



Estudo morfo-anatômico de *Hortia oreadica* e análise da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos

Danillo Luiz dos Santos ¹
Heleno Dias Ferreira ²
José Realino de Paula ³
Stone de Sá ⁴
Pedro Henrique Ferri ⁵
Tatiana de Sousa Fiuza ⁶

RESUMO

Hortia oreadica (Rutaceae), conhecida como quina-do-campo e para-tudo, é utilizada popularmente como estimulante e estomáquica. Os objetivos deste trabalho foram realizar: a descrição morfológica e o estudo do comportamento dos indivíduos de *H. oreadica* em relação às variações sazonais; o estudo anatômico das folhas e caule jovem; a triagem fitoquímica do pó das folhas e identificar os componentes do óleo essencial das inflorescências, folhas e frutos. Os estudos morfológicos da planta e anatômicos das folhas e caule jovem foram realizados de acordo com as técnicas convencionais de anatomia vegetal. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em um aparelho de Clevenger e analisados por CG/EM. Observou-se que *H. oreadica* é um subarbusto, com folhas simples e alternas. Lâmina foliar glabra em ambas as faces com pontos translúcidos. Inflorescência corimbo de dicásio, com cerca de 580 flores; ramos espessos. Flor com coloração variando do rosa ao vináceo e com néctar copioso. Fruto verde, capsular e sementes pretas. Anatomicamente verificaram cavidades secretoras, cristais prismáticos, e estômatos predominantemente anomocíticos. Os componentes majoritários no óleo essencial das folhas, flores e frutos foram: o amorfa-4,7(11)-dieno e o biciclogermacreno. O estudo morfológico de *H. oreadica* contribuiu para a compreensão do comportamento dos indivíduos adultos, em relação às variações sazonais. A análise anatômica das folhas e caule jovem forneceu parâmetros para a correta identificação botânica desta espécie. Este trabalho apresentou a composição química do óleo essencial das folhas, flores e frutos de *H. oreadica*, coletados em Pirenópolis (Goiás).

Palavras-Chave: Morfoanatomia; Óleo essencial; Fitoquímica; Rutaceae.

¹Discente da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. danillo.farmacia.ufg@gmail.com

²Doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Goiás, Brasil. Docente da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. hdiasicb@gmail.com

³Doutor em Ciências (Química Orgânica) pela Universidade de São Carlos, Brasil. Docente Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. pjrpaula@gmail.com

⁴Doutorando em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. pedradesa@gmail.com

⁵Doutor em Química pela Universidade Estadual de Campina. Docente da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. pedro_ferri@ufg.br

⁶Doutor em Biologia, área de concentração em Biologia Celular e Molecular. Docente Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. tatianaanatomia@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-0135-177X>

A família Rutaceae Rutaceae é composta por 154 gêneros e cerca de 2100 espécies com distribuição subcosmopolita, mas principalmente tropical e subtropical (Kubitzki et al. 2011). Muitas dessas espécies são aromáticas devido à presença de óleos essenciais e possuem importância considerável como fonte de frutas cítricas, como ornamentais (Perveen & Qaiser 2005), relevantes em horticultura (*Citrus*), silvicultura (*Chloroxylon*, *Flindersia*, *Zanthoxylum*) e para fins terapêuticos (*Pilocarpus*, *Agathosma*). Espécies dessa família são formadas por arbustos ou árvores, raramente ervas ou lianas. Possuem folhas alternas ou menos frequentemente opostas, compostas ou raramente simples, sem estípulas, margem inteira ou serrada, com pontuações translúcidas. A inflorescência é cimosa, raramente racemosa, às vezes reduzida a uma única flor. Os frutos são drupa, baga, folículo, sâmara ou cápsula (Souza et al. 2018).

As espécies de Rutaceae são ricas em alcalóides, cumarinas, flavonóides e limonóides (Nebo et al. 2014). Entre os vários gêneros dessa família, destacam-se as espécies de *Hortia* devido à sua importância na obtenção de moléculas ativas. *Hortia* Vand. é um gênero neotropical, incluído em *Toddalioidae* e *Toddaliinae* (Engler 1931). Segundo Groppo and Pirani (2012) esse gênero pode ser encontrado do Panamá a São Paulo, com ampla distribuição na região amazônica. É caracterizado por flores com corola rósea e frutos indeiscentes (Souza et al. 2018). Groppo (2004) descreveu 10 espécies para esse gênero: *Hortia brasiliana* Vand. ex DC., *Hortia coccínea* Spruce ex Engl., *Hortia excelsa* Ducke, *Hortia longifolia* Spruce ex Engl., *Hortia neblinensis* Maguire & Boom, *Hortia nudipetala* Groppo, *Hortia oreadica* Groppo, Kallunki & Pirani, *Hortia regia* Sandwith, *Hortia superba* Ducke e *Hortia vandelliana* Groppo. Segundo Groppo (2004) *H. brasiliana* é sinônimo de *Hortia arborea*.

Candolle (1824) descreveu formalmente a primeira espécie do gênero, *Hortia brasiliana* Vand. ex DC., com aspecto arbóreo, baseado em uma amostra de Vandelli depositada no Jussieu herbário (P-JU). Este nome foi erroneamente aplicado a uma espécie arbustiva da região central do Brasil, por Saint-Hilaire (1824), hoje reconhecida como *Hortia oreadica* Groppo, Kallunki & Pirani (Groppo et al. 2005).

H. oreadica, conhecida popularmente como quina, quina-do-campo, para-tudo, (Saint-Hilaire 1824, Engler 1874, Albuquerque 1968, Pio-Correa 1984) é um arbusto entouceirado com aproximadamente 01 m de altura, sistema subterrâneo bem desenvolvido, formando indivíduos clonados. As folhas são subsésseis, coriáceas e lustrosas; as flores apresentam pétalas rosa-claro. A falta de um tubo de corola sugere que as flores de *Hortia* são entomófilas (Groppo et al. 2010). É encontrada em cerrados e campos sujos (savanas) na região Centro Oeste, em Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rondônia e oeste de Minas Gerais, a 700-1300 m de altitude (Groppo et al. 2005).

H. oreadica é utilizada na medicina popular como antipirética (Saint-Hilaire 1824), como estimulante, no tratamento da dor de estômago e febres e como um substituto para o verdadeiro quinino de *Cinchona* (Rubiaceae) (casca do caule) (Pio-Correa 1984).

Severino et al. (2009b) verificaram atividade antimicrobiana do extrato hexânico das raízes de *H. oreadica* e do alcalóide dictamina isolado desse extrato contra os patógenos orais *Enterococcus faecalis* (ATCC 4082), *Streptococcus salivarius* (ATCC 25975), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456), *Streptococcus mutans* (ATCC 25275), *Streptococcus sobrinus* (ATCC 33478), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) e *Lactobacillus casei* (ATCC 11578). Fiuza et al. (2015) verificaram atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das folhas de *H. oreadica* contra *Staphylococcus epidermidis*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*, e da fração hexano contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* e *Salmonella* sp. Severino et al. (2015) descreveram a atividade antimicrobiana de frações de diclorometano e hexano de folhas de *H. oreadica* e caule subterrâneo, fração de metanol das folhas, caule e caule subterrâneo contra *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium tuberculosis*.

Foram identificadas 36 substâncias nos extratos brutos de caules subterrâneos, caules e folhas de *H. oreadica*. Os alcalóides foram encontrados em todas as partes estudadas da planta, limonóides e cumarinas em caule e caule subterrâneo, derivados do ácido di-hidrocinâmico nos caules subterrâneos e folhas (Severino et al. 2009a, Severino et al. 2009b, Severino et al. 2012, Braga et al. 2012, Severino et al. 2014)

Devido à necessidade de fornecer parâmetros de qualidade da matéria prima vegetal e para a identificação correta da *H. oreadica* (tendo em vista que esta é erroneamente classificada como *H. brasiliana*), à escassez de estudos morfoanatômicos e ao seu potencial farmacológico, este trabalho teve com objetivos: realizar a descrição morfoanatômica, o estudo do comportamento dos indivíduos de *H. oreadica*, em relação às variações sazonais durante 12 meses, a triagem fitoquímica do pó das folhas e identificar os componentes do óleo essencial das inflorescências, folhas e frutos.

MATERIAL E MÉTODOS

OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal foi coletado em Pirenópolis, Goiás, latitude 15° 48' 15" sul, longitude 48° 52' 48" oeste, altitude 1295m e identificado pelo Prof. Dr. Heleno Dias Ferreira. Uma exsiccata foi depositada no Herbário UFG, Unidade de Conservação PRPPG da UFG, sob registro 47798/UFG.

ANÁLISE MORFOLÓGICA

A caracterização macroscópica da *H. oreadica* foi realizada à vista desarmada e com auxílio de microscópio estereoscópico Olympus SZ-ST. O desenvolvimento dos indivíduos adultos no seu habitat natural foi acompanhado, mensalmente, durante 12 meses. As imagens foram registradas com máquina fotográfica digital (Canon EOS T4i).

ESTUDO ANATÔMICO

Para o estudo anatômico, utilizaram-se folhas entre o 2º e o 3º entre nós e caules jovens frescos. Os cortes transversais e paradérmicos foram realizados à mão livre. Em secção paradérmica, foram realizados cortes da epiderme das faces abaxial e adaxial. Em secção transversal, foram feitos cortes da lâmina foliar (bordos do ápice, do terço médio e da base; internervura e nervura principal do terço médio da folha), dos pecíolos e dos ramos caulinares jovens (segundo entrenó). Após o clareamento (solução de hipoclorito de sódio a 2%), os cortes foram submetidos a coloração com azul de Alcian/safranina 9:1 (Kraus & Arduin 1997) e as reações histoquímicas com os reagentes de Steinmetz (Costa 2001), Sudan III (Sass 1951), cloreto férrico e lugol (Johansen 1940). A análise microscópica do pó foi realizada empregando-se o reagente de Steinmetz (Costa 2001).

O registro fotográfico das estruturas anatômicas foi realizado em fotomicroscópio (Zeiss-Axiostar plus) com máquina fotográfica digital acoplada (Canon Power Shot G10) utilizando o programa Axion Vision 4.8.

ÓLEO ESSENCIAL

Para análise do óleo essencial foram coletadas folhas, flores e frutos de 10 espécimes de *H. oreadica*. O material vegetal fresco foi triturado separadamente e submetido à hidrodestilação em um aparelho de Clevenger modificado, por duas horas. No final da destilação, o óleo foi secado com Na₂SO₄ anidro, transferido para frasco de vidro âmbar, lacrado e colocado à temperatura de -18 °C para análises posteriores. O óleo essencial foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM), em aparelho Shimadzu modelo QP505A equipado com coluna capilar de sílica fundida com dimetilsiloxano 5% fenil (SBP-5, 30m x 0,25mm x 0,25µm), mantendo-se um fluxo de 1 mL/min de hélio, como gás de arraste, e aquecimento com temperatura programada (60°-240°C a 3°C/ min; 280°C a 10°C/ min e 10 min a 280°C), volume de injeção de 1 µL (amostras diluídas em hexano na proporção de 1:5) no modo Split com uma razão de 1:20 e temperatura do injetor de 225°C. O espectrômetro de massa operou com os seguintes parâmetros: temperatura da

interface de 250°C; energia de ionização de 70 eV, intervalo de massa entre 40-350 m/z , com velocidade de uma varredura por segundo.

A identificação dos componentes do óleo foi baseada no índice de retenção linear calculado em relação ao tempo de retenção de uma série homóloga de n-alcenos (C_8 – C_{32}) (Van Den Dool & Kratz 1963) e no padrão de fragmentação observados nos espectros de massa, por comparação com amostras autênticas, dados retirados da literatura (Adams 2007) ou por comparação com uma base de dados-EM computadorizada utilizando a biblioteca NIST.

TRIAGEM FITOQUÍMICA, DEFINIÇÃO DO TEOR DE VOLÁTEIS E CINZAS TOTAIS E INSOLÚVEIS EM ÁCIDO

As folhas foram secadas em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 30°C e pulverizadas em moinho de facas.

Para a triagem fitoquímica foram utilizadas metodologias adaptadas de Costa (2001), sendo pesquisados: heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntraeger), cumarinas (hidrólise alcalina e observação em luz ultra-violeta), esteroides e triterpenos (reações de Liebermann-Burchard e Salkowski); heterosídeos digitálicos (reações de Liebermann-Burchard, Kedde e Keller-Kiliani); amido (lugol); alcaloides (reativos de Mayer, Dragendorff, Bouchardat, Bertrand, Hager, ácido tânico a 1%); heterosídeos flavonoides (reação de Shinoda, oxalo-bórica, com H_2SO_4 conc., com hidróxidos alcalinos, cloreto de alumínio e cloreto férrico); heterosídeos saponínicos (índice de espuma); taninos (reações com gelatina, sulfato de quinina 1%, acetato de cobre 4%, cloreto férrico 2% e hidróxido de sódio a 20%) e metilxantinas (reação de murexida).

TESTES DE PUREZA

O teor de voláteis dos pós das folhas (amostras com 0,5 g) foi realizado utilizando um analisador de umidade que produz radiação na região do infravermelho por meio de uma lâmpada de halogênio (Ohaus modelo MB35) (Brasil 2010), sendo os ensaios realizados em triplicata.

Os teores de cinzas totais e insolúveis em ácidos foram realizados de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Brasil 2010).

RESULTADOS

ANÁLISE MORFOLÓGICA

Hortia oreadica é um sub-arbusto, de 0,5 m a 2,0 m de altura. Folhas simples, peciolada, pecíolo curto com base intumescida, alternas, 8 a 25 cm de comprimento, lâmina oblonga ou lanceolada, verde-

Estudo morfo-anatômico de *Hortia oreadica* e análise da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos

Danillo Luiz dos Santos, Heleno Dias Ferreira, José Realino de Paula, Stone de Sá, Pedro Henrique Ferri, Tatiana de Sousa Fiuza

clara brilhante, glabra em ambas as faces e rica em pontos translúcidos, ápice obtuso, base decorrente, margem inteira, penínervia, nervura principal verde-amarelada e proeminente na face inferior. Inflorescência corimbo de dicásio, 18 cm de altura e 23 cm de diâmetro, com cerca de 580 flores; ramos espessos e resistentes. Flores com cerca de 10 mm de diâmetro, cálice róseo-esverdeado, cotiliforme, dentes curtos, obtusos ou acuminados; corola com pétalas com coloração variando do rosa ao vináceo, oblongas, ápice agudo e tufo de pelos na base da superfície interna; 5 estames, dialistêmones, filetes róseos, alternos às pétalas, relativamente espessos, 10 mm de comprimento, anteras introrsas, creme amareladas, superior ao estigma, diteca e deiscência longitudinal. Ovário súpero, verde, 5 carpelar, gamocarpelar, 5 locular e vários óvulos, 1 estilete cônico, 1 estigma róseo; nectário floral disciforme na base do gineceu. As flores produzem néctar copioso, quando abertas. Fruto verde, capsular, 5 locular, aroma semelhante ao da goiaba e sabor adstringente. Semente preta com arilo esbranquiçado, uma por lóculo.

Na Serra dos Pireneus, *H. oreadica* cresce em solo pedregoso-arenoso e em altitudes elevadas, 1100-1295m. Em relação ao desenvolvimento da planta adulta (Quadro 01), inicialmente tem-se o estado vegetativo (Figura 01A), posteriormente formam-se botões florais verdes (Figura 01B) e quando mais desenvolvidos vão adquirindo coloração que varia do rosa claro ao róseo-escuro (Figuras 01C, 01E). As flores produzem grande quantidade de néctar/resina e são visitadas por vários insetos como formigas, abelhas (*Trigonas*, *Apis*), vespas, borboletas, gafanhotos e besouros (Figuras 01D e 01E). A produção de frutos, muito inferior ao de flores, variou de 3 a 37 por inflorescência, com sementes pretas com arilo esbranquiçado (Figuras 01F e 01G). Verificaram-se frutos comidos por coleópteros (Figura 01H). Após a frutificação as inflorescências desidratam, ressecam, murcham e caem (Figura 01I); concomitantemente aparecem brotos novos na mesma.

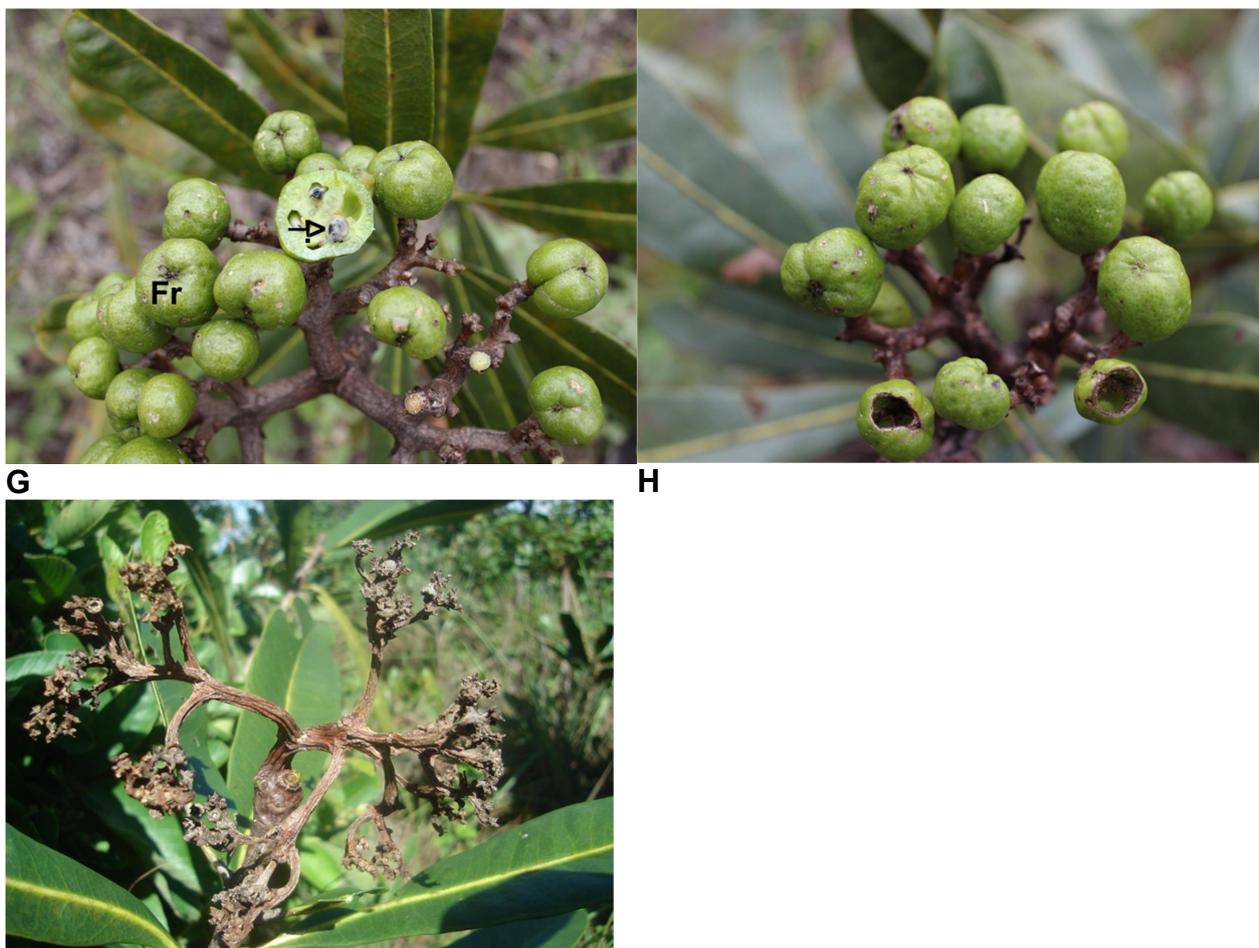
Quadro 01. Desenvolvimento de espécimes adultos de *Hortia oreadica* no período de doze meses na Serra dos Pireneus, Pirenópolis, Goiás.

Características das plantas	Período de acompanhamento de espécimes de <i>Hortia oreadica</i>											
	2012						2013					
	Jul	ago	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun
Estado vegetativo	+	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	++	+++
Início de floração	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	++	-
Botões florais fechados	-	+++	+++	+	+	++	+	+	-	+	++	+
Botões florais abertos	-	-	+	+++	++	++	+	-	-	+	+	-
insetos visitantes	-	-	+ formigas	++ formigas, abelhas, vespas	++ besouros, borboletas, vespas	++ Abelhas, vespas	+ formigas, abelhas, borboletas, vespas	-	-	-	+ abelhas, besouros	-
néctar/resina nas inflorescências	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
Frutos verdes tipo baga	-	-	-	+	+++	+++	+	+ comidos por coleópteros	+	+	+	-
Botões florais secos	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inflorescências desidratadas, ressecada, murchas	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-

Fonte: Autores

Figura Severino 01. *Hortia oreadica*. A- Estado vegetativo. B- Início da formação dos botões florais. C- Inflorescência com botões florais. D- Vespa visitando flor. E- Inflorescência com flores abertas. F- Início da formação dos frutos. G- Inflorescência com frutos, fruto cortado evidenciando as sementes (seta). H - Inflorescência com frutos comidos por coleópteros. I - Inflorescências desidratadas, ressecadas, murchas. Fr: fruto.





Fonte: Autores

Verificou-se a presença, no mesmo indivíduo, de frutos verdes, inflorescências em botões florais e com flores.

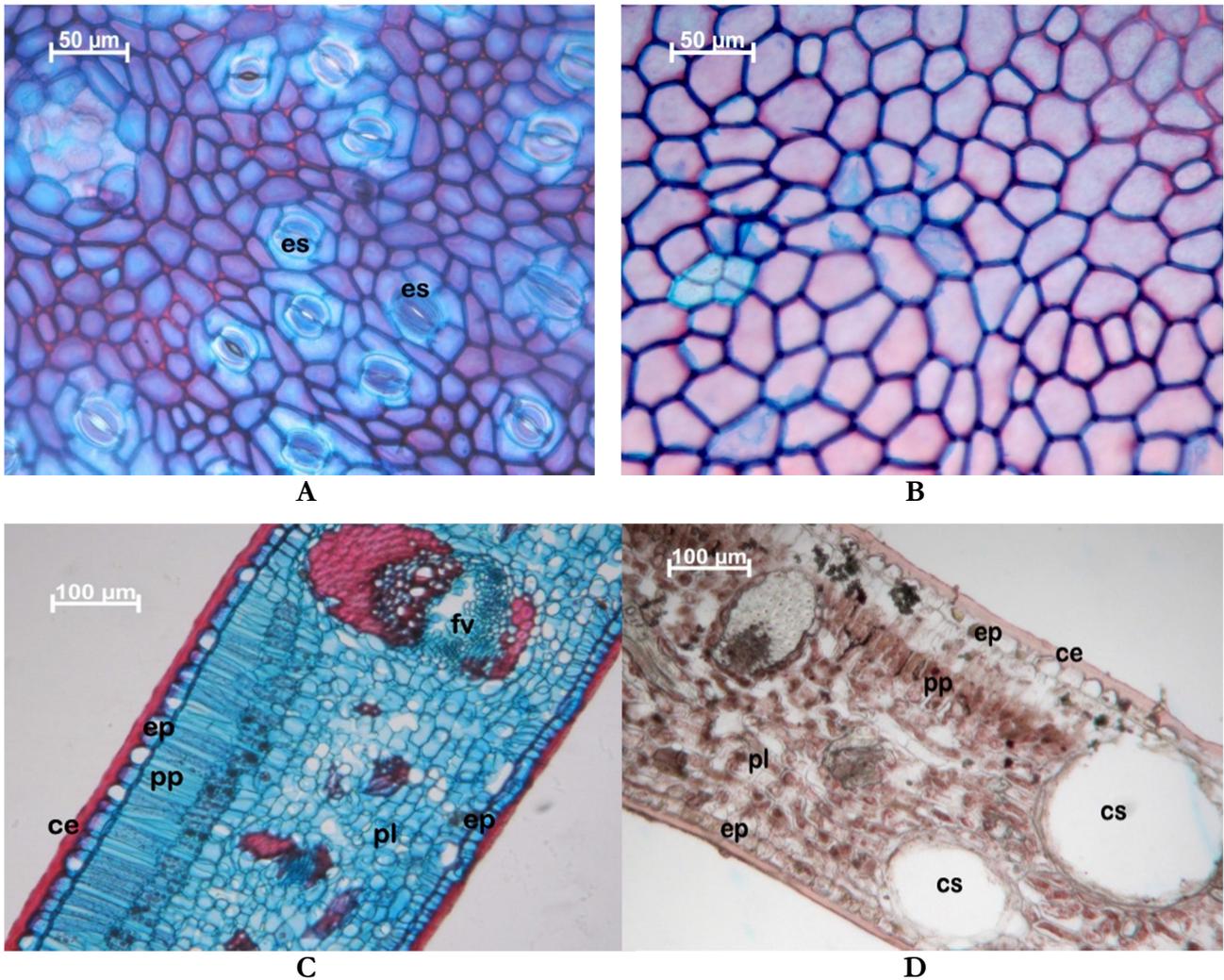
ESTUDO ANATÔMICO

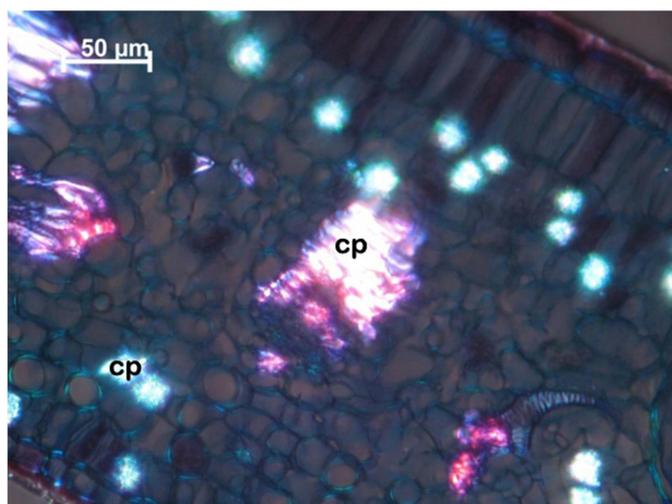
A folha é hipoestomática, com estômatos anomocíticos (Figura 02A). Em secção paradérmica as células da epiderme da face adaxial apresentam paredes anticlinais retas com formas e tamanhos irregulares (Figura 02B) e da face abaxial as células possuem paredes retas e levemente arredondadas (Figura 02A). A secção transversal da lâmina foliar mostrou que a epiderme é uniestratificada apresentando paredes (periclinal externa e periclinal interna) espessas, com células isodiamétricas. É revestida por uma cutícula espessa que invagina entre suas células formando flanges cuticulares (Figura 02C).

O mesofilo é dorsiventral com parênquima paliçádico com duas camadas de células e parênquima lacunoso com cerca de 12 a 13 camadas (Figuras 02C e 02D). Cavidades secretoras ocorrem tanto no parênquima paliçádico quanto no lacunoso (Figura 02D). Cristais prismáticos estão

presentes em todo o mesofilo (Figura 02E). Verificam-se no mesofilo feixes vasculares com calota esclerenquimática externa ao xilema e faixa esclerenquimática externa ao floema com até três camadas de células (Figura 02C).

Figura 02. A- Epiderme abaxial evidenciando estômatos anomocíticos (azul de Alcian/safranina). B- Epiderme adaxial (azul de Alcian/safranina). C - Internervura (azul de Alcian/Safranina). D - Internervura (Steinmetz). E- Internervura em luz polarizada evidenciando cristais prismáticos. Legenda – ce: cutícula espessa, cp: cristal prismático, cs: cavidade secretora, ep: epiderme, es: estômatos, fv: feixe vascular, pp: parênquima paliçádico, pl: parênquima lacunoso.





E

Fonte: Autores

O bordo do ápice apresenta forma arredondada levemente revoluta (Figura 03A). Entre o último feixe vascular e a epiderme encontra-se o parênquima clorofiliano apresentando cerca de oito camadas de células de tamanhos variados. O último feixe vascular é envolvido por calota esclerenquimática.

O bordo mediano (Figura 03B) apresenta-se arredondado, levemente revoluto. Possui cavidades secretoras com cristais prismáticos próximos a ela. Observam-se também cristais prismáticos em algumas células da epiderme. Verifica-se calota esclerenquimática no último feixe vascular. O parênquima clorofiliano apresenta várias camadas de células.

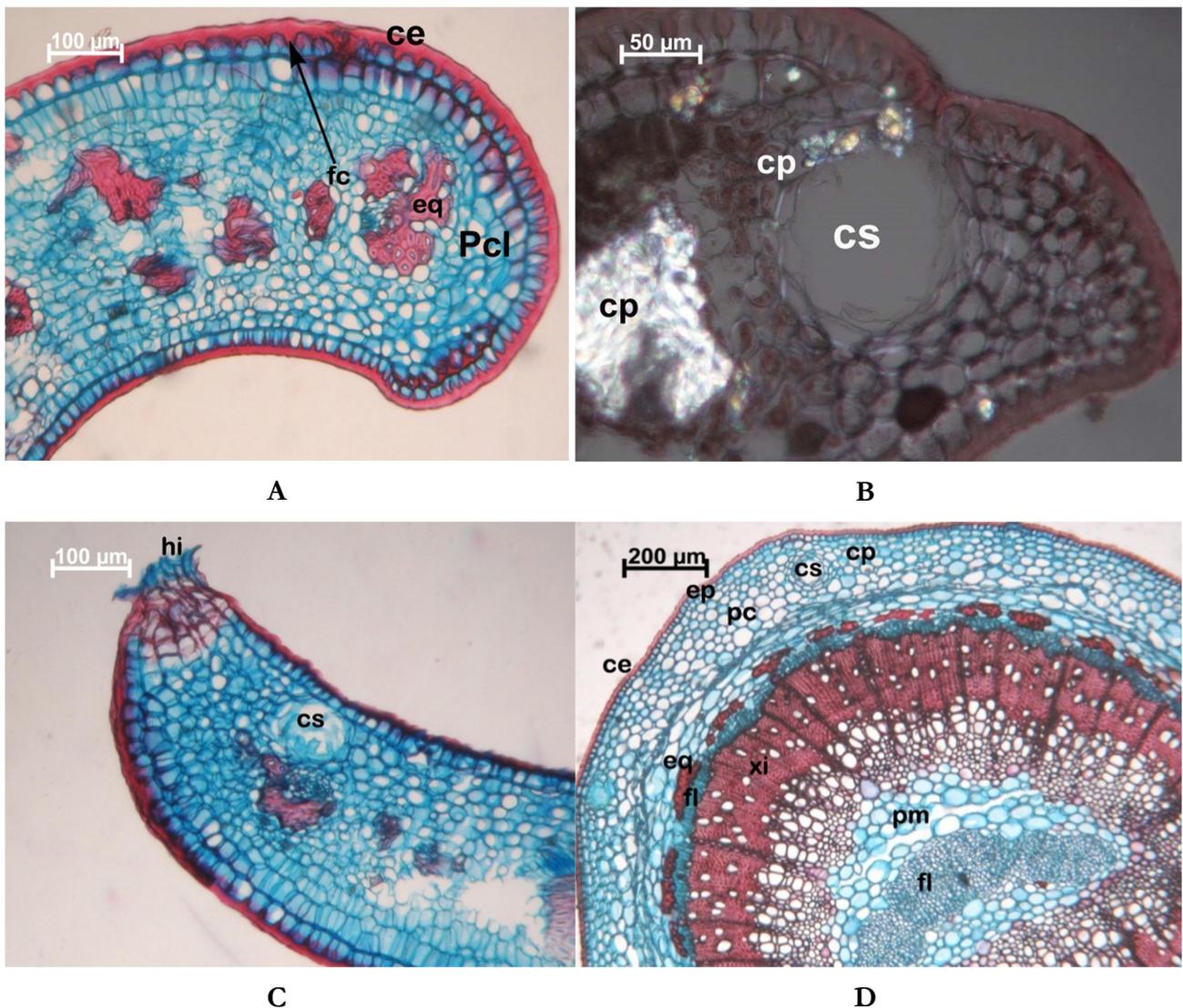
O bordo da base (Figura 03C) apresenta forma acuminada, levemente encurvada com hidatódio na extremidade e cavidade secretora próxima ao último feixe vascular. O parênquima clorofiliano apresenta várias camadas de células entre a epiderme e o feixe vascular, o qual possui uma calota esclerenquimática.

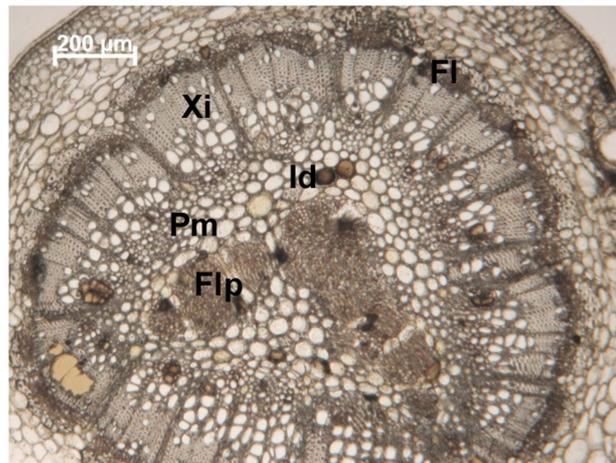
A nervura principal possui contorno convexo em ambas as faces. Abaixo da epiderme observa-se colênquima angular com cinco a seis camadas de células. No colênquima verifica-se a presença de cavidades secretoras e cristais prismáticos em forma de drusas. Entre o colênquima e as faixas esclerenquimáticas ocorre parênquima cortical. As faixas esclerenquimáticas são estreitas e interrompidas por células parenquimáticas (Figura 03D).

O feixe vascular na nervura principal é em arco fechado, apresentando faixas de células esclerenquimáticas externo ao floema secundário, seguido do câmbio vascular, do xilema secundário e

do xilema primário. O parênquima medular apresenta células de tamanhos e diâmetros variados com paredes espessas, pontuações e cristais prismáticos em forma de drusas. Verifica-se floema primário envolto pelo parênquima medular. Observaram-se idioblastos com compostos fenólicos no parênquima medular (Figura 03E).

Figura 03. Secções transversais. A- Bordo do ápice. B- Bordo mediano. C- Bordo da base. D- Nervura principal (azul de Alcian/safranina). E- Nervura principal (cloreto férrico). Legenda – ce: cutícula espessa, cp: cristal prismático, cs: cavidade secretora, ep: epiderme, eq: esclerênquima, fc: flanges cuticulares. fl: floema, Flp: floema primário; hi: hidatódios, Id: idioblastos contendo compostos fenólicos, pc: parênquima cortical, Pcl: Parênquima clorofiliano. pm: parênquima medular, xi: xilema.





E

Fonte: Autores

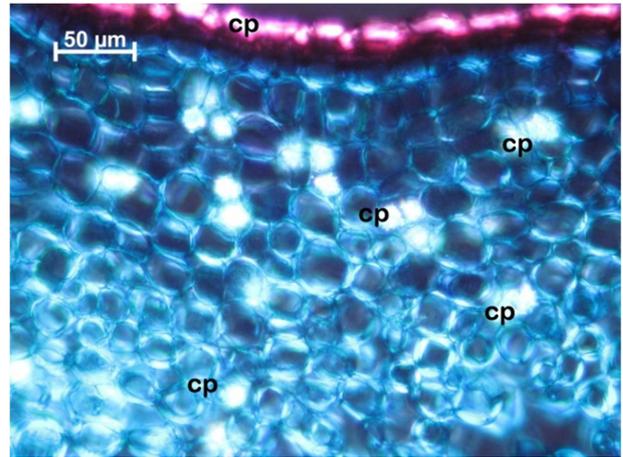
O pecíolo (Figura 04A) possui forma elíptica, contorno convexo-convexo com projeções bilaterais, encurvadas, epiderme uni-estratificada revestida por cutícula espessa, com presença de flanges cuticulares. Verificam-se cristais prismáticos em forma de drusas (Figura 04B), cavidades secretoras e vasos de menor calibre no parênquima cortical (Figura 04A). O esclerênquima externo ao floema é interrompido por células parenquimáticas e no feixe vascular observam-se floema, câmbio e xilema secundário. No parênquima medular (Figura 04C) ocorrem floema primário e células com pontuações.

O caule é cilíndrico com epiderme uni-estratificada, revestida por cutícula espessa. Abaixo da epiderme observam-se cinco a seis camadas de súber, três camadas de felogênio seguido de felema (Figura 04D). Presença de cavidades secretoras e cristais em forma de drusas no parênquima cortical. O sistema vascular é colateral em forma de anel. Fibras esclerenquimáticas ocorrem externamente ao floema, interrompidas por células parenquimáticas. Entre o xilema e o floema observam-se várias camadas de câmbio. Parênquima medular com células isodiamétricas de tamanhos diferentes (Figura 04E).

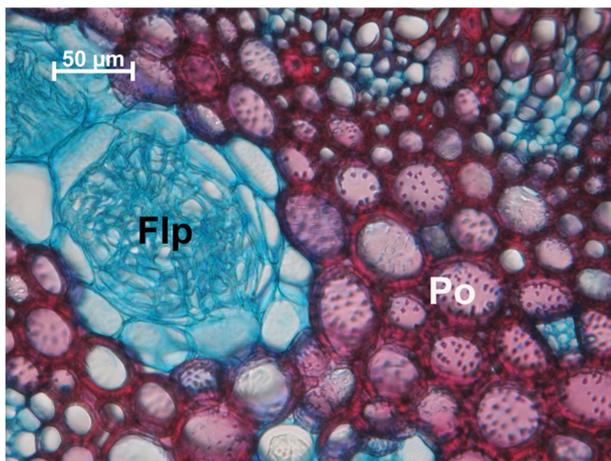
Figura 04. Secções transversais - azul de Alcian/safranina. A – Pecíolo. B- Pecíolo em luz polarizada evidenciando cristais prismáticos. C- Pecíolo- detalhe do parênquima medular. D e E- Caule jovem. Legenda –cb: câmbio, ce: cutícula espessa, cs: cavidade secretora, cp: cristal prismático, ep: epiderme, eq: esclerênquima, ex: expansão bilateral, fc: flanges cuticulares, fe: felogênio, fel: felema; fl: floema, fv: feixe vascular, hi: hidatódios pc: parênquima cortical, pm: parênquima medular, Su: suber, xi: xilema.



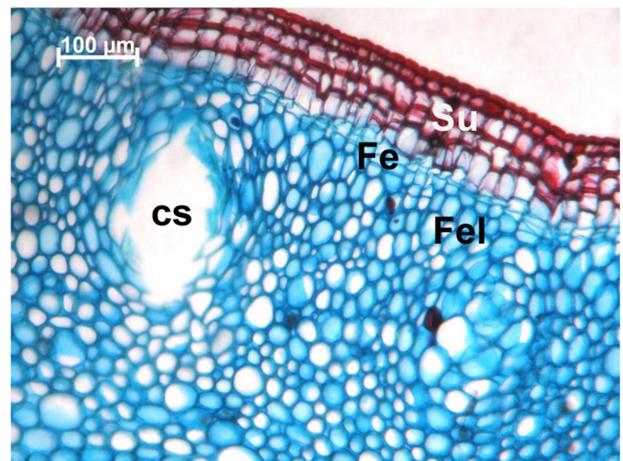
A



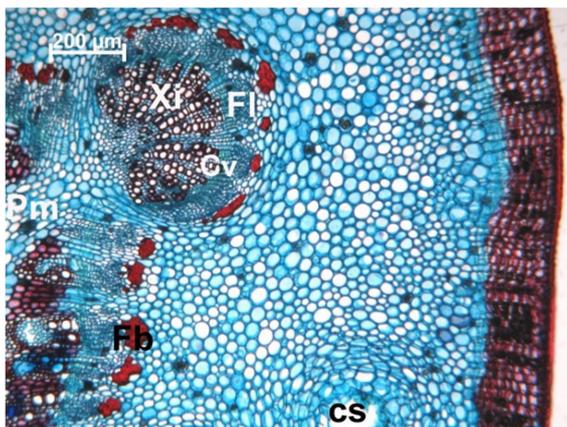
B



C



D



E

Fonte: Autores

ÓLEOS ESSENCIAIS

O rendimento do óleo essencial foi de 0,09% para a inflorescência, 0,31% para as folhas e 0,12% para os frutos. Verificou-se a presença de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (73,72%-inflorescências; 89,06%-folhas; 75,17%-frutos); sesquiterpenos oxigenados (25,84%-inflorescências; 10,3%-folhas; 17,83%-frutos). Foram identificados 29 compostos no óleo essencial das inflorescências de *H. oreadica* sendo os componentes majoritários o amorfa-4,7(11)-dieno (29,27%), o biciclogermacreno (23,28%) e o pogostol (20,68%); 25 compostos no óleo essencial das folhas sendo os componentes majoritários o biciclogermacreno (31,26%) e o amorfa-4,7(11)-dieno (27,66%) e 30 compostos no óleo essencial dos frutos sendo os componentes majoritários biciclogermacreno (20,64%) e o amorfa-4,7(11)-dieno (20,26%) (Tabela 01).

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TEORES DE ÁGUA E CINZAS TOTAIS E INSOLÚVEIS EM ÁCIDO

Foram identificados cumarinas, triterpenos, taninos, heterosídeos flavonoides e heterosídeos saponínicos nas folhas.

O teor de voláteis do pó das folhas foi de 9,30%; com um desvio padrão de 0,3214; e um coeficiente de variação de 3,45. O teor de cinzas totais médio foi de 2,46%. Não foi encontrado teor significativo de cinzas insolúveis em ácido.

DISCUSSÃO

Hortia oreadica é um sub-arbusto, de 0,5 m a 2,0 m de altura. Folhas simples, peciolada, pecíolo curto com base intumescida, alternas, 8 a 25 cm de comprimento. Flores com cerca de 10 mm de diâmetro. Enquanto que, de acordo com Candolle (1824) e Groppo & Pirani (2012) *Hortia brasiliana* Vand. (ex DC.) é uma árvore de 4 a 30 m de altura. Folhas com veias secundárias e terciárias proeminentes em ambas as faces, divergindo da costela mediana a 60-69°. Flores com cerca de 13 mm de diâmetro.

As folhas em *Hortia* são simples, dispostas em espiral, com pontos translúcidos. Segundo Groppo & Pirani (2012) esse tipo de glândulas é típico de Rutaceae, e podem ser visíveis ou não.

Observou-se que as flores apresentam grande quantidade de nectar/resina que são visitadas por vários insetos [formigas, abelhas (*Trigonas*, *Apis*), vespas, borboletas e besouros e gafanhotos]. Groppo & Pirani (2012) também relataram a visita de insetos nas flores de *H. oreadica*, com destaque para as abelhas. Abelhas, vespas, borboletas, moscas e formigas também foram observados como polinizadores efetivos da *H. brasiliana* (Barbosa 1999).

Apesar da *H. oreadica* apresentar grande quantidade de flores por inflorescência, ao longo do ano, a produção de frutos variou de 3 a 37 por inflorescência. Nos meses de novembro e dezembro verificaram-se maior produção de frutos. Constatou-se que a maioria das inflorescências seca sem produzir frutos.

O fruto de *H. oreadica* é uma baga com abundantes glândulas de óleo. De acordo com Groppo & Pirani (2012), este tipo de fruto contribui para a identificação do gênero *Hortia*, pois o distingui dos gêneros nativos de Rutaceae na América do Sul, que apresentam cápsulas ou folículos geralmente deiscentes ou quando indeiscente, não são do tipo baga, mas sâmaras ou samaroides, tal como ocorrem nos gêneros *Balfourodendron*, *Helietta* e *Spathelia*.

Em relação à anatomia foliar, o mesófilo é dorsiventral com parênquima paliçádico com duas camadas de células e parênquima lacunoso com cerca de 12 a 13 camadas. Essas características também foram observadas nas lâminas foliares de outras Rutaceae, como *Citrus latifolia* Tanaka (Cañizares et al. 2005) e *Pilocarpus goudotianus* Tul. (Gallardo & Jiménez 2002). Os cristais prismáticos encontrados em todo mesófilo e no pecíolo de *H. oreadica*, foram relatados por Ogundare & Saheed (2012) em várias espécies de *Citrus* (*C. paradisi* Macf., *C. limon* (L.) Burm, *C. reticulata* Blanco, e *C. sinensis* (L.) Osbeck.), bem como, em *P. goudotianus* (Gallardo & Jiménez 2002).

A folha é hipoestomática, com estômatos predominantemente anomocíticos. Segundo Metcalfe & Chalk (1979), os estômatos característicos de Rutaceae são paracíticos, porém estômatos anomocíticos foram relatados em *Citrus limettioides* (Lopes et al. 2013), *Raulinoa. Echinata* R. S. Cowan (Arioli et al. 2008) e *Pilocarpus microphyllus* Stapf (Oliveira et al. 1996).

Cavidades secretoras observadas no colênquima da nervura principal de *H. oreadica* também foram descritas para outras espécies de Rutaceae como *Citrus limettioides* Tanaka (Lopes et al. 2013), para quatro espécies de *Citrus* (Ogundare & Saheed 2012), *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl., *Helietta apiculata* Benth., *Metrodorea maracasana* Kaastra, *Metrodorea nigra* A. St.-Hil., *Metrodorea stipularis* Mart., *Metrodorea mollis* Taubert e *Metrodorea flavida* Krause (Martins et al. 2008), *Raulinoa echinata* R. S. Cowan (Arioli et al. 2008). As cavidades secretoras contendo óleos essenciais são consideradas sinapomorfia para a família Rutaceae (Cronquist 1981, Judd et al. 1999).

Entre os componentes majoritários identificados nos óleos essenciais das inflorescências, das folhas e dos frutos de *H. oreadica*, destacam-se o amorfa-4,7-(11)-diene e o biciclogermacreno. O amorfa-4,7-(11)-diene foi um diferencial para essa espécie, pois ainda não foi relatado em Rutaceae. Por outro lado, o biciclogermacreno também foi relatado como componente majoritário no óleo essencial

Estudo morfo-anatômico de *Hortia oreadica* e análise da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos

Danillo Luiz dos Santos, Heleno Dias Ferreira, José Realino de Paula, Stone de Sá, Pedro Henrique Ferri, Tatiana de Sousa Fiuza

das folhas de *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Chaibub et al. 2013), nas partes aéreas de *Haplophyllum linifolium* (L.) G. Don fil. (Iñigo et al. 2002), e de *Zanthoxylum hyemule* A. St. Hil. e *Zanthoxylum naranjillo* Griseb (Guy et al. 2001).

Na triagem fitoquímica das folhas de *H. oreadica* foram identificados cumarinas, triterpenos, taninos, heterosídeos flavonoides e heterosídeos saponínicos. Cumarinas e flavonoides também foram descritos por Freitas (2010) para *Hortia superba* Ducke e *Hortia brasiliana* Vand.

CONCLUSÕES

O estudo morfológico de *H. oreadica* contribuiu para a compreensão do comportamento dos indivíduos adultos, em relação às variações sazonais. Verificou-se como compostos majoritários dos óleos essenciais das inflorescências, das folhas e dos frutos, o amorfa-4,7-(11)-dieno e o biciclogermacreno. A triagem fitoquímica e análise anatômica da folhas e caule jovem fornece parâmetros de qualidade para a identificação correta desta espécie, visto que esta é erroneamente classificada como *H. brasiliana*.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), to the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and to the Foundation for Research Support of the State of Goiás (FAPEG). This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

REFERÊNCIAS

Adams RP 2007. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. 4th ed, Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL, 804pp.

Albuquerque BWP 1968. Rutaceae do Estado da Guanabara. An Acad Bras Ciênc 40 (4): 499–530.

Arioli T, Voltolini CH, Santos M 2008. Morfoanatomia foliar da reófito *Raulinoa echinata* R.S. Cowan –Rutaceae. Acta Bot Bras 22(3): 723-732.

Barbosa AAA 1999. *Hortia brasiliana* (Vand.) Rutaceae: polinização por aves passeriformes no cerrado do sudeste brasileiro. Rev Bras Bot 22(1): 99–105.

Braga PAC, Severino VGP, de Freitas SDL, Silva MFGF, Fernandes JB, Vieira PC, Pirani JR, Groppo M 2012. Dihydrocinnamic acid derivatives from *Hortia* species and their chemotaxonomic value in the Rutaceae. Biochem Syst Ecol 43:142–151.

Brasil 2010. Farmacopéia Brasileira. 5. ed. Editora Atheneu, São Paulo, 546pp.

Estudo morfo-anatômico de *Hortia oreadica* e análise da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos

Danillo Luiz dos Santos, Heleno Dias Ferreira, José Realino de Paula, Stone de Sá, Pedro Henrique Ferri, Tatiana de Sousa Fiuza

Candolle AP 1824. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Part I. Sumptibus Sociorum Treuttel et Würtz, Paris, 758pp.

Cañizares A, Sanabria M, Rojas E 2005. Anatomía de la roja de Lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka). *Rev UDO Agríc* 5(1): 68-73.

Chaibub BA, Oliveira TB, Fiuza TS, Bara MTF, Tresvenzol LMF, Paula JR 2013. Composição química do óleo essencial e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato etanólico bruto e frações das folhas de *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. *Rev Bras Pl Med* 15(2): 225-29.

Costa AF 2001. *Farmacognosia*. 3. ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1032pp.

Cronquist A 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. The New Botanical Garden, Columbia, USA, 1262pp.

Engler A 1931. Rutaceae. In: A Engler, K Prantl. *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. 2 ed., Engelmann, Leipzig, p.187- 359.

Engler A 1874. Rutaceae in *Flora Brasiliensis*, v. 12, eds. CFP Martius, AG Eichler. *Typographia Regia*, Munich, p. 75–196.

Fiuza TS, Santos DL, Ferreira HD, Borges LL, Paula JR, Tresvenzol LMF, Santos PA, Sá S 2015. Antimicrobial activity evaluation of *Hortia oreadica* Groppo, Kallunki & Pirani essentials oils (leaves and flowers) and crude ethanol extract and fractions of leaves. *J Pharmacogn Phytochem* 3: 66–70.

Freitas SDL 2010. Estudo quimiosistemático de espécies de *Hortia* (Rutaceae) e busca de fungicidas à *Guignardia citricarpa*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 123pp.

Gallardo LH, Jiménez ME 2002. Anatomía foliar de *Pilocarpus goudotianus* Tul. (Rutaceae). *Caldasia* 24(2): 269-75.

Groppo M, Cruz-Barros MAV, Correa AMS 2010. Pollen Morphology of species of *Hortia* (Rutaceae). *Rev Bras Bot* 33(1): 13-20.

Groppo M, Kallunki JA, Pirani JR 2005. Synonymy of *Hortia arborea* with *H. brasiliana* (Rutaceae) and a new species from Brazil. *Brittonia* 57(1): 28-34.

Groppo M, Pirani JR 2012. A Revision of *Hortia* (Rutaceae). *Syst Bot* 37(1): 197-212.

Groppo M 2004. Filogenia de Rutaceae e revisão de *Hortia*. Tese Doutorado em ciências biológicas, Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 129pp.

Guy I, Charles B, Guinaudeau H, Fournet A, Ferreira ME, Arias AR 2001. Essential oils from leaves of two Paraguayan Rutaceae: *Zanthoxylum hyemale* A. St. Hil. And *Z. naranjilo* Griseb. *Essent Oil Res* 13: 200-201.

Iñigo A, Palá-Paúl J, Pérez-Alonso MJ, Velasco-Negueruela A 2002. Essential Oil composition from the aerial parts of *Haplophyllum linifolium* (L.) G. Don fil. *Bot Complutensis* 26: 79-83.

Johansen DA 1940. *Plant microtechnique*. 1st ed., McGraw-Hill Book, New York, 523pp.

Estudo morfo-anatômico de *Hortia oreadica* e análise da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos

Danillo Luiz dos Santos, Heleno Dias Ferreira, José Realino de Paula, Stone de Sá, Pedro Henrique Ferri, Tatiana de Sousa Fiuza

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF 1999. Systematics. A phylogenetic approach. Massachusetts U.S.A, Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, 576pp.

Kraus JE, Arduin M 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Ed. Universidade Rural, Rio de Janeiro, 198pp.

Kubitzki K, Kallunki JA, Duretto M, Wilson PG 2011. Rutaceae. In K Kubitzki. The families and genera of vascular plants. Springer, Berlin, p. 276-356.

Lopes LTA, Paula JR, Tresvenzol LMF, Bara MTF, Sá S, Ferri PH, Fiuza TS 2013. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettioides* Tanaka (Rutaceae). Rev Ciênc Farm Básica Apl 34(4): 503-11.

Martins TP, Teixeira SP, Groppo M 2008. Anatomia foliar comparada de *Metrodorea* A.St.-Hil. (Rutaceae). In Simpósio internacional de iniciação científica da USP, 16, Ribeirão Preto, 2008. Resumos... Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Nebo L, Varela RM, Molinillo JMG, Sampaio OM, Severino VGP, Cazal CM, Fernandes MFG, Fernandes JB, Macías FA 2014. Phytotoxicity of alkaloids, coumarins and flavonoids isolated from 11 species belonging to the Rutaceae and Meliaceae families. Phytochem Lett 8: 226-232.

Metcalf CR, Chalk L 1979. Anatomy of the dicotyledons. v.I. Clarendon Press, Oxford, 668pp.

Ogundare CS, Saheed SA 2012. Foliar epidermal characters and petiole anatomy of four species of *Citrus* L. (Rutaceae) from southwestern Nigeria Bangladesh. J Plant Taxon 19(1): 25-31.

Oliveira F, Akisue G, Akisue MK 1996. Farmacognosia. Atheneu, São Paulo, 412pp.

Perveen A, Qaiser M 2005. Pollen Flora of Pakistan -XIV. Rutaceae. Pak J Bot 37(3):495-501.

Pio-Corrêa M 1984. Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas. v. 5., Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro, 747pp.

Saint-Hilaire A 1824. Plantes usuelles des brésiliens. Grimbert Libraire, Paris, 342pp.

Sass JE 1951. Botanical microtechnique. State Press, Iowa, 391pp.

Severino VGP, Cazal CM, Forim MR, Silva MFGF, Rodrigues-Filho E, Fernandes JB, Vieira PC 2009a. Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography. J Chromatogr A. 1216:4275–4281.

Severino VGP, Silva MFGF, Lucarini R, Montanari LB, Cunha WR, Vinholis AHC, Martins CHG 2009b. Determination of the antibacterial activity of crude extracts and compounds isolated from *Hortia oreadica* (Rutaceae) against oral pathogens. Braz J Microbiol 40: 535–540.

Severino VGP, Braga PAC, Silva MFGF, Fernandes JB, Vieira PC, Theodoro JE, Ellena JA 2012. Cyclopropane- and spirolimonoids and related compounds from *Hortia oreadica*. Phytochem 76:52–59.

Severino VGP, Freitas S, Braga P, Forim M, Silva M, Fernandes J, Vieira P, Venâncio T 2014. New limonoids from *Hortia oreadica* and unexpected coumarin from *H. superba* using chromatography over cleaning sephadex with sodium hypochlorite. Molecules 19: 12031–12047.

Estudo morfo-anatômico de *Hortia oreadica* e análise da composição química dos óleos essenciais das folhas, flores e frutos

Danillo Luiz dos Santos, Heleno Dias Ferreira, José Realino de Paula, Stone de Sá, Pedro Henrique Ferri, Tatiana de Sousa Fiuza

Severino VGP, Monteiro AF, Silva MFGF, Lucarini R, Martins CHG 2015. Chemical study of *Hortia superba* (Rutaceae) and investigation of the anti-mycobacterial activity of crude extracts and constituents isolated from *Hortia* species. *Quím Nova* 38: 42–45.

Souza VC, Flores TB, Colleta GD, Coelho RLG 2018. Guia das Plantas do Cerrado. Taxon Brasil Editora e Livraria, Piracicaba, SP, 583pp.

Van Den Dool H, Kratz PDJA 1963. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J Chromatog* 11: 463-71.

Morpho-anatomical study of *Hortia oreadica* and analysis of chemical composition of essential oils of leaves, flowers and fruits

ABSTRACT

Hortia oreadica (Rutaceae), known as "quina-do-campo" and "para-tudo", is popularly used as stimulant and stomachic. The aims of this study was to perform: morphological description and the study of the behavior of individuals of *H. oreadica* in relation to seasonal variations; anatomical study of the leaves and young stems; phytochemical screening of the powdered leaves; identify the components of the essential oil from inflorescences, leaves and fruits. The morphological and anatomical studies of the plant leaves and young stem were performed according to conventional techniques of plant anatomy. The essential oils were obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus and analyzed by GC/MS. It was observed that *H. oreadica* is a shrub with simple and alternate sheets. Leaf blade glabrous on both sides with translucent points. Inflorescence corymb of dicásio, with about 580 flowers; thick branches. Flower with color ranging from pink to vinaceous and copious nectar. Green fruit, capsular and black seeds. Anatomically it was verified secretory cavities, prismatic crystals, and predominantly anomocytic stomata. The major components of the essential oil from the leaves, flowers and fruits were: amorpho-4,7(11)-diene and bicyclogermacrene. The morphological study of *H. oreadica* contributed to understanding the behavior of adult's plants in relation to seasonal variation. Anatomical analysis of the leaves and young stems provided parameters for the correct identification of this species. This work presents the chemical composition of the essential oils from leaves, flowers and fruits of *H. oreadica* collected in Pirenópolis (Goiás).

Keywords: Morphoanatomy; Essential oil; Phytochemical; Rutaceae

Submission: 06/03/2018

Acceptance: 21/11/2019