



Caracteres Anatômicos de Folha e Caule de *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., Piperaceae

Márcia do R. DUARTE * & Maria C.N. SIEBENROCK

Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná,
Av. Prof. Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico, 80210-170, Curitiba, PR, Brasil

RESUMO. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) ocorre em regiões tropicais e subtropicais, e inclui várias espécies de importância na medicina popular, podendo-se destacar *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. Denominada de pariparoba e jaborandi, essa planta é empregada como antisséptico, hepatoprotetor e emenagogo. Este trabalho investigou a anatomia foliar e caulinar dessa potencial droga vegetal, a fim de estabelecer caracteres estruturais para a identificação microscópica e para a diferenciação de outras espécies do gênero. Folhas adultas e caules jovens foram fixados, seccionados à mão livre ou emblocados em glicol-metacrilato e seccionados em micrótomo, e posteriormente corados. A folha possui epiderme uniestratificada, estômatos tetracíticos exclusivamente na face abaxial, tricomas glandulares e tectores, camadas subepidérmicas parenquimáticas, mesófilo dorsiventral, células secretoras e ráfides de oxalato de cálcio. A nervura central e o pecíolo apresentam feixes vasculares colaterais. No nível caulinar analisado, a epiderme persistente e o felogênio tem instalação periférica. Observam-se feixes vasculares colaterais dispostos em dois círculos, o externo no cilindro vascular e o interno na medula. Na zona perimedular, ocorre uma bainha esclerenquimática sinuosa e um canal está presente na região central.

SUMMARY. "Anatomical Characters of the Leaf and Stem of *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., Piperaceae". The genus *Piper* L. (Piperaceae) is found in tropical and subtropical regions, and it includes several species of interest in folk medicine, such as *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. Commonly known as "pariparoba" or "jaborandi" in Portuguese, this plant is considered antiseptic, hepatoprotective and emmenagogue. This work has investigated the leaf and stem anatomy of this potential vegetal drug, in order to establish structural characters for microscopic identification and for differentiating from other species of the genus. Mature leaves and young stems were fixed, either sectioned by free-hand or embedded in glycol methacrylate and sectioned by microtome, and then stained. The leaf has uniseriate epidermis, tetracytic stomata exclusively on the abaxial side, glandular and non-glandular trichomes, parenchymatic sub-epidermal layers, dorsiventral mesophyll, secretory cells and calcium oxalate raphides. The midrib and petiole show collateral vascular bundles. In the caulinar level analysed, the epidermis remains and the phellogen has peripheral installation. There are collateral vascular bundles arranged in two rings, the external one in the vascular cylinder and the internal one in the pith. In the perimedular zone, it occurs a sinuous sclerenchymatic sheath and a canal is present in the central region.

INTRODUÇÃO

O gênero *Piper* L. pertence à família Piperaceae e é representado por plantas lenhosas, com folhas alternas e simples, inflorescências em espigas opositifólias, densas e carnosas, com flores pequenas e sésseis^{1,2}. Ocorre em regiões tropicais e subtropicais e inclui várias espécies de importância na medicina popular³, a exem-

plo de *Piper marginatum* Jacq., empregada para tratar problemas respiratórios, estomacais e urinários⁴ e *P. aduncum* L., indicada para gripes, hemorragias e úlceras⁵⁻⁷. Investigações fitoquímicas revelaram a presença de óleos essenciais, alcaloides, terpenoides e flavonoides no gênero^{8,9}. Ensaios farmacológicos demonstraram as atividades anti-inflamatória de *P. marginatum*¹⁰,

PALAVRAS CHAVE: Camada subepidérmica, Canal de mucilagem, Célula secretora, Ráfide, Tricoma
KEY WORDS: Mucilage canal, Raphide, Secretory cell, Sub-epidermal layer, Trichome

* Autor a quem correspondência deve ser enviada: E-mail: marciard@ufpr.br

P. betle L.¹¹ e *P. ovatum* Vahl¹², e espasmolítica de *P. regnellii* DC.¹³, entre outras.

Levando-se em conta as várias espécies utilizadas popularmente, pode-se destacar *Piper mikanianum* (Kunth) Steud. (Fig 1), conhecida comumente como pariparoba e jaborandi¹⁴⁻¹⁷ e cujas folhas são empregadas como antisséptico, hepatoprotetor e emenagogo^{14,15,17,18}. Análises dos compostos químicos (Fig. 2) levaram à identificação de biciclogermacreno, β -cariofileno, limoneno⁸ e saffrol¹⁷.

Em razão do isolamento de compostos bioativos em *P. mikanianum*, possivelmente associados aos efeitos terapêuticos que lhe são atribuídos na medicina popular, estudos complementares vêm sendo realizados, com o propósito de se ampliar o conhecimento dessa potencial droga vegetal. Sob essa perspectiva, este trabalho investigou a anatomia de folha e caule, estabelecendo caracteres estruturais para a identificação microscópica de *P. mikanianum* e para a diferenciação de outras espécies do gênero.

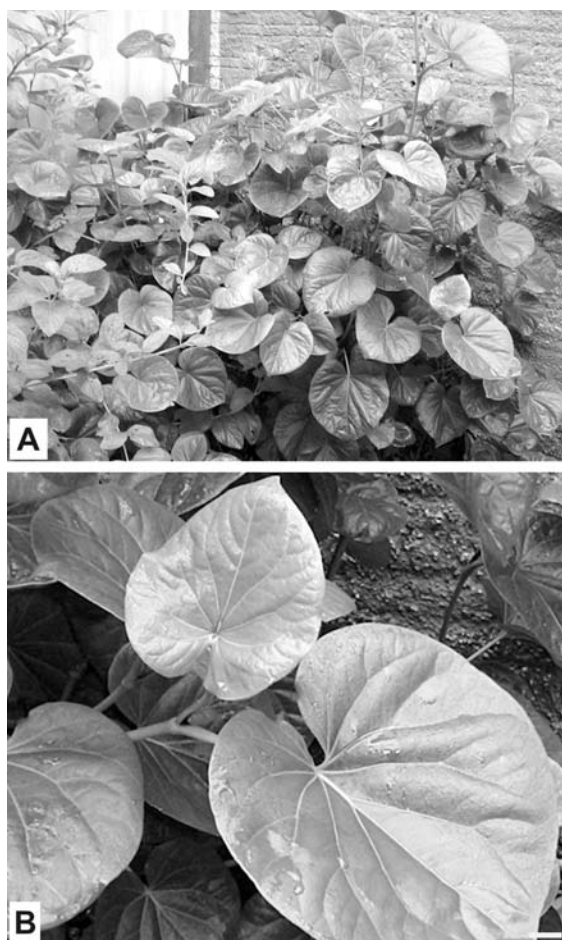


Figura 1. *Piper mikanianum* (Kunth) Steud.: **A.** planta no hábito; **B.** detalhe das folhas. Barra = 1 cm.

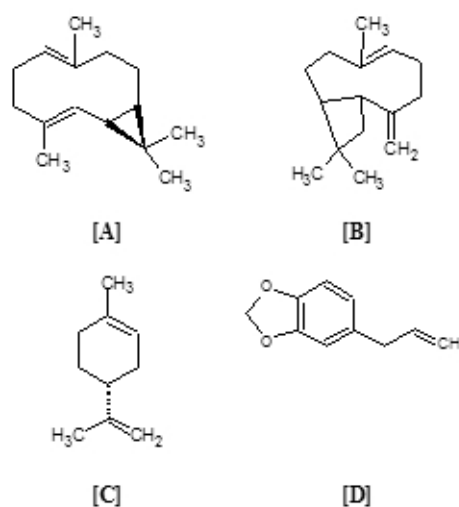


Figura 2. Constituintes químicos isolados de *Piper mikanianum* (Kunth) Steud.: **A.** biciclogermacreno; **B.** β -cariofileno; **C.** limoneno; **D.** saffrol.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Para a caracterização anatômica, coletaram-se amostras de folhas adultas e caules jovens, entre 5-20 cm do ápice caulinar, de exemplares cultivados na região de Curitiba, PR, Brasil, cujas coordenadas aproximadas são 25°26' S e 49°14' W, e altitude de 930 m, em outubro de 2006. A exsiccata preparada foi identificada no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba, sob o registro MBM 101045.

Metodologia

Fragmentos foliares e caulinares foram fixados em FAA70¹⁹ e posteriormente armazenados em solução etanólica a 70%²⁰. O material fixado foi seccionado nos sentidos transversal e longitudinal, à mão livre e corado com azul de astra e fucsina básica²¹ para o preparo de lâminas semipermanentes. Em paralelo, os fragmentos fixados foram desidratados em série etanólica crescente, emblocados em glicol-metacrilato, seccionados em micrótomo de rotação e corados com azul de toluidina, utilizando-se resina sintética para a montagem de lâminas permanentes²².

Realizaram-se testes microquímicos usuais para a evidenciação de compostos fenólicos com FeCl₃¹⁹, amido com lugol²⁰, substâncias lipofílicas com Sudan III²³, mucilagem com azul de metileno²⁴ e lignina com floroglucina clorídrica²⁵, além de se confirmar a natureza dos cristais de oxalato de cálcio com ácido sulfúrico diluído²⁴.

RESULTADOS

Folha

A folha, em vista frontal, apresenta células epidérmicas com paredes anticlinais praticamente poligonais, moderadamente espessadas e com visíveis campos primários de pontuação (Figs. 3A, 3B). Estômatos ocorrem exclusivamente na face abaxial (Fig. 3B) e são ladeados por quatro ou cinco células, havendo predominância do tipo tetracítico. As células-guarda possuem paredes periclinais externa e interna mais espessadas e cristas cuticulares externas evidentes (Fig. 4B). O nível de inserção dos estômatos é o mesmo com relação às demais células epidérmicas (Fig. 4B). Tricomas glandulares pluricelulares e unisseriados, de pedicelo curto e cabeça ovoide alongada no sentido longitudinal, estão presentes em ambas as superfícies (Figs. 3A-3C), e alguns tricomas tectores pluricelulares e unisseriados, revestidos por cutícula estriada, são encontrados na nervura central (Fig. 3D).

Na região internervural (Fig. 4B), em secção transversal, a epiderme consiste de uma camada de células alongadas periclinalmente e é revestida por uma cutícula delgada. Junto a ambas as faces, encontram-se cerca de uma ou duas camadas subepidérmicas de células parenquimáticas, relativamente grandes. O mesofilo é dorsiventral, sendo que os clorênquimas compõem-se de uma ou duas camadas de parênquima paliçádico e aproximadamente cinco estratos de parênquima esponjoso, este correspondendo a 60-70% da altura dos tecidos fotossintetizantes.

Feixes vasculares de pequeno porte, do tipo colateral e circundados por uma bainha parenquimática, percorrem o parênquima esponjoso. Idioblastos representados por células secretoras com conteúdo lipofílico ocorrem no mesofilo (Fig. 4B). Células com ráfides de oxalato de cálcio predominam na epiderme e nas camadas subepidérmicas.

Seccionada transversalmente, a nervura central revela contorno biconvexo (Figs. 5A, 5B). Subjacente à epiderme uniestratificada, há várias camadas de colênquima angular em ambas as faces (Figs. 5A-5C). Na sequência, observam-se camadas subepidérmicas parenquimáticas apenas na face superior (Fig. 5B). Os feixes vasculares são colaterais (Fig. 4A) e variam em número, desde um único feixe no ápice foliar (Fig. 5A) a até oito feixes nas proximidades do pecíolo (Fig. 5B). Nesta região, estes assumem formato circular (Fig. 4A) e distribuem-se em arco aberto (Figs. 5B, 5C). Ocasionalmente, os feixes de maior porte apresentam bainha esclerenquimática incompleta.

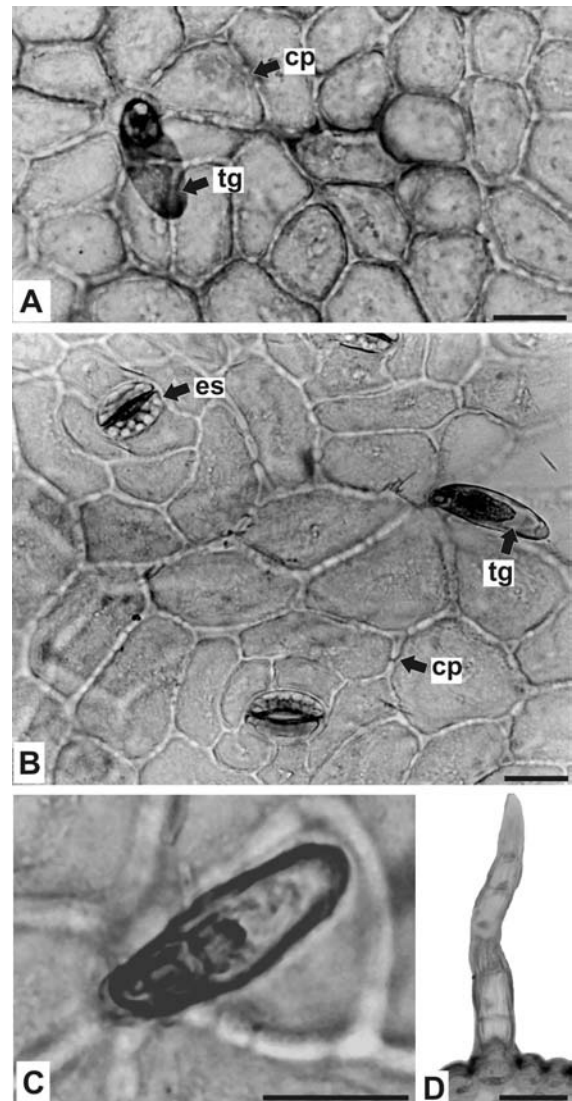


Figura 3. *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., epiderme foliar: **A.** vista frontal da face adaxial; **B.** vista frontal da face abaxial; **C.** pormenor de tricoma glandular; **D.** tricoma tector. Abreviaturas: **cp** – campos primários de pontuação, **es** – estômato, **tg** – tricoma glandular. Barra = 20 μ m.

O pecíolo (Fig. 4C) possui secção transversal côncavo-convexa, camada subepidérmica menos evidente comparativamente à nervura central, cordões de colênquima angular e vários feixes vasculares distribuídos em arco fechado. Células secretoras e ráfides de oxalato de cálcio encontram-se no parênquima fundamental do pecíolo, bem como na nervura central (Fig. 4A).

Caule

No nível analisado, a epiderme persiste no caule (Figs. 6, 7A), embora se encontre em fase inicial de destacamento em algumas regiões. O

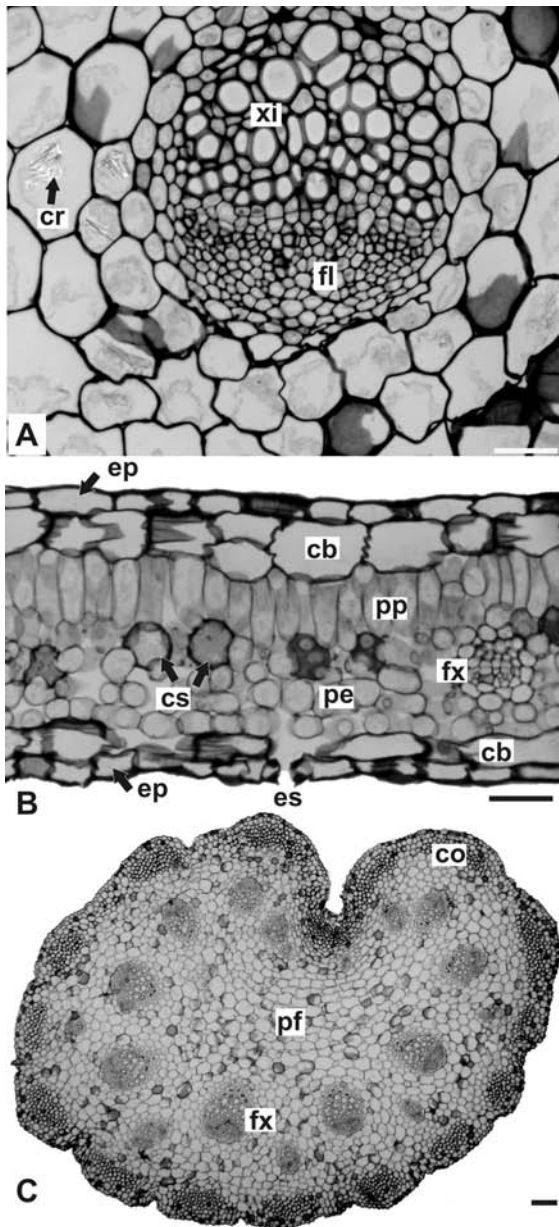


Figura 4. *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., secção transversal da folha: **A.** detalhe de um feixe vascular colateral da nervura central; **B.** região internervural, mostrando mesófilo dorsiventral; **C.** organização do pecíolo. Abreviaturas: **cb** – camada subepidérmica, **co** – colênquima, **cr** – cristal de oxalato de cálcio, **cs** – célula secretora, **ep** – epiderme, **es** – estômato, **fl** – floema, **fx** – feixe vascular, **pe** – parênquima esponjoso, **pf** – parênquima fundamental, **pp** – parênquima paliçádico, **xi** – xilema. Barra = 100 µm (C), 20 µm (A, B).

felogênio tem instalação superficial (Fig. 7A). Seguem-se a alguns estratos de parênquima cortical faixas de colênquima angular, o qual revela progressiva lignificação. No limite cortical interno, ocorre endoderme com estrias de Caspary,

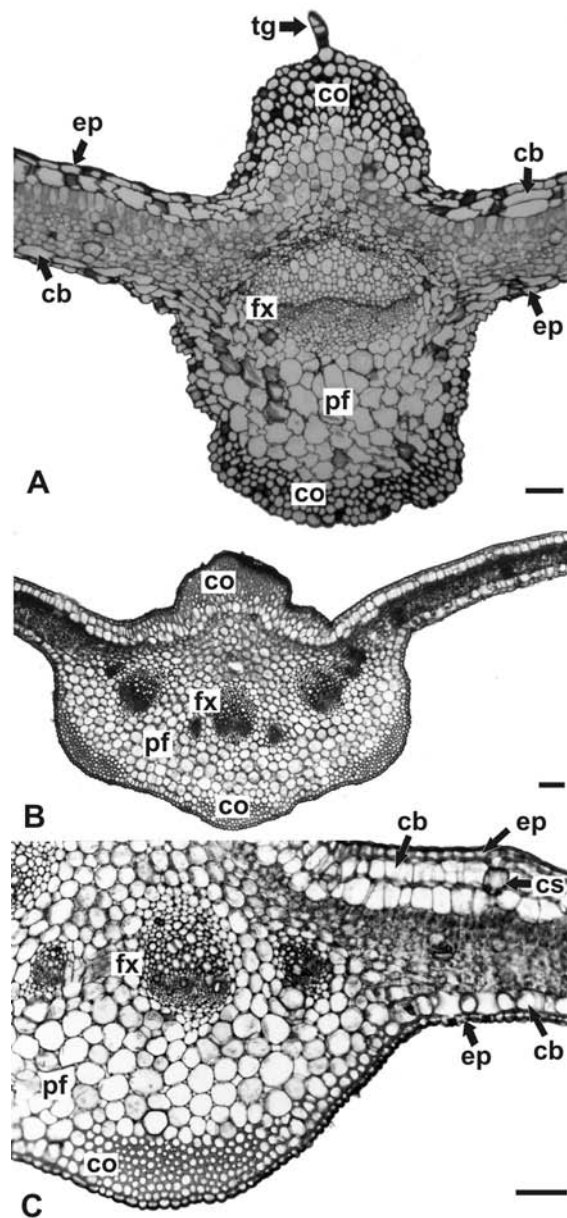


Figura 5. *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., secção transversal da nervura central: **A.** região do ápice foliar; **B.** região próxima ao pecíolo; **C.** detalhe da figura anterior. Abreviaturas: **cb** – camada subepidérmica, **co** – colênquima, **cs** – célula secretora, **ep** – epiderme, **fx** – feixe vascular, **pf** – parênquima fundamental, **tt** – tricoma tector. Barra = 100 µm (B), 50 µm (A), 20 µm (C).

contendo amiloplastos. No cilindro vascular, distinguem-se feixes vasculares colaterais, dispostos de modo circular. Na zona perimedular, ocorre uma bainha esclerenquimática sinuosa, formada de várias camadas de células lignificadas (Figs. 6, 7A). A medula é parenquimática (Figs. 6, 7A, 7B), possui alguns amiloplastos e

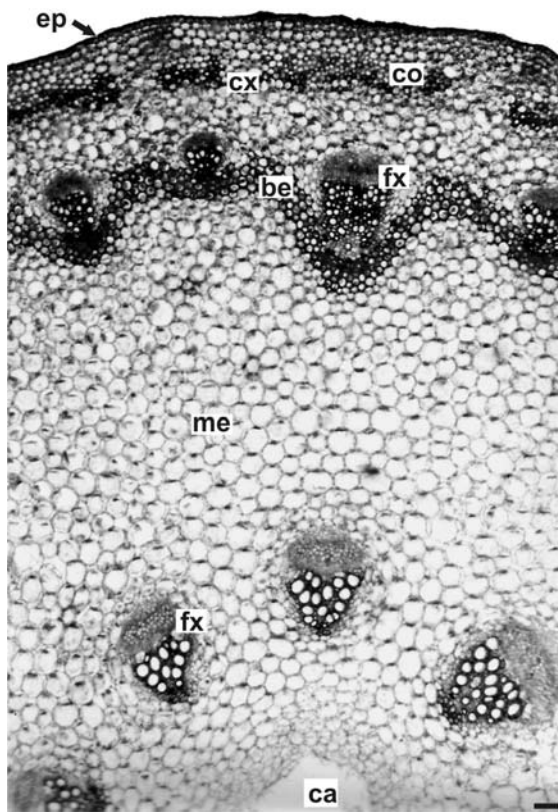


Figura 6. *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., secção transversal do caule jovem, em que se observam feixes vasculares dispostos em círculos externo e interno. Abreviaturas: **be** - bainha esclerenquimática, **ca** - canal, **co** - colênquima, **cx** - córtex, **ep** - epiderme, **fx** - feixe vascular, **me** - medula. Barra = 100 µm.

ocupa grande parte do volume caulinar (Fig. 6). Apresenta vários feixes vasculares colaterais (Fig. 7B), com calotas esclerenquimáticas apostas ao xilema e arranjados em anel nas proximidades de um canal, com grande lúmen, na região central (Figs. 6, 7B). Tanto esses feixes medulares, que formam um círculo interno, quanto os feixes vasculares do círculo externo mostram câmbio intrafascicular evidente. Células secretoras e ráfides de oxalato de cálcio estão presentes no caule.

DISCUSSÃO

Como esperado, a espécie *P. mikanianum* apresenta caracteres anatômicos foliares compatíveis com o padrão relatado para as Piperaceae²⁶, tais como folha hipostomática, ocorrência de estômatos do tipo tetracítico e anisocítico, mesófilo dorsiventral e tricomas unisseriados e pouco frequentes. Especificamente quanto ao gênero *Piper*, os tricomas classificados como

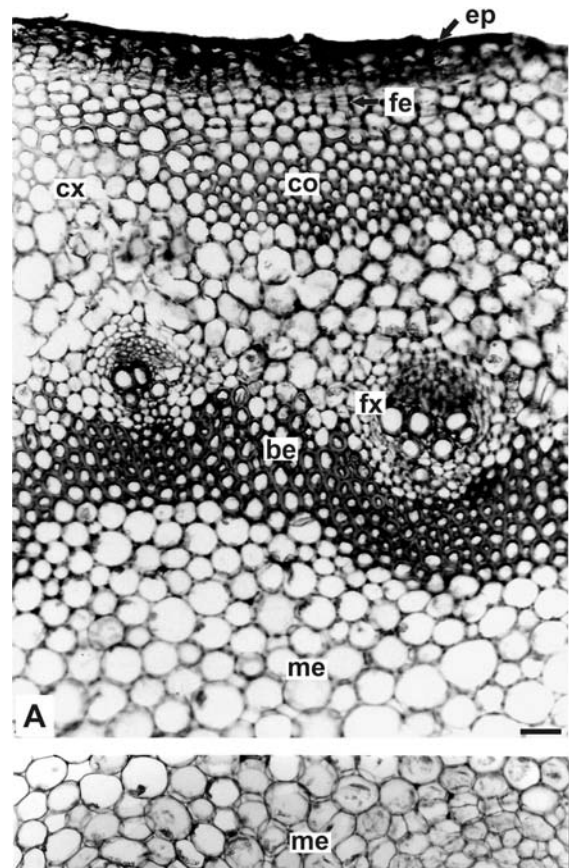


Figura 7. *Piper mikanianum* (Kunth) Steud., secção transversal do caule jovem: **A**, detalhe da instalação periférica do felogênio e da bainha esclerenquimática; **B**, pormenor de feixe vascular nas proximidades da região central. Abreviaturas: **be** - bainha esclerenquimática, **ca** - canal, **co** - colênquima, **cx** - córtex, **ep** - epiderme, **fe** - felogênio, **fl** - floema, **fx** - feixe vascular, **me** - medula, **xi** - xilema. Barra = 50 µm.

glandulares são descritos como consistindo de um pedicelo curto e de uma cabeça volumosa²⁶, de modo similar ao verificado neste estudo. Para Fahn²⁷, essas estruturas secretoras produzem preferentemente alcaloides, enquanto que para Metcalfe & Chalk²⁶ ocorre acúmulo de proteínas e óleo.

Adicionalmente, diferentes autores^{2,3,26} enfatizam a presença de ráfides de oxalato de cálcio e células secretoras esféricas em tecidos parenquimáticos na família, em consonância ao verificado.

Com relação às camadas subepidérmicas parenquimáticas que foram observadas junto a ambas as superfícies foliares, esta investigação não as referiu como hipoderme ou epiderme multiseriada, pelo fato de não terem sido executados estudos ontogenéticos. No entanto, Metcalfe & Chalk^{26,28} mencionam a presença de hipoderme

em Piperaceae, em oposição a Fahn ²⁷, que relata a ocorrência de epiderme pluriestratificada em certas espécies da família. Por sua vez, Mauseth ²⁹ indica tanto epiderme multisseriada, quanto hipoderme em Piperaceae, ambas desempenhando a função armazenadora de água.

A constatação de colênquima angular na região cortical de *P. mikanianum*, em processo gradual de lignificação, foi documentada em Piperaceae ²⁹, bem como a ocorrência de feixes vasculares distribuídos em mais de um círculo ^{2,3}. Embora esta análise tenha se restringido ao caule jovem da espécie em questão, para Cronquist ³, em decorrência do crescimento cambial, o círculo externo de feixes dá origem a cilindros contínuos de floema e xilema, permanecendo os feixes internos individualizados. De acordo com Mauseth ²⁹, esses feixes medulares podem se direcionar à periferia e contribuir na vascularização da folha. De modo diverso ao observado neste trabalho, Metcalfe & Chalk ²⁸ destacam que esclerênquima não está associado a feixes medulares em Piperaceae.

Comparativamente a outros representantes do gênero, a organização peciolar de *P. mikanianum* mostra-se, de um modo geral, semelhante à de *P. nigrum* L. (pimenta-do-reino) ²⁶, exceto pelo fato de não ter sido observado canal de mucilagem no pecíolo da espécie em análise. Do mesmo modo, há correspondência entre a organização caulinar dessas duas espécies, especialmente no que se refere à disposição dos feixes vasculares em dois círculos concêntricos e a presença de bainha esclerenquimática na zona perimedular e de um canal na região central do caule. Para Metcalfe & Chalk ²⁶, essa estrutura secretora interna produz mucilagem.

Com relação a outras espécies do gênero, verificam-se caracteres anatômicos diferenciais que não são observados em *P. mikanianum*. Portanto, de modo sucinto, na folha de *P. auncum* ³⁰ ocorrem prismas de oxalato de cálcio e

camada subepidérmica exclusivamente adaxial, e o caule mostra ausência de canal de mucilagem. Em *P. betle* ³¹, há camada subepidérmica restrita à superfície adaxial, cavidade de mucilagem na nervura central e canal de mucilagem no pecíolo. Por sua vez, *P. hispidinervium* ³² possui estômatos em ambas as superfícies e camada subepidérmica adaxial na folha. Em *P. regnellii* ³³, encontram-se camadas subepidérmicas adaxial e abaxial uniestratificadas, tricomas glandulares capitados, célula de mucilagem e drusas de oxalato de cálcio, enquanto que no caule não se observa canal de mucilagem.

Diferentemente de *P. mikanianum*, as espécies *P. gaudichaudianum* ³⁴ e *P. hispidum* ³⁵ apresentam camadas subepidérmicas adaxial descontínua e abaxial completa e em *P. crassinervium* ³⁶ são encontrados abundantes tricomas glandulares. Folha com nervura central côncavo-convexa e ausência de canal de mucilagem no caule é característico de *P. gaudichaudianum* ³⁴, *P. hispidum* ³⁵, *P. crassinervium* ³⁶ e *P. diospyrifolium* ³⁷. Além desses aspectos, *P. gaudichaudianum* ³⁴ revela bainha esclerenquimática incompleta no caule.

CONCLUSÕES

De um modo geral, os caracteres anatômicos verificados nos órgãos vegetativos aéreos de *P. mikanianum* são compatíveis com o padrão de Piperaceae. No entanto, ocorrem características estruturais que permitem diferenciar esta espécie de outras do gênero *Piper*, especialmente com referência a localização da camada subepidérmica, contorno em transecção da nervura central e ocorrência, localização e tipos de estruturas secretoras internas.

Agradecimentos. Aos taxonomistas do Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba pela identificação da espécie e ao PIBIC/CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida à segunda autora.

REFERÊNCIAS

- Barroso, G.M. (1978) "*Sistemática de angiospermas do Brasil*", Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro.
- Judd, W.S., C.S. Campbell, E.A. Kellogg & P.F. Stevens (1999) "*Plant systematics: a phylogenetic approach*", Sinauer, Sunderland.
- Cronquist, A. (1981) "*An integrated system of classification of flowering plants*", Columbia University Press, New York.
- Albuquerque, U.P., J.M. Monteiro, M.A. Ramos & E.L.C. Amorim (2007) *J. Ethnopharmacol.* **110**: 76-91.
- Hilgert, N.I. (2001) *J. Ethnopharmacol.* **76**: 11-34.
- Rodrigues, V.E.G. & D.A. Carvalho (2001) "*Plantas medicinais no domínio dos cerrados*", UFPA, Lavras.
- Fenner, R., A.H. Betti, L.A. Mentz & S.M.K. Rates (2006) *Rev. Bras. Ciên. Farm.* **42**: 369-94.

8. Parmar, V.S., S.C. Jain, K.S. Bisht, R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O.D. Tyagi, A.K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen & P.M. Boll (1997) *Phytochemistry* **46**: 597-673.
9. Andrade-Cetto, A. & M. Heinrich (2005) *J. Ethnopharmacol.* **99**: 325-48.
10. Falcão, H.S., I.O. Lima, V.L. Santos, H.F. Dantas, M.F.F.M. Diniz, J.M. Barbosa-Filho & L.M. Batista (2005) *Rev. Bras. Farmacogn.* **15**: 381-91.
11. Ganguly, S., S. Mula, S. Chattopadhyay & M. Chatterjee (2007) *J. Pharm. Pharmacol.* **59**: 711-8.
12. Rodrigues-Silva, D., S. Baroni, A.E. Svidzinski, C.A. Bersani-Amado & D.A.G. Cortez (2008) *J. Ethnopharmacol.* **116**: 569-73.
13. Pereira, J.D., L.C. Vieira & A. Langeloh (2004) *Acta Farm. Bonaerense* **23**: 311-4.
14. Garlet, T.M.B. & B.E. Irgang (2001) *Rev. Bras. Pl. Med.* **4**: 9-18.
15. Mengue, S.S., L.A. Mentz & E.P. Schenkel (2001) *Rev. Bras. Farmacogn.* **11**: 21-35.
16. Coelho-Silva, G.L., P. Gaertner, P.G. Marson, E.A. Schwarz & C.A.M. Santos (2004) *Acta Farm. Bonaerense* **23**: 148-53.
17. Dickel, M.L., S.M.K. Rates & M.R. Ritter (2007) *J. Ethnopharmacol.* **109**: 60-71.
18. Coelho-de-Souza, G., A.P.S. Haas, G.L. von Poser, E.E.S. Schapoval & E. Elisabetsky (2004) *J. Ethnopharmacol.* **90**: 135-43.
19. Johansen, D.A. (1940) *"Plant microtechnique"*, McGraw-Hill Book, New York.
20. Berlyn, G.P. & J.P. Miksche (1976) *"Botanical microtechnique and cytochemistry"*, Iowa State University Press, Ames.
21. Roeser, K.R. (1972) *Mikrokosmos* **61**: 33-6.
22. Kraus, J.E. & M. Arduin (1997) *"Manual básico de métodos em morfologia vegetal"*, Edur, Rio de Janeiro.
23. Sass, J.E. (1951) *"Botanical microtechnique"*, 2nd ed., Iowa State College Press, Ames.
24. Oliveira, F., G. Akisue & M.K. Akisue (1998) *"Farmacognosia"*, Atheneu, São Paulo.
25. Foster, A.S. (1949) *"Practical plant anatomy"*, 2nd ed., D. Van Nostrand, New York.
26. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1950) *"Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses"*, Clarendon, Oxford.
27. Fahn, A. (1990) *"Plant anatomy"*, 4th ed., Pergamon Press, Oxford.
28. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1988) *"Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem"*, 2nd ed., Clarendon, Oxford.
29. Mauseth, J.D. (1988) *"Plant anatomy"*, Benjamin/Cummings, Menlo Park.
30. Vianna, W.O. & G. Akisue (1997) *Lecta* **15**: 11-62.
31. Datta, P.C. & A. Dasgupta (1980) *Quart. J. Crude Drug Res.* **18**: 17-25.
32. Nascimento, M.E. & V.C.R. Potiguara (1999) *Bol. Mus. Par. Emílio Goeldi - Bot.* **15**: 39-104.
33. Pessini, G.L., A.L.M. Albiero, K.S.M. Mourão, C.V. Nakamura, B.P. Dias-Filho & D.A.G. Cortez (2003) *Acta Farm. Bonaerense* **22**: 209-16.
34. Albiero, A.L.M., L.A. Souza, K.S.M. Mourão, O.J.G. Almeida & W.A.L. Lopes (2005) *Acta Farm. Bonaerense* **24**: 550-4.
35. Albiero, A.L.M., A.A.S. Paoli, L.A. Souza & K.S.M. Mourão (2006) *Rev. Bras. Farmacogn.* **16**: 379-91.
36. Albiero, A.L.M., A.A.S. Paoli, L.A. Souza & K.S.M. Mourão (2005) *Acta Bot. Bras.* **19**: 305-12.
37. Souza, L.A., I.S. Moschetta & J.H.G. Oliveira (2004) *Gayana Bot.* **61**: 6-17.