

# Morfoanatomia foliar de *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz: uma planta com potencial medicinal

 [Carolina Rodrigues Victor de Carvalho](#)<sup>1,2</sup>, Edyany Kellen Souza Soares<sup>1</sup> e  
Andreia Barroncas de Oliveira<sup>1</sup>

Recebido: 1 março 2018; aceito: 18 setembro 2019

**Como citar:** Carvalho, C.R.V., Soares, E.K.S. & Oliveira, A.B. 2019. Morfoanatomia foliar de *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz: uma planta com potencial medicinal. Hoehnea 46: e192018. <http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-19/2018>.

**ABSTRACT -** (Leaf morphoanatomy of *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz: a plant with medicinal potential). *Copaifera sabulicola* is an endemic species of the central-western region of Bahia and extreme north of Minas Gerais and still has gaps in botanical information. The present work anatomically characterized the leaflet and petiolule of *C. sabulicola*, with emphasis on the secretory structures and histolocalized the biologically active substances. Leaf samples were fixed in FNT, dehydrated in ethyl series and included in methacrylate. The histological sections were stained with toluidine blue and mounted on a permanent slide. Histochemical and phytochemical tests, dissociation and diaphanization of foliolar lamina were performed. Secretory cavities were found along the mesophyll, the central vein and the petiole. Vascular bundles surrounded by fibrous sheath and ornate cuticle were observed in the central vein and foliolar border. Phenolic compounds, alkaloids, proteins and structural lipids were detected in the histochemical tests, and in the phytochemical analysis, cathectic tannins, flavones, flavonoids, xanthones, steroids and terpenoids were detected. These characters help in the correct identification of the species.

**Keywords:** Copaíba, secretory structures, histochemistry, phytochemistry, Cerrado

**RESUMO -** (Morfoanatomia foliar de *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz: uma planta com potencial medicinal). *Copaifera sabulicola* é uma espécie endêmica da região centro-oeste da Bahia e extremo norte de Minas Gerais e ainda possui lacunas nas informações botânicas. O presente trabalho caracterizou anatomicamente o folíolo e peciólulo de *C. sabulicola*, com ênfase nas estruturas secretoras e histolocalizar as substâncias biologicamente ativas. Amostras de folhas foram fixadas em FNT, desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato. Os cortes histológicos foram corados com azul de toluidina e montados em lâmina permanente. Foram realizados testes histoquímicos e fitoquímicos, dissociação e diafanização da lâmina foliolar. Cavidades secretoras foram encontradas ao longo do mesofilo, nervura central e peciólulo. Foram observados feixes vasculares circundados por bainha fibrosa e cutícula ornamentada na nervura central e no bordo foliolar. Nos testes histoquímicos foram detectados compostos fenólicos, alcaloides, proteínas e lipídios estruturais, e na análise fitoquímica, taninos catéquicos, flavonas, flavonóis, xantonas, esteroides e terpenóis. Tais caracteres auxiliam na correta identificação da espécie.

**Palavras-chave:** Copaíba, estruturas secretoras, histoquímica, fitoquímica, Cerrado.

## Introdução

Leguminosae é reconhecida como a terceira maior família de angiospermas e a segunda mais importante em termos de diversidade e importância econômica, agrupando seis subfamílias, entre elas a subfamília Detarioideae (LPWG 2017). Nessa última se encontra

o gênero *Copaifera* L., que no Brasil compreende 22 espécies (Costa & Queiroz 2007), sendo a Bahia o Estado com maior diversidade, com 13 espécies (Costa 2007).

As copaiíferas, também conhecidas como copaibeiras ou pau d'óleo, tendem a apresentar hábito de vida arbóreo ou arbustivo, podendo atingir até

1. Universidade Federal do Oeste da Bahia, Centro das Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), CEP 47810-059, Barreiras, Bahia, Brasil
2. Autor para correspondência: [carolcarv.93@gmail.com](mailto:carolcarv.93@gmail.com)

40 m de altura, cuja madeira e óleo-resina, extraído do tronco, são explorados comercialmente (Veiga Junior 2002, Martins-da-Silva *et al.* 2008). Estudos realizados com espécies encontradas principalmente na região amazônica revelam que o óleo-resina retirado dessas espécies apresenta várias indicações etnofarmacológicas (Veiga-Júnior & Pinto 2002, Pieri *et al.* 2009), tais como atividade anti-inflamatória (Basile *et al.* 1988, Veiga-Júnior & Pinto 2002, Pieri *et al.* 2009, Gomes *et al.* 2010, Vargas *et al.* 2015) e cicatrizante (Paiva *et al.* 2002, Veiga-Júnior & Pinto 2002, Pieri *et al.* 2009, Martini *et al.* 2016, Gushiken 2017), podendo ainda ser utilizado pela indústria de perfumes, cosméticos e vernizes (Veiga Júnior, 2002).

Dentro desse grupo de espécies com potencial medicinal, *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz se destaca como planta endêmica da região centro-oeste da Bahia e extremo norte de Minas Gerais, em ambiente de Cerrado, bioma que se distingue por sua extensão territorial, alto endemismo e pelo histórico de intensa atividade antrópica, com impactos ambientais significativos (Strassburg *et al.* 2017).

Ademais, *C. sabulicola* se distingue das demais espécies do gênero por apresentar uma combinação de caracteres tais como: hábito arbustivo, raramente arbóreo, geralmente atingindo entre 1 e 4 metros de altura, com folhas geralmente sésseis e flores pediceladas, aparentando preferência por locais com solos arenosos (Costa 2007, Costa & Queiroz 2007). Contudo, poucos foram os estudos realizados com essa espécie, sendo possível citar Santos (2013), que detectou a presença de quinze tipos de sesquiterpenos ( $\beta$ -cariofileno, óxido de cariofileno, espatulenol e  $\gamma$ -muuroleno, entre outros) e quatro ácidos graxos (palmitico, linoleico, oleico, esteárico) na composição dos frutos, além da presença de diterpeno ácido caurenóico no caule, triterpeno lupeol na folha e acetato de lupeol no fruto, bem como a identificação de atividade antioxidante dos extratos etanólico e metanólico oriundos do caule e da folha. Além desse estudo, Linhares Neto *et al.* (2014) identificaram o potencial alelopático dos extratos etanólicos do caule e da folha de *C. sabulicola*, enquanto Santos *et al.* (2015) avaliou a predação de sementes dessa espécie.

Desse modo, é possível perceber que informações sobre composição anatômica, estruturas secretoras ou análises histoquímicas de *C. sabulicola* ainda não constam na literatura, o que justifica a necessidade de aprofundamento do conhecimento acerca dessa espécie típica do Cerrado, contribuindo para sua preservação

e para a identificação preliminar dos seus compostos. Ademais, tais informações são fundamentais para a correta identificação da espécie, contribuindo com dados relevantes tanto para a taxonomia do gênero (Metcalf & Chalk 1950), quanto para o controle de qualidade de matéria prima, no caso da espécie vegetal ser utilizada como planta medicinal, uma vez que revela subsídios para caracterização física e química da espécie (Souza-Moreira *et al.* 2010).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar anatomicamente o folíolo e peciólulo de *C. sabulicola*, com ênfase nas estruturas secretoras, bem como histolocalizar as substâncias biologicamente ativas.

## Material e métodos

Para os estudos anatômicos, foram coletadas folhas sadias e adultas de três espécimes de copaíba (*Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz - Deterioideae), localizados na área verde e antropizada da Serra da Bandeira, no município de Barreiras, BA (coordenadas geográficas: 45W02'50", 12S05'38"; 45W02'49", 12S05'38"; 45W02'52", 12S05'38"), durante o mês de agosto de 2015. A identificação taxonômica foi realizada pela primeira autora deste estudo. Também foram coletadas amostras contendo material vegetativo e reprodutivo para confecção de exsicatas e deposição no Herbário BRBA da Universidade Federal do Oeste da Bahia - UFOB, sob os números de registro 5998 e 6000.

As amostras coletadas foram fixadas em FNT (formalina neutra tamponada) (Lillie 1948) e conservadas em álcool 70%. Do material conservado foram retirados fragmentos da região da base e do meio do folíolo (peciólulo e lâmina foliar) que, em seguida, foram desidratados em uma série etílica crescente, infiltrados e incluídos em metacrilato (Historesin, Leica). Os blocos foram seccionados com auxílio do micrótomo rotativo (HM 325, Hyrax M15, Zeiss). Os cortes histológicos resultantes (6-8  $\mu$ m de espessura) foram corados com azul de toluidina pH 4,0 e as lâminas montadas em resina sintética (Erv Mount - EasyPath).

Para a descrição da venação foliar, foi realizada a diafanização da lâmina foliar utilizando-se uma solução contendo água sanitária comercial e etanol 92,8 % (v/v, 1:1), em estufa a 60 °C, no período de 30 dias. Posteriormente, o material foi lavado em ácido clorídrico (5%), hidróxido de amônio (5%) e água corrente. O material foi corado com safranina

aquosa (1%), desidratado em série etílica crescente e submetido ao xilol-etanol 100% (1:1) e xilol puro (Bersier & Bocquet 1950). A amostra foi montada entre lâmina e lamínula em resina sintética (Erv Mount - EasyPath).

A dissociação da lâmina foliar foi realizada para a caracterização das estruturas superficiais. Foram retirados fragmentos de 1 cm<sup>2</sup> da lâmina foliar e colocados em solução de Jeffrey (ácido crômico 10% e ácido nítrico 10%, v/v, 1:1) por um período 3 semanas, até o material tornar-se macio. Em seguida, os fragmentos foram lavados em água destilada, corados em safranina aquosa 1%, desidratados em série etílica crescente e submetido ao xilol-etanol 100% (1:1) e xilol P.A. O material dissociado foi montado entre lâmina e lamínula em resina sintética (Erv Mount - EasyPath) (Kraus & Arduin 1997).

Os testes histoquímicos foram realizados a partir de cortes histológicos (transversal e longitudinal) obtidos da lâmina foliar oriundo de amostras frescas. Alguns cortes frescos não foram submetidos aos reagentes, pois foram fotografados com a coloração original dos tecidos analisados (branco). Foram realizados os seguintes testes: para detecção de compostos fenólicos gerais foi utilizado dicromato de potássio (Gabe 1968) e cloreto de ferro III (Johansen 1940), para detecção de amido foi usado o lugol (Jensen 1962), para alcaloides foram utilizados os reagentes de Wagner (Furr & Mahlberg 1981) e Dittmar (Furr & Mahlberg 1981), para detecção de lipídios totais foi usado o Sudan III (Johansen 1940), para detecção de proteínas foi usado o Azul Mercúrio de Bromofenol (Mazia *et al.* 1953), para polissacarídeos foi utilizado Azul de Metileno (Biavaltti & Leite 2007) e para lignina foi utilizado fluoroglucionol (Foster 1949).

A prospecção fitoquímica dos extratos etanólicos das folhas foi realizada segundo a metodologia de Barbosa *et al.* (2001), onde o extrato foliar de *C. sabulicola* foi submetido à triagem fitoquímica preliminar através de reações químicas que resultaram no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substâncias. Para saponinas, o extrato etanólico foi dissolvido em água destilada. Para flavonoides, o extrato etanólico foi diluído em metanol, misturado com ácido clorídrico (HCl) concentrado e fitas de Magnésio. Para taninos e fenóis, o extrato etanólico foi diluída em água destilada e misturado com solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>) a 1%. Para determinação de alcaloides, o extrato foi avaliado com reagente de Drangendorff.

Para esteroides e triterpenoides, o extrato foi diluído em clorofórmio e foi adicionado anidrido acético. Em seguida, foi adicionado ácido sulfúrico concentrado. Já no teste para antocianinas, flavonas, flavonóis, xantonas e flavanonois, foi o extrato etanólico, acrescido de água destilada, foi avaliado a partir da alteração do pH para posterior avaliação.

As lâminas com material vegetal foram analisadas utilizando-se microscopia de luz, sendo que o registro das imagens oriundas das lâminas permanentes foi realizado com auxílio da câmera do microscópio fotônico (modelo TNB-41, Opticam), com sistema de U-PHOTO, acoplado a uma filmadora e um microcomputador com analisador de imagens (Programa TS View, Fuzhou TcsenImage Technology Co., Ltd, Version 7.1) do Laboratório de Botânica (Fisiologia e Anatomia vegetal) da UFOB. Já o registro das lâminas efêmeras oriundas dos testes histoquímicos foi realizado com auxílio da câmera do celular modelo iPhone 6, acoplado manualmente ao microscópio fotônico, visando melhor captação da coloração obtidas de cada teste.

## Resultados e Discussão

*C. sabulicola* apresenta folha composta paripinada, com dois a três pares de folíolos glabros e de consistência coriácea, opostos, com peciólulo diminuto (figura 1a). Geralmente essa família agrupa espécies com folhas pilosas (Metcalf & Chalk 1950), característica que pode ser observada em outras espécies do gênero, tais como *C. martii* Hayne e *C. reticulata* Duckei (Gurgel 2009), divergindo do caráter glabro apresentado por *C. sabulicola*. Contudo, apesar desse caráter também ser relevante na identificação da espécie em campo, Costa (2007) ressalta que *C. sabulicola* se distingue enquanto táxon principalmente por apresentar folhas sésseis, com 2-3 pares de folíolos, e flores geralmente pediceladas.

Os folíolos apresentam nervação secundária do tipo cladódroma, além de uma nervação primária pronunciada que se estende desde a base até o ápice (figura 1b). O padrão de ramificação das nervuras terciárias é do tipo reticulado ortogonal (figura 1c). Já as aréolas, que são as menores áreas da lâmina foliar circundadas por veias, são consideradas imperfeitas, por serem constituídas por vários formatos, sendo que as terminações das vênulas podem ocorrer de modo simples linear ou ramificada apenas uma vez (figura 1c). Tais dados divergem do que já foi encontrado para o gênero. Em *Copaifera langsdorffii* a nervação é do

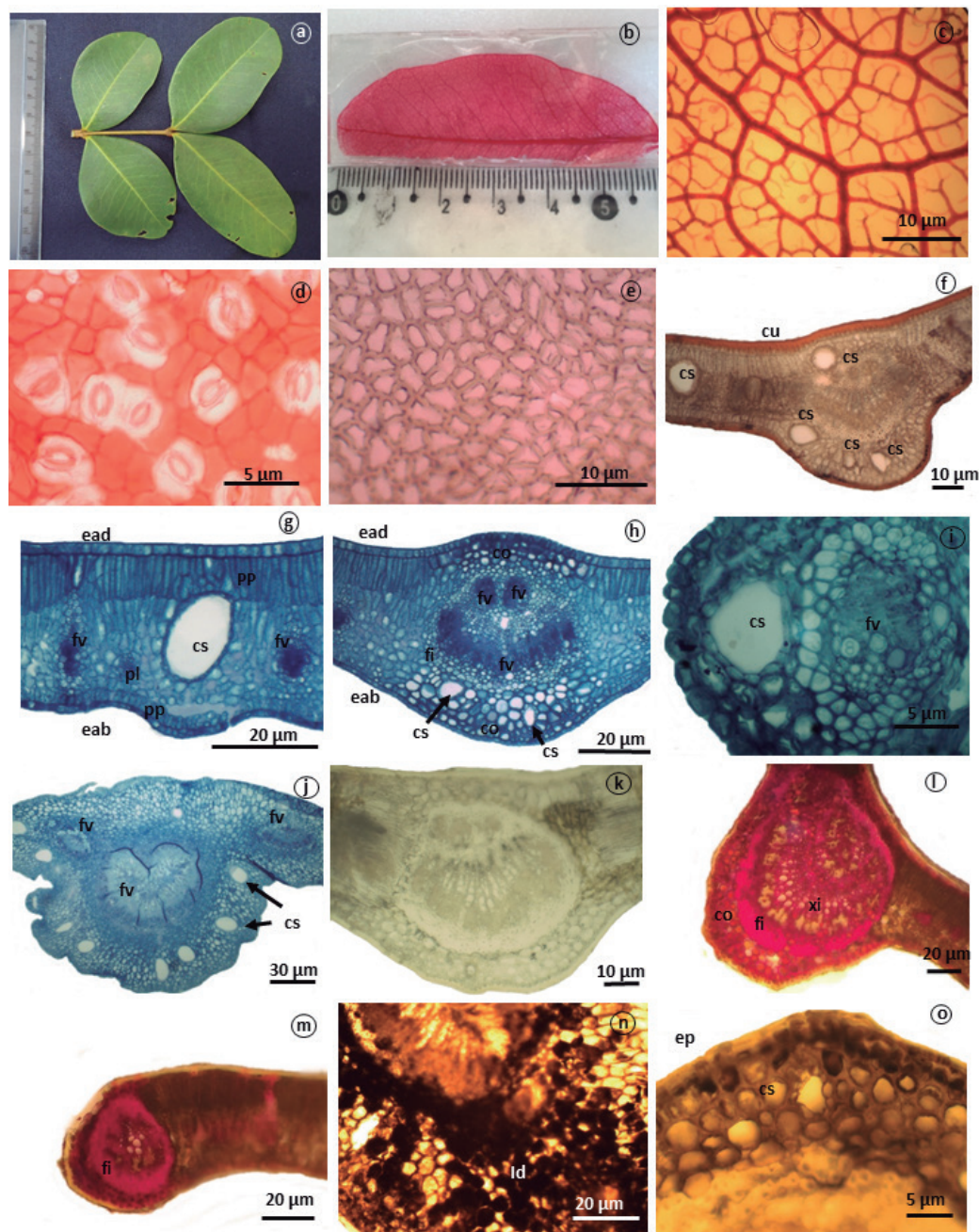


Figura 1. Estruturas da folha de *Copaifera sabulicola*. a. Folha. b. Parte da folha diafanizada evidenciando a nervação da estrutura foliolar. c. Detalhe da nervação foliolar. d-e. Secção paradermica. d. Face abaxial da lâmina foliolar. e. Face adaxial da lâmina foliolar. f-o. Secção transversal. f. Epiderme com cutícula lipídica. g. Mesofilo. h. Nervura central. i. Bordo foliolar. j. Pecíolo. k. Nervura central não submetido aos reagentes (branco). l. Elementos lignificados na nervura central. m. Fibras lignificadas no bordo foliar. n. Idioblastos com composto fenólico no córtex da nervura central. o. Alcaloide na cavidade secretora e idioblastos no mesofilo. Legenda: co: Colênquima, cs: Cavidade secretora, eab: Epiderme abaxial, ead: Epiderme adaxial, es: Estômato, fa: Feixe vascular acessório, fi: Fibras esclerenquimáticas, fl: Floema, fv: Feixe vascular, pl: Parênquima lacunoso, pp: Parênquima paliádico, xi: Xilema secundário.

Figure 1. Structures of the leaf of *Copaifera sabulicola*. a. Leaf. b. Part of the diaphanized leaf showing the nerve of the leaf structure. c. Detail of the foliolar nerve. d-e. Paradermic section. d. Abaxial face of the leaf blade. e. Adaxial face of the leaf blade. f-o. Cross section. f. Epidermis with lipid cuticle. g. Mesophyll. h. Central rib. i. Foliolar lip. j. Petiolol. k. Central rib don't subjected to reagents (white). l. Lignified elements in the central rib. m. Lignified fibers on the leaf edge. n. Idioblasts with phenolic compounds in central rib cortex. o. Alkaloid in secretory cavity and idioblasts in mesophyll. Caption: co: Collenchyma, cs: Secretory cavity, eab: Abaxial epidermis, ead: Adaxial epidermis, es: Stomata, fa: Accessory vascular bundle, fi: Sclerenchymatic fibers, fl: Phloem, fv: Vascular bundle, pl: lacunous parenchyma, pp: palisadic parenchyma, xi: secondary xylem.

tipo peninérvea (Buarque 2013), enquanto *Copaifera martii* apresenta nervação do tipo reticulada (Martins *et al.* 2002).

Quanto à forma, o folíolo é classificado como elíptico-oblongo com ápice retuso, base obtusa e margem lisa, tal como relata Costa e Queiroz (2007) (figura 1a). As folhas são hipostomáticas, com estômatos do tipo paracítico, localizados na mesma altura das demais células epidérmicas (figura 1h), e contando com duas células subsidiárias que se alinham em relação a abertura do ostíolo, sendo que essas células apresentam tamanhos diferentes das demais células epidérmicas (figura 1d).

Além dos estômatos, na face abaxial também ocorrem células epidérmicas com paredes anticlinais retas (figura 1d). Já na face adaxial, em vista frontal, de modo similar a face abaxial, é possível observar apenas células epidérmicas de contorno reto a levemente sinuosa, com paredes espessas (figura 1e). A presença de estômatos apenas na face abaxial confere proteção contra a incidência direta da luz solar, reduzindo a perda de água (Dickison 2000).

Dentre as regiões analisadas da lâmina foliolar, base e meio, não foram observadas diferenças quanto a composição estrutural. Todas são envoltas por epiderme unisseriada e cutícula espessa (figura 1f), caracteres que também foram detectados por Nascimento *et al.* (2014), em *C. langsdorffii* Desf. A presença de cutícula espessa permite que a luz do sol seja refletida de modo mais eficiente e, por isso, está relacionada a proteção contra perda de água, excesso de luminosidade e radiação solar (Alquini *et al.* 2006, Dickison 2000). Além disso, segundo Onoda *et al.* (2012), a cutícula espessa também está relacionada com o aumento da vida útil da folha, pois proporciona proteção contra tensões mecânicas externas. Ademais, Melo Júnior *et al.* (2012) verificaram que os valores (mm) da espessura da camada epidérmica, incluindo a cutícula, são maiores em *C. langsdorffii* quando cultivada solo de arenito e neossolo flúvico, o que demonstra que tal característica observada em *C. sabulicola* também pode estar relacionada no tipo de solo onde as espécimes observadas se desenvolvem, que é um solo arenoso.

O mesofilo é dorsiventral, apresentando tendência isobilateral, composto por cerca de duas a três camadas de parênquima paliádico, duas camadas de parênquima lacunoso e uma camada de tecido paliádico com tamanho reduzido (figura 1g-h). Ao longo do mesofilo também foram observados feixes colaterais de ordem secundária e terciária envoltos por

uma bainha fibrosa lignificada, que ligam a epiderme da face adaxial e abaxial (figura 1g).

Segundo Dickison (2000), a ocorrência de várias camadas de parênquima paliádico está associada a folhas constantemente expostas ao sol, o que pode ser uma estratégia para tornar mais eficiente o processo de fotossíntese, fato que também foi observado por Silva *et al.* (2012) em *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae) e Ramos *et al.* (2015) em *Caryocar brasiliense* Cambess (Caryocaraceae).

Para *C. sabulicola*, o desenvolvimento tanto de cutícula quanto de paredes celulares espessas provavelmente exerce um papel ainda mais importante para proteção em ambiente com abundância de luz solar, uma vez que a espécie não apresenta tricomas, apêndices epidérmicos que reduzem a transpiração foliar através do aumento do reflexo solar e redução de temperatura da folha (Evert 2006), diferindo da maioria das demais espécies da família Leguminosae, cuja presença de tricomas é frequente (Metcalf & Chalk 1950).

Na região da nervura central verifica-se uma cutícula ornamentada e duas camadas de colênquima subepidérmico do tipo lamelar adjacentes à epiderme em ambas as faces da lâmina (figura 1h). Essas células colenquimáticas são constituídas por polissacarídeos estruturais, presentes nas paredes celulares, identificados com auxílio do teste com azul de metileno (tabela 1). O tecido vascular é do tipo colateral, organizado em um arco principal e dois feixes acessórios (figura 1i), envolvidos por fibras de paredes espessadas e lignificadas (tabela 1, figura 1k-l). Nas células floemáticas foram encontrados compostos fenólicos e polissacarídeos, sendo que de acordo com Esau (1974), é comum a presença de um polissacarídeo chamado de calose nos elementos de tubo crivado que compõem o floema; enquanto nas fibras que envolvem o feixe vascular e nas células do protoxilema e metaxilema foram detectadas proteínas, demonstrando função estrutural uma vez que estão presentes nas paredes celulares.

No bordo foliolar a epiderme apresenta cutícula ornamentada (figura 1i), feixe vascular colateral envolvido por fibras lignificadas (figura 1m) e cavidades secretoras. Tal estrutura também foi observada de forma similar na região do bordo foliar de *C. langsdorffii*, que não conta com cutícula ornamentada (Morretes 1966). A deposição de lignina promove o espessamento das paredes celulares das fibras da nervura central e bordo foliolar, formando uma barreira que atua na proteção contra-ataques

Tabela 1. Testes histoquímicos aplicados na folha de *Copaifera sabulicola* J.A.S Costa & L.P. Queiroz (Leguminosae).  
 Table 1. Histochemical tests applied on the leaf of *Copaifera sabulicola* J.A.S Costa & L.P. Queiroz (Leguminosae).

| Composto          | Reagente                    | Cavidades e idioblasto | Células do Floema | Colênquima | Epiderme e Cutícula | Células parenquimáticas |
|-------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------|------------|---------------------|-------------------------|
| Amido             | Lugol                       | -                      | -                 | -          | -                   | -                       |
| Composto Fenólico | Dicromato de Potássio       | +                      | NC                | -          | -                   | NC                      |
|                   | Cloreto Férrico             | +++                    | +                 | -          | -                   | +                       |
| Lipídio           | Sudan III                   | -                      | -                 | -          | +                   | -                       |
| Alcaloides        | Reagente de Wagner          | NC                     | NC                | -          | NC                  | NC                      |
|                   | Reagente de Dittmar         | +++                    | -                 | -          | +++                 | +                       |
| Polissacarídeo    | Azul de Metileno            | -                      | +                 | +          | -                   | -                       |
| Proteínas         | Azul Mercúrio de Bromofenol | -                      | +                 | +          | -                   | +                       |
| Lignina           | Fluoroglucinol acidificado  | -                      | +                 | +          | -                   | -                       |

Legenda: +, positivo; -, negativo; NC, Não Conclusivo.  
 Caption: +, positive; -, negative; NC, Not Concluding.

bióticos e abióticos (Firmino *et al.* 2006, Scatena & Scremin-Dias 2006).

A presença de bainha fibrosa, encontrada em algumas regiões do peciólulo de *C. sabulicola*, é importante por auxiliar no fornecimento do suporte mecânico, assim como os feixes esclerenquimáticos (Dickison, 2000), encontrados principalmente ao redor do feixe vascular. Sendo assim, é possível que o desenvolvimento desses feixes, bem como o armazenamento de compostos fenólicos nas estruturas secretoras (tabela 1) e a presença de células epidérmicas com paredes espessas, sejam características relacionadas ao ambiente xerofítico, que é o caso da área de Cerrado (Costa 2007) na qual as amostras foram coletadas.

A ornamentação na superfície foliolar nas regiões de bordo e nervura central, como observado na espécie estudada, possui valor taxonômico (Alquini *et al.* 2006), característica que pode ser resultado do processo de deposição de cera na formação da cutícula (Evert 2006). Essa ornamentação influencia na organização geral das células, de modo a definir características expressas nas suas paredes anticlinais e periclinais, tais como sinuosidade e rugosidade (Cutler *et al.* 2011).

O peciólulo, em corte transversal, apresenta formato reto e convexo, com duas extremidades

proeminentes (figura 1k). A epiderme é unisseriada, sendo que na epiderme da face adaxial as células são retangulares e na abaxial são retangulares a papilosas, com cutícula ornamentada. As células do parênquima cortical apresentam pouco espaço intercelular, sendo que nessa região estão inseridas cavidades secretoras (figura 1k). O tecido vascular é composto por três feixes vasculares colaterais, sendo um principal, em forma arco fechado e envolvido por fibras; e dois acessórios (figura 1k-l).

Cavidades secretoras foram encontradas ao longo do mesofilo (figura 1g), nervura (figura 1i) e peciólulo (figura 1k) de *C. sabulicola*. Tais estruturas são formadas pela presença de um epitélio secretor que libera o material secretado num espaço interno (Fahn 1979). É possível que essas cavidades secretoras sejam resultado de divisões anticlinais e periclinais sucessivas de células do meristema fundamental ou de células parenquimáticas, uma vez que a ontogenia dessas estruturas em *C. langsdorffii* demonstrou esse resultado (Rodrigues *et al.* 2011). Ademais, de acordo com Metcalfe & Chalk (1979), a formação do lume da cavidade pode ocorrer de forma esquizógena, a partir da separação de paredes de células vizinhas; lisígena, a partir da desintegração de certas células; ou ainda esquisolisígena, que é a junção dos processos

anteriores. Porém, Milani *et al.* (2012) observaram a formação do lume de forma esquizógena em *Copaifera trapezifolia* Hayne.

Buarque (2013) ainda salienta que a luz e a temperatura influenciam significativamente o desenvolvimento dos espaços secretores em plântulas de *C. langsdorffii*, de modo que condições de estresse causadas pela exposição extrema a esses fatores estimularia a existência de um sistema secretor mais denso, o que também pode ter ocorrido com *C. sabulicola*, uma vez que esta também é encontrada em área de grande exposição luminosa.

A presença de cavidades secretoras em abundância é comum na família Leguminosae (Metcalf & Chalk 1950), como pode ser constatado nos estudos anatômicos de *H. martiana* (Silva *et al.* 2012), *Erythrina velutina* Willd. (Silva *et al.* 2013), *C. brasiliense* (Ramos *et al.* 2015), *C. langsdorffii* (Rodrigues *et al.* 2011, Nascimento *et al.* 2014) e *C. trapezifolia* (Milani *et al.* 2012). Essas estruturas estão relacionadas a adaptação da planta a condições edáficas e climáticas, além de fornecer proteção contra a herbivoria (Fahn 1979) devido a produção e armazenamento de compostos diversos (Dickison 2000).

Em *C. sabulicola* os compostos biologicamente ativos foram detectados nos idioblastos e cavidades secretoras. Os idioblastos secretores são células especializadas que podem armazenar substâncias diversas em seu interior (Dickison 2000). Em *C. sabulicola* essas estruturas destacam-se pelo armazenamento de compostos fenólicos nos vacúolos das células idioblásticas localizadas no mesofilo e na região do colênquima da nervura central foliolar (figura 2d). De acordo com Santos (2013), um alto teor de composto fenólico foi identificado no ensaio de determinação de fenóis em *C. sabulicola*. Estudos realizados com plantas contendo alto teor de compostos fenólicos tem revelado a importante atuação desse grupo de compostos como antioxidantes naturais (Souza *et al.* 2007, Farhadi *et al.* 2015, Moudache *et al.* 2016, Gontijo *et al.* 2017), que são agentes que reduzem os danos celulares causados pelos radicais livres (Gengaihi *et al.* 2014), uma vez que os radicais livres causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas (Souza *et al.* 2007).

Os testes histoquímicos também apontaram para a presença de alcaloides tanto nos idioblastos quanto nas cavidades secretoras (tabela 1, figura 1n-o). Tais compostos também foram encontrados nos canais e cavidades secretoras nas folhas de *C. langsdorffii*

(Rodrigues *et al.* 2011) e podem estar relacionados a defesa biótica da planta (Dewick 2002). Vale ressaltar que alcaloides não foram identificados em *Copaifera duckei* Dwyer, *Copaifera martii* Hayne e *Copaifera reticulata* Ducke (Gurgel 2009), o que pode indicar que a presença desse metabólito não é diagnóstica para o gênero.

Ainda, a produção de um óleo-resina, especialmente na região caulinar, é comum às espécies do gênero *Copaifera* L. (Veiga-Júnior & Pinto, 2002). Porém, não foi identificado conteúdo resinífero ou lipídico nas cavidades dos folíolos de *C. sabulicola*, divergindo de outras espécies do gênero, como *C. trapezifolia*, que apresenta resina no lúmen de cavidades do mesofilo, córtex peciolar e nervura central, e conteúdo lipídico nas cavidades no mesofilo e na nervura foliar do mesmo órgão vegetativo (Milani *et al.* 2011).

Ademais, como existem poucos estudos que descrevem a anatomia e histoquímica foliar para o gênero (Gurgel 2009, Rodrigues *et al.* 2011, Nascimento *et al.* 2014, Milani *et al.* 2012), vale citar o estudo de Palermo *et al.* (2017), que também encontraram polissacarídeos, compostos fenólicos e alcaloides nas células epiteliais e/ou no lúmen nas folhas de *Pterodon pubescens* Benth., *Dipteryx alata* Vogel e *Taralea oppositifolia* Aubl., todas da família Leguminosae. De modo similar, em *Erythrina velutina* (Leguminosae) também foram identificados compostos fenólicos nas cavidades e nos tricomas, e alcaloides nas células parenquimáticas e cavidades secretoras (Silva *et al.* 2013).

Ademais, os demais estudos fitoquímicos indicaram a presença de fenóis, taninos catéquicos, flavonas, flavonois, xantonas, que fazem parte do grupo de compostos fenólicos, além de esteroides e terpenois (tabela 2). Assim como os compostos fenólicos, os terpenos estão relacionados a resistência das plantas contra patógenos, além de atuarem na atração de polinizadores (Langenheim 1994). O tipo de terpeno ainda está associado a viscosidade da resina presente nas cavidades secretoras, sendo os terpenos voláteis associados a uma resina mais fluida (Buarque 2013).

Os terpenos também já foram identificados no fruto e no caule de *C. sabulicola* (Santos 2013). Essa família de constituintes químicos, especialmente os diterpenos e os sesquiterpenos, é frequentemente descrita nos óleos retirados de várias espécies de copaíba, tais como, *Copaifera officinalis* L., *C. langsdorffii* e *C. multijuga* (Veiga-Júnior & Pinto 2002,

Tabela 2. Prospecção fitoquímica dos ensaios hidroalcoólicos dos folíolos de *Copaifera sabulicola*.Table 2. Phytochemical prospecting of hydroalcoholic trials of *Copaifera sabulicola* leaflets.

| Ensaio Fitoquímico | Detecção no Folíolo |
|--------------------|---------------------|
| Saponinas          | -                   |
| Fenóis             | +                   |
| Taninos catéquicos | +                   |
| Flavonoides gerais | -                   |
| Flavonas           | +                   |
| Flavonóis          | +                   |
| Xantonas           | +                   |
| Alcaloides         | NC                  |
| Esteroides         | +                   |
| Terpenóis          | +                   |

Legenda: +, positivo; -, negativo; NC, Não Conclusivo.

Caption: +, positive; -, negative; NC, Not Concluding.

Leandro *et al.* 2012, Veiga-Júnior & Pinto 2014). De acordo com Leandro *et al.* (2012), aos sesquiterpenos, que podem chegar a participar de 90% de alguns óleos-resina, são atribuídas muitas das propriedades farmacológicas relacionadas às copaíferas, tais como atividade analgésica (Ghelardini *et al.* 2001), anti-inflamatória (Basile *et al.* 1988, Gomes *et al.* 2010, Vargas *et al.* 2015) e antimicrobiana (Goren *et al.* 2011).

Rodrigues *et al.* (2011) também detectaram compostos fenólicos e terpenos nas cavidades e canais de *C. langsdorffii*, espécie que também ocorre em ambiente de Cerrado. Além disso, Silva *et al.* (2012) salienta que a pouca quantidade de lipídeos nas cavidades secretoras de *H. martiana* é contrabalanceada pela presença de uma maior quantidade de terpenos e flavonoides, associando, ainda, essa composição ao uso medicinal da espécie supracitada como cicatrizante. Tais dados sugerem que os órgãos vegetativos de *C. sabulicola* também podem apresentar aplicação etnofarmacológica.

### Conclusão

As características anatômicas apresentadas por *C. sabulicola*, tais como ausência de tricomas, a presença de um feixe vascular circundado por bainha fibrosa e cutícula ornamentada no bordo foliolar e na nervura central, além da presença de estruturas secretoras, principalmente cavidades, contribuem para a correta identificação da espécie. Além disso, os compostos bioativos encontrados sinalizam a necessidade de aprofundamento da investigação sobre os mesmos,

uma vez que as folhas de *C. sabulicola* podem apresentar aplicação etnofarmacológica.

### Agradecimentos

À Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB) pelo apoio estrutural e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa concedida para a realização do presente estudo.

### Literatura citada

- Alquini, Y., Bona, C., Boeger, M.R.T., Costa, C.G. & Barra, C.F. 2006. Epiderme. In: B. Apezato-da-Glória, S.M. Carmello-Guerreiro (eds.). Anatomia Vegetal. 2.ed. Ed. UFV, Viçosa, pp. 87-108.
- Barbosa, W.L.R., Quignard, E., Tavares, I. C.C., Pinto, L.N., Oliveira, F.Q. & Oliveira, R.M. 2001. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. Universidade Federal do Pará, Belém.
- Basile, A.C., Sertié, J.A.A., Freitas, P.C.D. & Zanini, A.C. 1988. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. Journal of Ethnopharmacology 22: 101-109.
- Bersier, J.D. & Bocquet, G. 1950. Les méthodes d'éclaircissement en vascularisation et en morphogénie végétales comparées. Archives des Sciences 13: 555-566.
- Biavaltti, M.W. & Leite, S.N. 2007. Práticas de Farmacognosia. Univale, Itajaí.
- Buarque, P.F.S.M. 2013. Influência da luz e temperatura em cavidades e canais secretoras em plântulas de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinioideae): estudo anatômico e ultraestrutural. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.



- Costa, J.A.S.** 2007. Estudos taxonômicos, biosistemáticos e filogenéticos em *Copaifera* L. (Leguminosae-Detarieae) com ênfase nas espécies do Brasil Extra-Amazonico. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- Costa, J.A.S. & Queiroz, L.P.** 2007. *Copaifera sabulicola* (Leguminosae), uma nova espécie do Cerrado brasileiro. *Rodriguésia* 58: 393-396.
- Cutler, D.F., Botha, T. & Stevenson, D.W.** 2011. Anatomia vegetal: uma abordagem aplicada. Artmed, Porto Alegre.
- Dewick, P.M.** 2002. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 2.ed. John Wiley & Sons, Chichester.
- Dickson, W.C.** 2000. Integrative plant anatomy. Academic Press, Harcourt.
- Evert, R.F.** 2006. Esau's plant anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development. 3 ed. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Esau, K.** 1974. Anatomia das plantas com sementes. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Fahn, A.** 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- Farhadi, K., Esmailzaeh, F., Hatami, M., Forough, M. & Molaie, R.** 2015. Determination of phenolic compounds content antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native grape cultivars in West Azarbaijan province, Iran. *Food Chemistry* 199: 847-855.
- Firmino, A., Abreu, H.S., Portugal, A.C.P., Nascimento, A.M., Souza, E.L., Pereira, R.P.W., Monteiro, M.B.O. & Maêda, J.M.** 2006. Alterações ligno-anatômicas em *Solanum gilo* Raddi por aplicação de cálcio e boro como estratégia de defesa. *Ciência e Agrotécnologia* 30: 394-401.
- Foster, A.S.** 1949. Practical plant anatomy. D. van Nostrand Company Inc., Princeton.
- Furr, M. & Mahlberg, P.G.** 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* 44: 153-159.
- Gabe, M.** 1968. Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.
- Gengaihi, S.E.I., Ella, F.M.A., Emad, M.H., Shlaby, E. & Doha, H.** 2014. Antioxidant activity of phenolic compounds from different grape wastes. *Journal of Food Processing and Technology* 5: 1-5.
- Ghelardini, C., Galeotti, N., Mannelli, L.D.C., Mazzanti, G. & Bartolini, A.** 2001. Local anaesthetic activity of  $\beta$ -caryophyllene. *Il Farmaco*, 56: 387-389.
- Gontijo, D.C., Brandão, G.C., Gontijo, P.C., Oliveira, A.B., Diaz, M.A.N., Fietto, L.G. & Leite, J.P.V.** 2017. Identification of phenolic compounds and biologically related activities from *Ocotea odorifera* aqueous extract leaves. *Food Chemistry* 230: 618-626.
- Gomes, N.M., Rezende, C.M., Fontes, S.P., Matheus, M.E., Pinto, A.C. & Fernandes, P.D.** 2010. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of fractions obtained from *Copaifera multijuga* Hayne. *Journal of Ethnopharmacology* 128: 177-183.
- Goren, A.C., Piozzi, F., Akcecek, E., Kılıç, T., Çarıkçı, S., Mozioglu, E. & Setzer, W.N.** 2011. Essential oil composition of twenty-two *Stachys* species (mountain tea) and their biological activities. *Phytochemistry Letter* 4: 448-453.
- Gurgel, E.S.C.** 2009. Morfoanatomia, perfil químico e atividade alelopática de três espécies de *Copaifera* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae) nativas da Amazônia. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Gushiken, L.F.S.** 2017. Avaliação dos mecanismos bioquímicos, celulares e moleculares na cicatrização de lesões cutâneas em ratos utilizando cremes à base de extrato hidroalcoólico e óleo-resina de *Copaifera langsdorffii*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.
- Jensen, W.A.** 1962. Botanical histochemistry, principles and practice. W.H. Freeman, San Francisco.
- Johansen, D.A.** 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book, New York.
- Kraus, J.E. & Arduin, M.** 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. EDUR, Seropédica.
- Kraus, J.E., Louro, R.P., Estelita, M.E.M. & Arduin, M.** 2006. A Célula Vegetal. In: B. Appezato-da-Glória, S.M. Carmello-Guerreiro (eds.). Anatomia Vegetal. 2 ed. Ed. UFV, Viçosa, pp. 31-86.
- Langenheim, J.H.** 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* 20: 1223-1280.
- Leandro, L.M., Vargas, F.S., Barbosa, P.C.S., Neves, J.K.O., Silva, J.A. & Veiga-Júnior, V.F.** 2012. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules* 17: 3866-3889.
- Lillie, R.D.** 1948. Histopathologic Technic. The Blakiston Co., Philadelphia.
- Linhaires Neto, M. V., Santana, F.S., Malheiros, R.S.P., Machado, L.L. & Mapeli, A.M.** 2014. Avaliação alelopática de extratos etanólicos de *Copaifera sabulicola* sobre o desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum* e *Zea mays*. *Biotemas* 27: 23-32.
- LPWG (The Legume Phylogeny Working Group).** 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44-77.
- Martini, C.A.N., Scapini, J.G.S., Collaço, L.M., Matsubara, A. & Veiga Júnior, V.F.** 2016. Comparative analysis of the effects of *Copaifera multijuga* oil-resin and nitrofurazone in the cutaneous wound healing process. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 43: 445-451.

- Martins-da-Silva, R.C.V., Pereira, J.F. & Lima, H.C.** 2008. O gênero *Copaifera* (Leguminosae-Caesalpinoideae) na Amazônia Brasileira. *Rodriguésia* 59: 455-476.
- Martins, D.P., Martins-da-Silva, R.C.V. & Nascimento, M.E.** 2002. Estudo morfo-anatômico de *Copaifera martii* Hayne ocorrente no município de Moju Estado do Pará. *In: Seminário de Iniciação Científica da FCAP*, 11; *Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental (Avaliação-2001)*, 5., 2001, Belém, PA. Resumos. Belém, PA: FCAP: Embrapa Amazônia Oriental, pp. 111-113.
- Mazia, D., Brewer, P.A. & Alfert, M.** 1953. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biological Bulletin* 104: 57-67.
- Melo Júnior, J.C.F., Bona, C. & Ceccantini, G.** 2012. Anatomia foliar de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae): interpretações ecológicas em diferentes condições edáficas de Cerrado. *Biotemas* 22: 29-36.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L.** 1950. *Anatomy of dicotyledons: Leaves, stem, and wood in relation to taxonomy*. Clarendon Press, Oxford, v. 1.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L.** 1979. *Anatomy of the dicotyledons*. 2 ed. Clarendon Press, Oxford, v. 2.
- Milani, J.F., Rocha, J.F. & Teixeira, S.P.** 2012. Oleoresin glands in copaiba (*Copaifera trapezifolia* Hayne: Leguminosae), a Brazilian rainforest tree. *Trees* 26: 769-775.
- Morretes, B.L.** 1966. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado II. *Boletim: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 305: 209-244.
- Moudache, M., Colon, M., Nerín, C. & Zaidi, F.** 2016. Phenolic content and antioxidant activity of olive by products and antioxidant film containing olive leaf extract. *Food Chemistry* 212: 521-527.
- Nascimento, M.E., Bertolucci, S.K.V., Santos, F.M., Santos Jr., J.M., Castro, E.M. & Pinto, J.E.B.P.** 2014. Avaliação morfológica de plantas jovens de *Copaifera langsdorffii* Desf. desenvolvidas em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 6: 931-937.
- Onoda, Y., Richards, L. & Westoby, M.** 2012. The importance of leaf cuticle for carbon economy and mechanical strength. *New phytologist* 196: 441-447.
- Paiva, L.A., Cunha, K.M.A., Santos, F.A., Gramosa, N.V., Silveira, E.R. & Rao, V.S.N.** 2002. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Phytotherapy Research* 16: 737-739.
- Palermo, F.H., Teixeira, S.P., Mansano, V.F., Leite, V.G. & Rodrigues, T.M.** 2017. Secretory spaces in species of the clade Dipterygeae (Leguminosae, Papilionoideae). *Acta Botanica Brasilica* 31: 374- 381.
- Pieri, F.A., Mucci, M.C. & Moreira, M.A.S.** 2009. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 11: 465-472.
- Santos, D.S.** 2013. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do cerrado do Brasil: Metabólitos e atividades biológicas da espécie *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz. *Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Oeste da Bahia, Barreiras*.
- Santos, I.M.D., Costa, J.A.S, Costa, C.B.N. & Calado, D.** 2015. Predação de sementes por insetos em três espécies simpátricas de *Copaifera* L. (Fabaceae). *Biotemas* 28: 87-95.
- Scatena, V.L. & Scremin-Dias, E.** 2006. Parênquima, Colênquima e Esclerênquima. *In: B. Appezzato-da-Glória, S.M. Carmello-Guerreiro (eds.). Anatomia Vegetal*. 2.ed. Ed. UFV, Viçosa, pp. 109-128.
- Silva, M.M.B., Santana, A.S.C.O., Pimentel, R.M.M., Silva, F.C.L., Randau, K.P. & Soares, L.A.L.** 2013. Anatomy of leaf and stem of *Erythrina velutina*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23: 200-206.
- Silva, M.S., Leite, K.R.B. & Saba, M.D.** 2012. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Hymenaea martiana* Hayne (Caesalpinoideae- Fabaceae): espécie de uso medicinal em Caetité-BA. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 14: 673-679.
- Souza, C.M.M., Silva, H.R., Vieira-JR, G.M., Ayres, M.C., Costa, C.L.S., Araújo, D.S., Cavalcante, L.C., Barros, E.D., Araújo, P.B.M., Brandão, M.S. & Chaves, M.H.** 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova* 30: 351-355.
- Souza-Moreira, T.M., Salgado, H.R.N. & Pietro, R.C.L.R.** 2010. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20: 435-440.
- Strassburg, B.B.N., Brooks, T., Feltran-Barbieri, R., Iribarrem, A., Crouzeilles, R., Loyola, R., Latawiec, A.E., Oliveira Filho, F.J.B., Scaramuzza, C.A.M., Scarano, F.R., Soares-Filho, B. & Balmford, A.** 2017. Moment of truth for the Cerrado hotspot. *Nature* 1: 1-3.
- Ramos, B.H., Silva, K.L.F., Coimbra, R.R., Chagas, D.B. & Ferreira, W.M.** 2015. Anatomy and micromorphometry of *Caryocar brasiliense* leaves. *Rodriguésia* 66: 87-94.
- Rodrigues, T.M., Teixeira, S.P. & Machado, S.R.** 2011. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae - Caesalpinoideae). *Flora* 206: 585-594.
- Vargas, F.S., Almeida, P.D.O., Aranha, E.S.P., Boleti, A.P.A., Newton, P., Vasconcellos, M.C., Veiga Junior, V.F. & Lima, E.S.** 2015. Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. oleoresins. *Molecules* 20: 6194-6210.
- Veiga Junior, V.F. & Pinto, A.C.** 2002. O gênero *Copaifera* L. *Química Nova* 25: 273-286.