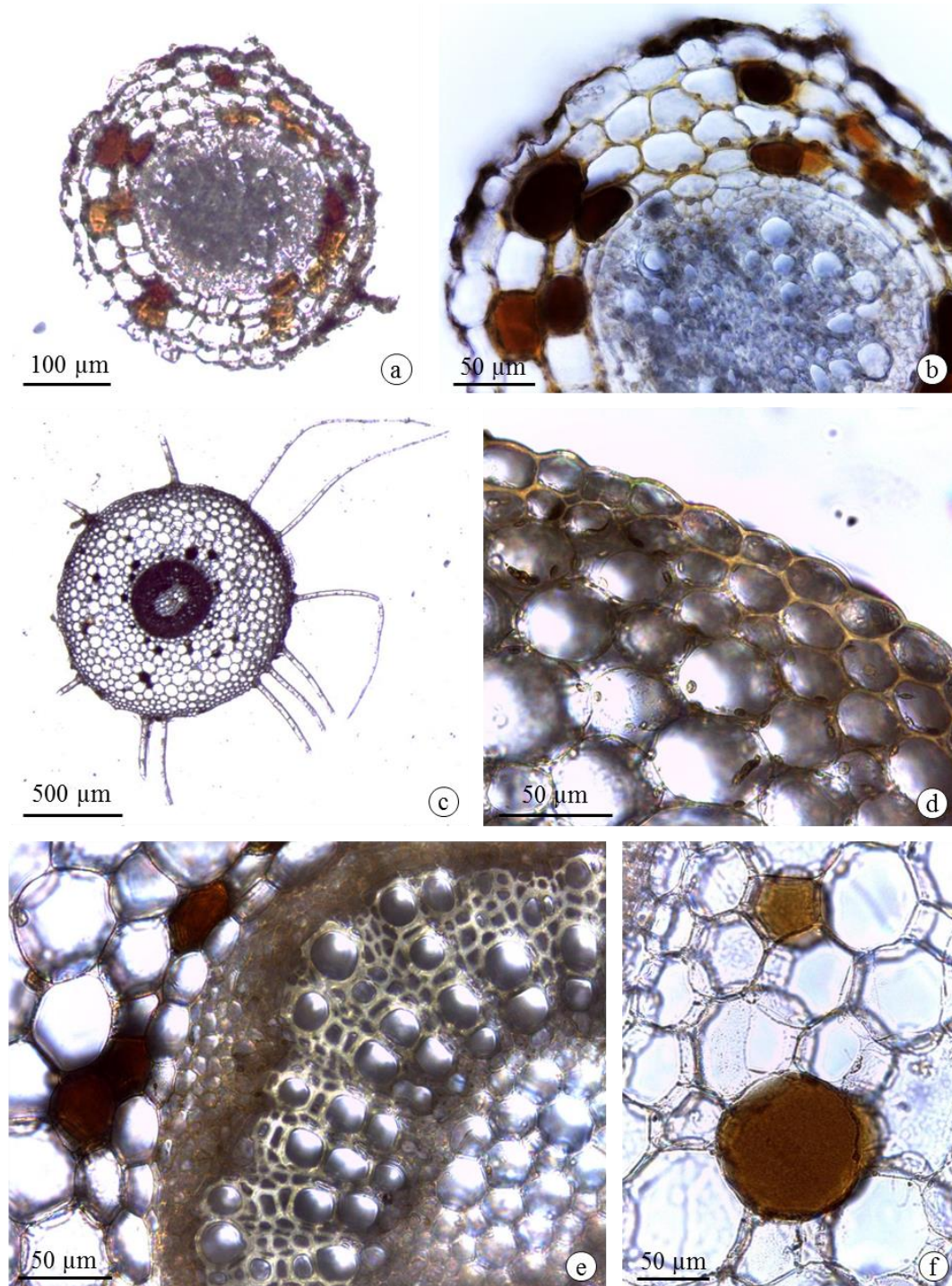
## RESULTADOS

Em secção transversal da região mediana, a raiz apresenta estrutura primária com epiderme uniestratificada com células retangulares. Nesta região não foram observados pelos absorventes (figura 1a). Abaixo da epiderme, na região cortical ocorrem duas camadas de parênquima fundamental com discretos espaços intercelulares. Neste parênquima pode-se observar inúmeros idioblastos de conteúdo fenólico (figura 1b). Internamente ao

córtex ocorre a endoderme constituída por células retangulares estreitas com estrias de Caspary. Delimitando o cilindro vascular ocorre camada uniestratificada de periciclo, internamente corre floema e xilema primários com cerca de 12 pólos de protoxilema e a região central preenchida por esclerênquima com células lignificadas (figura 1b).

Em secção transversal da região mediana, o caule apresenta estrutura primária com epiderme uniestratificada com células quadrangulares e inúmeros tricomas tectores unisseriados pluricelulares, com 5 a 7 células (figura 1c). Abaixo da epiderme, na região cortical, ocorrem duas camadas de colênquima do tipo lacunar (figura 1d), seguidas por 2 a 3 estratos de parênquima clorofiliano e 5 a 7 de parênquima fundamental com discretos espaços intercelulares, observando idioblastos com compostos fenólicos. Delimitando o cilindro vascular ocorre endoderme uniestratificada com amiloplastos, constituindo uma bainha amilífera. Observa-se a presença de floema e xilema primários (figura 1e) e a região central é preenchida por parênquima fundamental e idioblastos com compostos fenólicos (figura 1f).

Em vista transversal, a região da nervura central, ao nível do terço médio, apresenta contorna biconvexo, sendo a maior convexidade voltada para a face abaxial (figura 2d).



**Figura 1** – Secções transversais de *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. a – Vista geral da raiz; b – Região cortical da raiz com idioblastos com compostos fenólicos; c – Vista geral do caule; d – Caule com epiderme uniestratificada e colênquima; e – Cilindro vascular do caule; f – Detalhe dos idioblastos com compostos fenólicos na região cortical caulinar.

Figure 1 – Transversal sections of *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. a – General view of the root; b – Cortical root region with idioblasts with phenolic compounds; c – General view of the stem; d – Stem with unistratified epidermis and collenchyma; e – Stem vascular cylinder; f – Detail of idioblasts with phenolic compounds in the stem cortical region.



As células epidérmicas apresentam delgada cutícula e têm diâmetro reduzido em relação às demais que compõe o limbo. Abaixo da epiderme ocorre de 1 a 3 estratos de colênquima lacunar. Entre o colênquima e o sistema vascular estão presentes 3 estratos parenquimáticos na face adaxial e 4 a 5, na abaxial. O sistema vascular em forma de arco central é constituído por um feixe colateral. Abaixo ocorrem quatro camadas de parênquima fundamental com células isodiamétricas maiores com paredes celulares delgadas, com pequenos espaços intercelulares e três camadas de colênquima lacunar.

Em vista transversal, a lâmina foliar apresenta epiderme uniestratificada em ambas as faces com células de formato quadrangular recobertas por delgada cutícula. O mesofilo é dorsiventral (figura 2e), com uma única camada de parênquima paliçádico e 2 a 3 camadas de parênquima lacunoso. Os estômatos são elevados em relação às demais células epidérmicas (figura 2e).

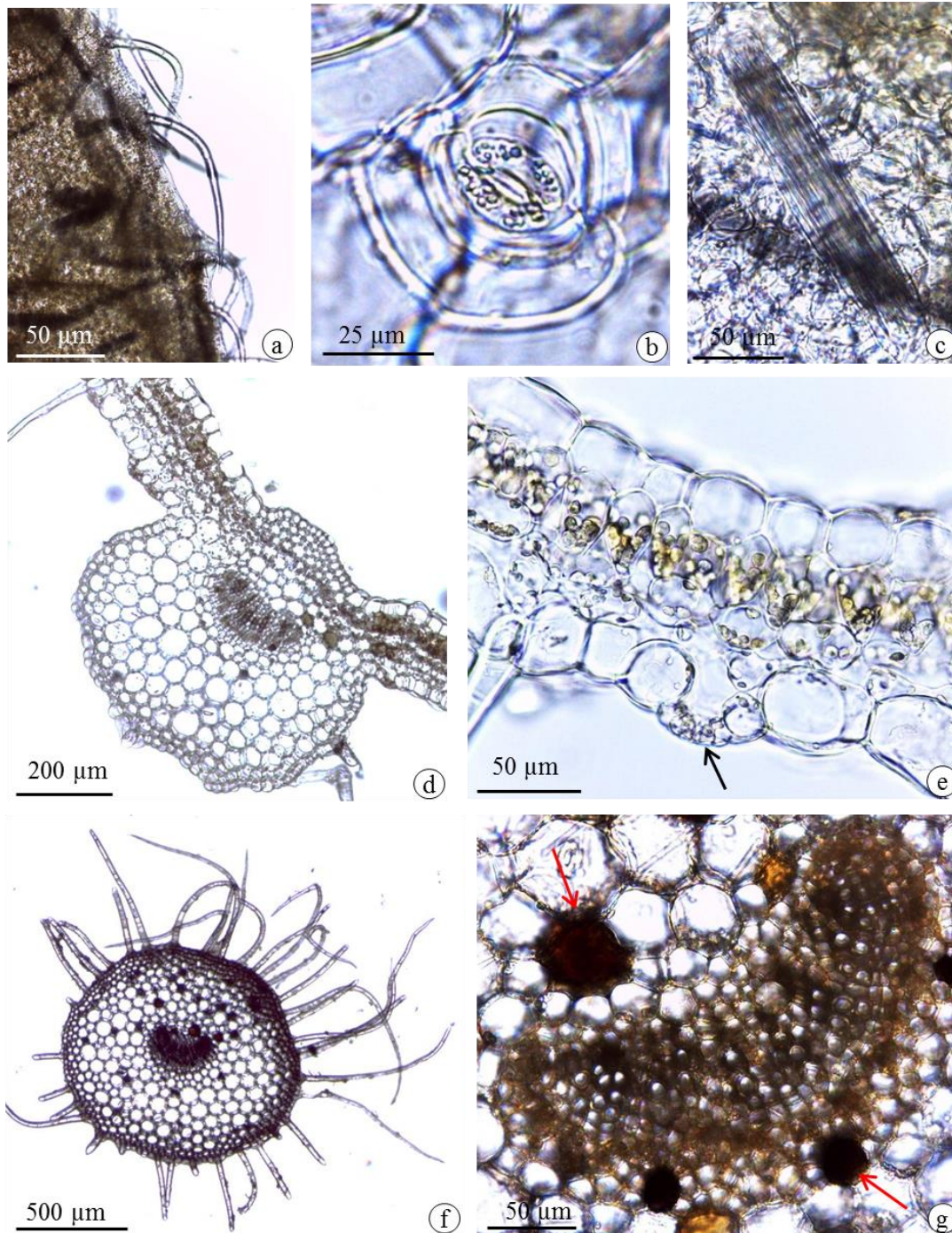
O pecíolo em secção transversal tem contorno circular (figura 2f). A epiderme é uniestratificada, com presença de tricomas tectores pluricelulares. Em posição subepidérmica ocorre uma bainha constituída por colênquima lacunar. O parênquima subjacente é do tipo fundamental com idioblastos contendo compostos fenólicos e

inúmeros outros com feixes de cristais de oxalato de cálcio do tipo ráfides. O sistema vascular é constituído por feixe colateral na forma de arco central (figura 2g).

## DISCUSSÃO

Rubiaceae não somente por ser uma família com grande número de espécies, mas também por possuir grande diversidade de hábitos e extrema variedade morfológica, torna a comparação em estudos anatômicos dificultosa e somente relevante quando entre plantas de mesmo hábito ou de grupos taxonomicamente próximos.

Os trabalhos anatômicos do gênero *Coccocypselum* são escassos, quantos aos caracteres estruturais radiculares, não foram observados estudos. Em estudo de Castro (2013) foram observadas as características anatômicas do caule de *C. aureum* (Spreng.) Cham. & Schldl. São características comuns o formato cilíndrico do caule em secção transversal, a presença de colênquima, bainha amilífera, sistema vascular constituído por feixes colaterais, presença de ráfides e de idioblastos com compostos fenólicos. Porém, difere de *C. cordifolium* por apresentar esclereídes localizados próximos à endoderme.



**Figura 2** – Secções foliares de *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. a, b e c – Vista frontal, a – Margem foliar com tricomas tectores pluricelulares; b – Estômato paracítico; c – Cristais do tipo ráfides; d a g – Secções transversais, d – Nervura Central; e – Limbo com mesofilo dorsiventral, estômato (seta); f – Pecíolo; g – Detalhe do feixe vascular, idioblastos com compostos fenólicos (setas vermelhas).

Figure 2 - Leaf sections of *Coccocypselum cordifolium* Nees & Mart. a, b e c – Frontal view, a - Leaf margin with pluricellular tectors trichomes; b - Paracitic stoma; c - Raphid type crystals; d a g – Transversal sections, d – Central rib, e – Limbus with dorsiventral mesophyll, stomata (arrow); f – Petiole; g – Detail of the vascular bundle, idioblasts with phenolic compounds (red arrows).



As espécies avaliadas em outros trabalhos, como o de Castro (2013) para *C. aureum* e de Mattos (2011) para *C. hasslerianum* Chodat., *C. lanceolatum* (Ruiz & Pav.) Pers. e *C. krauseanum* Standl., apresentam características semelhantes àquelas da espécie aqui estudada, sendo estas: os estômatos paracíticos, presença de ráfides, mesofilo dorsiventral e pecíolo com sistema vascular em arco aberto. Entretanto, as espécies apresentam estruturas distintas como: *C. lanceolatum* que possui epiderme da face adaxial papilosa e tricomas com a extremidade curvada formando um gancho; folhas glabras em *C. krauseanum*, já *C. hasslerianum* difere pelas nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática com cloroplastos. *C. cordifolium* por sua vez assemelha-se com *C. krauseanum* por apresentar células epidérmicas da face adaxial e abaxial com volumes semelhantes, porém esta última é glabra, enquanto na espécie estudada são encontrados tricomas tectores pluricelulares com célula apical afilada.

Costa & Mamede (2002) na sinopse do gênero *Coccocypselum* P. Browne comentam que o indumento das espécies é constituído de tricomas pluricelulares, simples, unisseriados ou incompletamente septados, com paredes celulares externas espessas e os septos mais delgados que estas. O indumento é sempre uniforme, ocorrendo tricomas do mesmo tipo em todas as estruturas da planta, com variação apenas no tamanho. As espécies podem variar de totalmente glabras (*C. condalia*, *C. krauseanum*), glabrescentes ou seríceas

(*C. condalia*, *C. krauseanum*), velutinas (*C. lanceolatum*), ou hirsutas (*C. campanuliflorum*, *C. cordifolium*, *C. condalia*, *C. erythrocephalum*, *C. hasslerianum*). A análise anatômica de *C. cordifolium* corrobora com o apresentado por Costa & Mamede (2002).

Para muitas espécies de *Coccocypselum*, a densidade do indumento é um caráter distintivo. Porém, quando se analisa uma grande quantidade de material, de ampla distribuição e ocorrência em diferentes ambientes, é possível verificar que esta característica é bastante variável.

## CONCLUSÕES

A caracterização anatômica de *C. cordifolium* e a comparação com outros trabalhos com espécies do gênero, trazem informações que podem contribuir para conhecimento desta grande e complexa família. Visto que os tricomas tem importância taxonômica para o gênero, outros estudos devem ser realizados com plantas submetidas a variações nas condições ambientais ou com espécimes de diferentes origens, já que a espécie possui ampla distribuição, a fim de verificar se a tipologia e densidade são mantidas.

## AGRADECIMENTO

Ao Ms. Hélio de Queiroz Boudet Fernandes pelo apoio ao projeto e ao INMA/MBML pela autorização de coleta e apoio logístico.





## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. R.; ZAPPI, D.; TAYLOR, C.; CABRAL, E.; JARDIM, J. G.; PEREIRA, M. S.; CALIÓ, M. F.; PESSOA, M. C. R.; SALAS, R.; SOUZA, E. B.; DI MAIO, F. R.; MACIAS, L.; ANUNCIACÃO, E. A. DA; GERMANO FILHO, P.; OLIVEIRA, J. A.; BRUNIERA, C. P.; M. GOMES & TONI, K. Rubiaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2016. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB210> (05/04/2016).
- BREMER, B. & ERIKSSON, O. Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating the Family, subfamily and tribes. **International Journal of Plant Science**, v. 170, p. 766-793, 2009.
- CARBONÓ-DELAHOZ, E. & DIB-DIAZGRANADOS, J. C. Plantas medicinales usadas por los Cogui en el Río Palomino, Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia). **Caldasia**, v. 35, n. 2, p. 333-350, 2013.
- CASTRO, L. M. R. **Anatomia e histolocalização de alumínio em espécies herbáceas e subarbustivas do cerrado**. 63 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2013.
- CHAMBERLAIN, C. J. **Methods in plant histology**. 5 ed. Chicago: The University of Chicago Press. 416 p. 1932.
- CONCEIÇÃO, L. O. & AOYAMA, E. M. Morfoanatomia e histoquímica foliar de *Diodella teres* (Walter) Small (Rubiaceae). **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 22, p. 2268-2277, 2015.
- COSTA, B. C. & MAMEDE, M. C. H. Sinopse do gênero *Coccocypselum* P. Browne (Rubiaceae) no estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 2, n.1, p. 1-14, 2002.
- COSTA, B. C. & MAMEDE, M. C. H. *Coccocypselum*, p. 292-298. In: Wanderley, M. G. L.; Shepherd, G. J.; Melhem, T. S. A.; Giuliatti, A. M. (Coords.). **Flora Fanerogâmica de São Paulo**. V. 5. São Paulo: Instituto de Botânica. 476 p. 2007.
- DELPRETE, P. G. & JARDIM, J. G. Systematic, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 101-128, 2012.
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. San Francisco: Freeman. 408 p. 1962.
- JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill. 523 p. 1940.
- JUNG-MENDAÇOLLI, S. L. Rubiaceae, p. 259-460. In: Wanderley, M. G. L.; Shepherd, G. J.; Melhem, T. S. A.; Giuliatti, A. M. (Coords.). **Flora Fanerogâmica de São Paulo**. V. 5. São Paulo: Instituto de Botânica. 476 p. 2007.
- KOCSIS, M.; DARÓK, J. & BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. **Plant Systematic and evolution**, v. 248, n. 1, p. 205-218, 2004.
- MARTÍNEZ, M. E. T. Estudio fitoquímico preliminar y actividad antimalárica del extracto etanólico total de *Coccocypselum hirsutum* (Rubiaceae). **Duazary**, v. 6, n. 2, p. 118-123, 2009.
- MARTÍNEZ-CABRERA, D.; TERRAZAS, T. & OCHOTERENA, H. Foliar and petiole anatomy of Tribe Hamelieae and



other Rubiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 96, n. 1, p. 133-145, 2009.

MATTOS, K. L. B. L. **Anatomia foliar aplicada à taxonomia em Rubiaceae Juss.** 102 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011.

PIESSCHAERT, F.; HUYSMANS, S.; JAIMES, I.; ROBBRECHT, E. & SMETS, E. Morphological evidence for an extend tribe – Coccocypseleae (Rubiaceae – Rubioideae). **Plant Biology**, v. 2, p. 536-546, 2000.

PINO-BENÍTEZ, N. Botánica y screening fitoquímico de doce plantas usadas en medicina tradicional en el Departamento del Chocó, Colombia. **Revista Latinoamericana de Recursos Naturales**, v. 2, n. 1, p. 33-44, 2006.

SANQUETA, C. R.; FERNANDES, L. A. V.; MIRANDA, D. L. C. & MOGNON, F. Inventário de plantas fornecedoras de produtos não madeireiros da floresta ombrófila mista no Estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 5, p. 359-369, 2010.

SASS, J. E. **Botanical Microtechnique**. Ames: The Iowa State College Press. 228 p. 1951.

SHOBE, W. R.; LERSTEN, N. R. A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. **Botanical Gazette**, n. 127, p. 150-152, 1967.

ZAPPI, D.; JARDIM, J. G. & CALIÓ, M. F. *Coccocypselum* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB13876>. Acesso em: 27 dez. 2020.