

## Estudo de Caso: Acesso aberto

**AVALIAÇÃO DE CORANTES PARA DETERMINAÇÃO DE VENAÇÃO FOLIAR E PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE PSIDIUM MYRTOIDES (ARAÇÁ-ROXO)**Autores: Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho<sup>1,A</sup>,<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, Goiás, Brasil.**Resumo**

A espécie *Psidium myrtoides* encontrada no domínio Cerrado no Brasil apresenta escassos dados na literatura sobre o padrão de venação foliar e sobre sua prospecção fitoquímica preliminar. O trabalho visou avaliar diferentes corantes para determinação do padrão de venação e da prospecção fitoquímica do extrato hidroetanólico foliar. Foram coletadas 10 folhas sadias em 5 exemplares de *P. myrtoides*, para o experimento de identificação utilizando os seguintes corantes: azul de toluidina, fucsina, safranina e violeta de genciana. Para o segundo experimento, folhas sadias foram coletadas em duas sazonalidades, período (seco e chuvoso). Extratos foliares hidroetanólicos 70% (v/v) foram produzidos e analisados para: ácidos orgânicos, açúcares redutores e não redutores, alcaloides, flavonoides, saponinas espumílicas e hemolíticas, cumarinas, glicosídeos cardíacos, fenólicos, taninos, polissacarídeos, derivados de benzoquinonas, depsídeos e depsídonas, antraquinonas e duplas olefínicas. O uso dos corantes atípicos apresentaram excelentes resultados para distinção das estruturas morfológicas de venação, sendo boas opções para o estudo taxonômico. A análise fitoquímica apresentou resultados importantes para a maioria das classes químicas avaliadas, exceto para os compostos polissacarídeos, derivados de benzoquinonas e antraquinonas que apresentaram resultados negativos. Este estudo apresentou resultados inéditos que comporá os dados científicos sobre a sistemática vegetal para a correta classificação de *P. myrtoides* a partir da análise de venação foliar. Os corantes empregados na diferenciação de estruturas de venação poderão ser utilizados para outros estudos com esta e como novas opções para determinação de outros padrões de venação em variadas famílias botânicas. Quanto aos resultados de prospecção fitoquímica, os extratos devem ser avaliados quanto a cada composto fitoquímico e sua concentração, observando ser uma espécie vegetal rica em diversificados compostos fitoquímicos importante para a indústria farmacêutica, agrícola, de biotecnologia e alimentícia.

<sup>A</sup> Autor correspondente:Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho – E-mail: – [astronomoamadorgoias@gmail.com](mailto:astronomoamadorgoias@gmail.com)ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3443-4205>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.111> - Artigo recebido em: 13 de agosto 2020 ; aceito em 24 de outubro de 2020 ; publicado em novembro de 2020 no Brazilian Journal of Natural Sciences, ISSN: 2595-0584, Vol. 3, N.3. Online em [www.bjns.com.br](http://www.bjns.com.br). Todos os autores contribuiram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

## Informações do Artigo

### Palavras-chave:

Psidium  
Myrtaceae  
Fitoquímica

### Keyword:

Psidium  
Myrtaceae  
Phytochemistry

## Abstract

The specie *Psidium myrtoides* found in the Brazilian Cerrado Domain presents scarce data in the literature on the pattern of foliar venation and its preliminary phytochemical prospection. The objective of this work was to evaluate different dyes for determination of the venation pattern and the phytochemical prospection of the foliar hydroethanolic extract. 10 healthy leaves were collected in 5 exemplary of *P. myrtoides* for the diaphanization experiment using the following dyes: toluidine blue, fuchsin, safranin and gentian violet. For the second experiment, healthy leaves were collected in two seasonal periods (dry and rainy). 70% (v/v) hydroethanolic leaf extracts were produced and analyzed for: organic acids, reducing and non-reducing sugars, alkaloids, flavonoids, foamy and hemolytic saponins, coumarins, cardiac glycosides, phenolics, tannins, polysaccharides, benzoquinone derivatives, depsides and depsidones, anthraquinones and olefinic doublets. The use of atypical dyes presented excellent results to distinguish the venom morphological structures, being good options for the taxonomic study. Phytochemical analysis presented important results for most of the chemical classes evaluated, except for the polysaccharide, benzoquinone and anthraquinone compounds that showed negative results. This study presented results that will compose botanical scientific data for the correct classification of *P. myrtoides* from the analysis of leaf venation. The dyes used in the differentiation of venation structures may be used for other studies with this and as new options for determining other venation patterns in various botanical families. Regarding the results of phytochemical prospecting, the extracts should be evaluated for each chemical compound, observing that it is a plant species rich in diverse chemical compounds important for the pharmaceutical and food industry.

## Introdução

O araçá-roxo (*Psidium myrtoides*) é uma das 4.000 espécies que compõem a Família *Myrtaceae*, sendo uma espécie arborícola e frutífera nativa do domínio Cerrado (1). O gênero *Psidium* apresenta ampla distribuição ocorrendo desde o México até a Argentina (2). Onde apresenta também, três centros aparentes de diversificação: no Oeste das Índias Ocidentais; Sul do Brasil e Paraguai; e norte da América do Sul, incluindo o Peru, Venezuela e Guianas.

De acordo com Soares et al. (3), estudos deste táxon ainda são escassos, face ao elevado número de espécies nativas e a grande importância que representam no meio florestal e ecológico. A Família *Myrtaceae* é uma das mais complexas da flora brasileira, a esta complexidade se deve ao resultado do tamanho da família, das semelhanças morfológicas entre os diferentes gêneros e espécies, e principalmente da falta de estudos (4). Trabalhos realizados por Laudrum e Kawasaki (5), e Mc Vaugh (6), onde estudaram a morfologia dos gêneros americanos da Família *Myrtaceae*, foram de fundamental importância para caracterização dessa família nas espécies de mirtáceas no Brasil (7).

O estudo morfológico das folhas desempenha importante papel nos estudos de sistemática para a caracterização e identificação do táxon (8,9). Além disso, as folhas também são utilizadas em estudos paleobotânicos por linhas evolutivas das plantas, apresentando o melhor e mais confiável meio de identificação da espécie em estudo (10). A diafanização torna semitransparentes os tecidos biológicos para a caracterização da arquitetura foliar, onde em seguida são aplicados corantes que expressam a estrutura foliar, como a venação, contribuindo para correta identificação taxonômica (11).

Outro ponto importante são os estudos fitoquímicos para essa família botânica, onde ainda pouco se conhece sobre os fitocompostos encontrados no extrato foliar. De acordo com Bezerra et al. (12), os poucos dados giram entorno do conhecimento empírico pela medicina popular. Haja vista que, as várias espécies de *Psidium* possuem ações

terapêuticas como agente anti-inflamatório, na cicatrização, nos tratamentos da leucorréia, hemorroidas e nas desordens menstruais utilizadas pela população.

O presente estudo visa determinar através de diferentes corantes atípicos para determinação de venação foliar e avaliar por prospecção fitoquímica preliminar do extrato hidroetanólico 70% (v/v) em duas épocas do ano do araçá-roxo (*Psidium myrtoides*), visando ampliar o conhecimento taxonômico e fitoquímico desta espécie frutífera brasileira aos estudos de farmacobotânica.

## Métodos

### Diafanização

As folhas foram coletadas em 10 exemplares localizados no setor de plantas medicinais do IF Goiano, com as coordenadas 17°48'16,1"S 50°54'07.4"W. O material foi coletado na região basal e mediana dos caules. As folhas foram lavadas em água corrente. Uma exsicata foi depositada no Herbário do IF Goiano, com o Voucher HRV: 4048.

Foram utilizadas 32 folhas para a análise de venação foliar. O processo de diafanização utilizado seguiu conforme proposto por Amede et al.(13), e Shobe e Lersten (14), com modificações. Inicialmente, as folhas foram imersas em 100 mL de uma solução de álcool etílico 95% e sabão líquido na proporção (10:5) (v/v), o material foi armazenado em frasco hermético por 20 dias até remoção total o parcial dos pigmentos. Em seguida, as folhas foram lavadas em água corrente e transferidas para um frasco hermético contendo 100 mL de

uma solução de NaOH 5% (p/v) por 24 horas. Após este período, as folhas foram novamente lavadas em água destilada; em seguida foram colocadas em frasco hermético contendo 100 mL de uma solução de hipoclorito de sódio a 12% (v/v) por 12 horas, lavando novamente em água destilada.

As folhas passaram por desidratação em série etanólica crescente (30, 50, 70 e 95%) por 30 minutos para cada etapa; logo a seguir foram imersas em 100 mL de uma solução de acetato de etila e etanol (1;1) (v/v) por 2 horas. Para a diafanização diferencial, foram utilizados diferentes corantes: soluções aquosas de azul de toluidina 1% (p/v) e safranina, fucsina 1% (v/v) e violeta genciana 1% (v/v). O material foi imerso em cada corante separadamente por 30 minutos e em seguida o excesso de corante foi retirado com uma solução de álcool etílico 70% (v/v).

As folhas coradas foram imersas em solução de acetato de etila e etanol, por 24 horas armazenado em geladeira a 4 °C. Em seguida a solução foi substituída por acetato de etila ficando em geladeira a 4 °C por 12 horas. Logo em seguida, o material foi imerso em glicerol em placas de Petri. A determinação do padrão de venação foliar de rede maior, foi inicialmente realizada por escaneamento utilizando impressora Hp Photosmart C4480, para a rede menor de nervuras, foram realizadas em estereomicroscópio e em microscópio óptico com câmera acoplada. Para a classificação dos padrões de nervação utilizou-se os tipos básicos definidos por Hickey (15) e Manual Leaf Architecture (16).

## **Análise fitoquímica preliminar**

### **Preparo dos extratos hidroetanólicos 70% (v/v)**

As folhas foram coletadas em duas épocas do ano para verificação dos compostos fitoquímicos nos mesmos indivíduos vegetais. O material foi coletado sempre nas primeiras horas da manhã entre as 7 e 9 horas, e armazenadas em saco plástico de cor preta. As folhas foram inicialmente lavadas em água corrente para completa retirada de sujidades. Cerca de 100 g de material foliar fresco, foram acrescidos com 250 mL de uma solução aquosa de álcool etílico 70% (v/v) por 7 dias em frasco âmbar, armazenado em local ao abrigo da luz e calor. Logo após, o extrato foi filtrado em papel de filtro qualitativo e o sobrenadante foi armazenado em frasco âmbar e mantido em geladeira a 4 °C até análises.

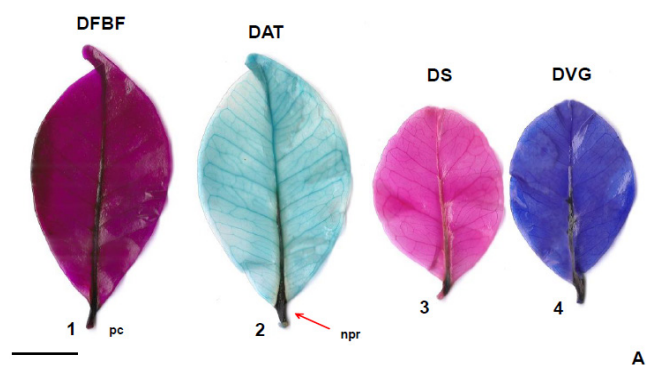
### **Análises fitoquímicas qualitativas**

Foram avaliados os seguintes compostos químicos: ácidos orgânicos, açúcares redutores e não redutores, alcaloides, flavonoides, saponinas espumídicas e hemolíticas, compostos cumarínicos, compostos glicosídicos cardiotônicos, compostos fenólicos, taninos, polissacarídeos, catequinas, benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas, depsídeos e depsidonas e antraquinonas conforme descritos por Henriques et al. (17), Barbosa et al. (18), Kloss et al. (19), Menezes Filho et al. (20), Silva et al. (21), Gomes et al. (22), Gomes et al. (23). Os

ensaios basearam-se na observação visual das modificações de cor, formação de precipitado e hemólise após a adição de reagentes específicos.

## Resultados

De acordo com Fonsêca et al. (6) e Harper e Freeling (24), as folhas são estruturas vegetais simétricas, achatadas bilateralmente, advindas de células laterais do meristema apical do caule em padrões que variam com as espécies. Na **figura 1**, estão apresentados limbos foliares corados com diferentes corantes atípicos e com safranina para *P. myrtoides*.



**Figura 1.** Limbos foliares de *P. myrtoides* no plano adaxial. **1 (A)** – DFBF Diafanização Fucsina Básica Fenólica, **2 (A)** – DAT Diafanização Azul de Toluidina, **3 (A)** – DS Diafanização Safranina e **4 (A)** – DVG Diafanização Violeta de Genciana. Escala: 1 cm. pc: pecíolo, npr: nervura primária retilínea.

Na **figura 1** estão apresentados limbos foliares simples de *P. myrtoides*, apresentando estrutura morfoanatômica anfi-hipoestomática, com apenas uma nervura primária, nítida, afinando-se em direção ao ápice, curso retilíneo, sem ramificações; uma média de 34 nervuras secundárias que originam de maneira alterna na base até o ápice; amplamente espaçadas com leve regularidade ao longo da folha. Vênulas simples e ramificadas, presença de nervura marginal coletora formada pelas terminações de nervuras terciárias, quartenárias e quindenárias; traqueídes terminais.

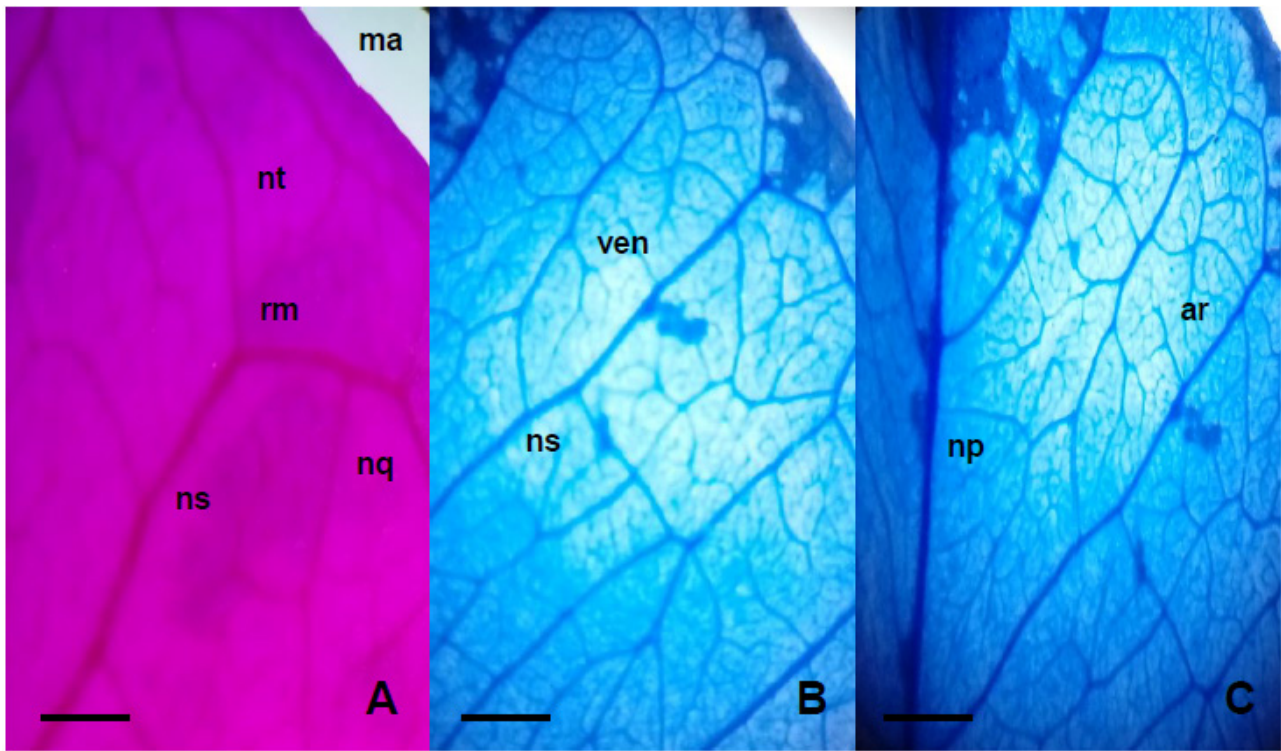
Os tricomas tectores apresentaram maior quantidade na base da nervura primária e menor quantidade na base das nervuras secundárias no plano adaxial. Já Gomes et al. (25), discutem sobre a quantidade de tricomas tectores mais abundantes na face abaxial do gênero *Psidium*.

A lâmina foliar possui aspecto convexo, pinado, base peciolar inchada próxima ao nó, glabra, base assimétrica, apresentando comprimento mediano, base cuneada em linha reta, pecíolo marginal, ápice retuso, base com margens inteiras e unilobulada. Apresenta nervura secundária do tipo camptódromo-broquidódromo. No estudo realizado por Cardoso e Sajo (26), os pesquisadores analisaram outras espécies da Família *Myrtaceae* como *Myrrhinum atropurpureum*, *P. firmum* e *Acca sellowiana* onde encontraram padrão de nervação do tipo camptódromo-broquidódromo. As nervuras secundárias apresentam tamanho uniforme em direção da base.

Ainda na **figura 1**, é possível observar que todos os quatro corantes empregados após a diafanização, apresentaram excelentes resultados. Em **1 (A)** a fucsina evidenciou bem as nervuras, primária e secundária; já em **2 (A)** o azul de toluidina é possível ver um número maior de nervuras, primária, secundária e algumas terciárias de maior diâmetro.

Na **figura 2**, estão apresentadas estruturas anatômicas da morfologia do limbo foliar corados com fucsina, azul de toluidina e violeta de genciana para *P. myrtoides*.

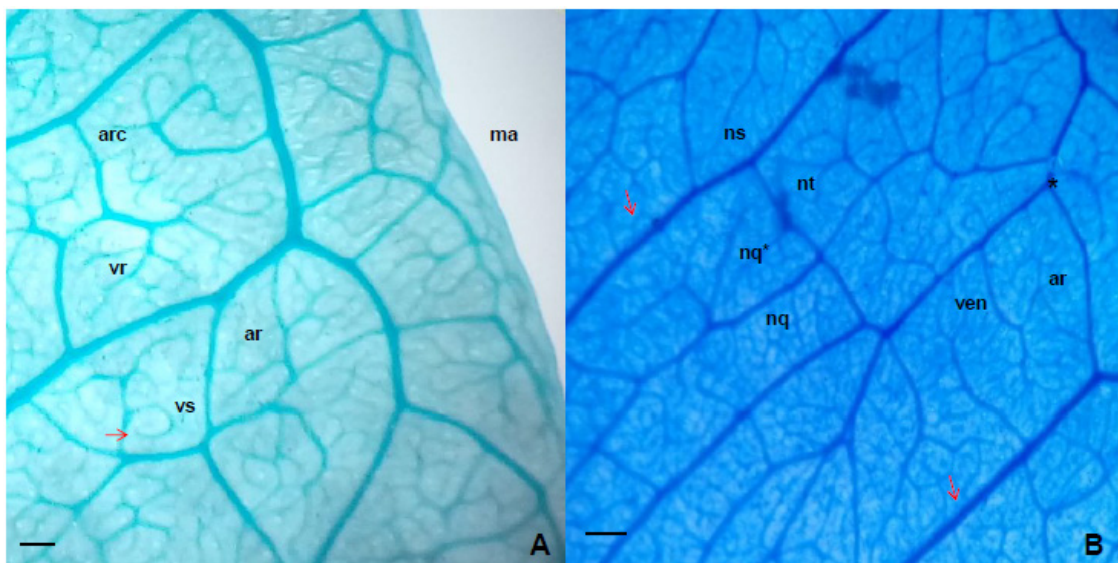
Na **figura 2**, observam-se nas estereomicrografias de limbos foliares em plano adaxial, onde é possível observar inúmeras nervações superiores apresentando ramificações (A, B e C). Na **figura 2** prancha (C), é possível verificar quanto à nervura primária com padrão pinado partindo da base ao ápice foliar. Trabalho realizado por Lima et al. (27), onde analisaram a arquitetura foliar da Família



**Figura 2.** Estereomicrografias 2 (A) – Limbo foliar adaxial corado com fucsina básica fenólica; 2 (B) – Limbo foliar adaxial corado com azul de toluidina e 2 (C) – Limbo foliar adaxial corado com violeta de genciana (*P. myrtilodes*). Escala A = 20  $\mu$ m, B = 15  $\mu$ m e C = 10  $\mu$ m. np: nervura principal, ns: nervura secundária, nt: nervura terciária, nq: nervura quaternária, rm: ramificação, ven: vênula, ar: aréola e ma: margem foliar.

*Rubiaceae*, encontraram padrões equiparados ao deste estudo para a Família *Myrtaceae*.

Na **figura 3**, estão apresentadas as estruturas anatômicas dos limbos foliares face adaxial corado com azul de toluidina em (A), e violeta de genciana e em (B).

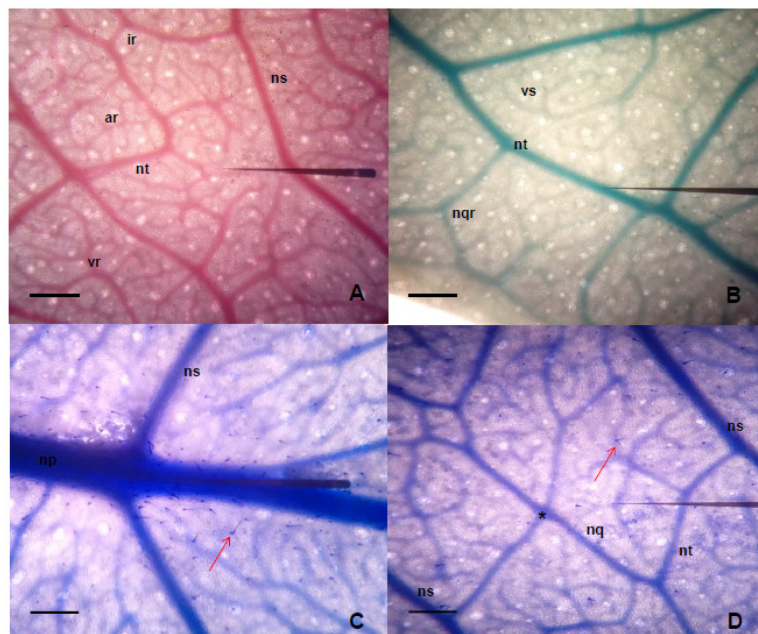


**Figura 3.** Estereomicrografias 3 (A) – Limbo foliar adaxial corado com azul de toluidina e 3 (B) – corado com violeta de genciana. Escala: A = 30  $\mu$ m e B = 20  $\mu$ m. arc: arco, vr: vênula ramificada, vs: vênula simples, ar: aréola, ma: margem foliar, nt: nervura terciária, nq: nervura quaternária, nq\*: nervura quintenária, ven: vênula, asterisco: interligação entre nervuras e seta traqueides terminais.

Na **figura 3** prancha (A), empregando safranina usualmente utilizada, é possível observar um número superior de nervuras e vênulas simples e ramificadas e em (A) onde foi aplicado violeta de genciana pode-se notar uma coloração mais intensa que evidenciou bem todas as nervuras, aréolas e vênulas simples e ramificadas. Portanto os corantes atípicos, azul de toluidina, fucsina e violeta de genciana demonstraram serem ótimos corantes equiparáveis a safranina para determinação da venação foliar. Na **figura 3** pranchas (A e B), observam-se o padrão de nervação terciária em reticulado aleatório, com curso ramificado, moderadamente desenvolvido e fortemente impresso. A nervura quaternária é do tipo dicotômico. Na Figura 3 prancha (A), a venação de fim de margem da lâmina foliar é do tipo loops incompletos e sem dentes; aréolas

moderadamente bem desenvolvidas formando entre 3 a 4 lados; vênulas ramificadas com 1 a 3 ramificações; e nas vênulas simples e ramificadas com traqueides terminais. Na Figura 3 prancha (B), a nervura secundária apresenta diâmetro médio, seguido de diâmetro menor para nervura terciária, quaternária e quinquenária; interligação entre nervuras terciária e quaternária; vênulas terminais livres formando entre 1 a 6 ramos. Padrões próximos ao deste estudo foram observados por Lima et al. (27), para a Família *Rubiaceae* (*B. spinosa*, *B. verticillata*, *C. rigida*, *H. apiculatum*, *E. depauperata* e *M. salzmannianus*).

Na **figura 4**, estão apresentados os limbos foliares face adaxial corado com safranina em (A), azul de toluidina em (B), violeta de genciana em (C e D), demonstrando as estruturas de venação foliar e tricomas tectores.



**Figura 4.** Micrografias 4 (A) – Limbo foliar adaxial corado com safranina; 4 (B) – corado com azul de toluidina; 4 (C e D) – corado com violeta de genciana (*P. myrtooides*). Escala: A = 40 µm, B = 50 µm, C = 200 µm, D = 45 µm. ir: interseção ramificada, ar: aréola, nt: nervura terciária, vr: vênula ramificada, ns: nervura secundária, nqr: nervura quaternária ramificada, np: nervura principal, asterisco: interligação entre nervuras, cabeça de seta (preta) (A) traqueides terminais, ponta de seta (preta) (B) calibre nervura terciária entre ramificações, cabeça de seta (preta) (C) calibre nervura primária, (D) ponta de seta (preta) ramificação de vênula ramificada e seta (vermelha) tricoma tector (mono) (C e D) .

Na **figura 4** pranchas (**A e D**), é possível verificar nervuras quaternárias dicotômicas; na Figura 4A aréolas moderadamente desenvolvidas apresentando FEVs com 2 ou mais ramificações; nervuras terciárias reticuladas aleatoriamente, sinuosas e com ramificações. As pontuações brancas na Figura 4 pranchas (**A, B, C e D**), pertencem a estruturas secretoras, cuja morfologia apresenta secção circular ou piriforme, com dimensões superiores as do parênquima paliçádico, as células centrais apresentam mais claras. Estas estruturas também foram observadas por Sabert et al. (7), para *C. guaviroba* na face adaxial.

O mesmo também foi observado por Donato et al. (28), na face adaxial foliar em *E. brasiliensis*. Estas estruturas estão presentes no parênquima paliçádico apresentando cavidades secretoras adjacentes à epiderme, estas estruturas também são observadas em alguns casos na face abaxial foliar do mesófilo (28).

Tricomas tectores unicelular foram observados em maior quantidade na face adaxial na área da nervação primária e em menor quantidade na nervação secundária Figura 4 prancha (C). Já Martins et al. (29), avaliaram a lâmina foliar de *O. gratissimum* onde encontraram número superior de tricomas na área superficial da face adaxial em plantas mantidas em pleno sol. De acordo com Larcher (30), a densa quantidade de tricomas na superfície foliar possui importante característica agindo como filtro capaz de alterar a radiação de luz direta, aumentando a reflexão, agindo como agente minimizador dos efeitos da radiação intensa nos tecido fotossintetizador.

Na **tabela 1**, estão apresentados os resultados da prospecção fitoquímica realizada nos extratos foliares hidroetanólicos 70% em duas sazonalidades de *P. myrtooides*.

fitoquímicos em *P. myrtooides*. Os ácidos orgânicos foram positivos nas duas amostras; os açúcares redutores foram observados apenas na amostra 1, já os açúcares não redutores na amostra 2. Os alcaloides e flavonoides também foram positivos em ambas as amostras. Resultados similares foram obtidos por León et al. (31), onde analisaram dois processos de extração para extratos foliares clorofórmicos de *C. uniflora*, encontrando a classe de flavonoides. Os flavonoides possuem ação anti-inflamatória, apresentando uma nova fonte para o desenvolvimento de novos fármacos Orsi et al. (32). Saponinas espumídicas não foram observadas em nenhum dos extratos avaliados.

Já a presença de saponina hemolítica foi observada em ambas as amostras; as cumarinas também estão presentes nos extratos avaliados. O mesmo foi observado por León et al. (31), nos extratos foliares clorofórmicos de *C. uniflora*. As cumarinas apresentam importantes ações como anticoagulante, vasodilatadora e em analgesia local Cassini (33). Os glicosídicos cardíacos foram observados nas duas amostras de extrato foliar, compostos fenólicos também foram observados; Os compostos tanínicos apresentaram reação com coloração azul identificando a presença de taninos hidrolisáveis. Os taninos são amplamente empregados na terapêutica natural devido a sua ação antioxidante, hipocolesterolêmica e



**Tabela 1.** Prospecção fitoquímica preliminar para o extrato foliar hidroalcoólico (70%) (v/v) de (*Psidium myrtooides*) em dois períodos de coleta (1/semestre) meses de (jan. fev., mar. Abr.) e (2/ semestre) meses (ago., set., out., nov.).

Análises	Resultados	
	1/ semestre	2/ semestre
Ácidos orgânicos	+	+
<b>Açúcares Redutores</b>	+	-
<b>Açúcares não redutores</b>	-	+
<b>Alcaloides</b>		
Reativo de Mayer	+	-
Reativo de Wagner	+	-
Reativo de Libermann-Burchard	+	+
<b>Flavonoides</b>	+	+
<b>Saponinas espumídicas</b>	-	-
<b>Saponinas hemolíticas</b>	+	+
<b>Cumarinas</b>	+	+
<b>Glicosídeos Cardíacos</b>		
Reativo de Kedde	+	+
Reativo de Keller-Killiani	-	+
Reativo de Baljet	+	+
Reativo de Raymond-Marthoud	+	+
<b>Fenólicos</b>	+	+
<b>Taninos</b>	AZ +	AZ +
<b>Polissacarídeos</b>	-	-
<b>Catequinas</b>	-	-
<b>Benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas</b>	-	-
<b>Depsídeos e depsidonas</b>	+	-
<b>Antraquinonas</b>	-	-
<b>Duplas olefínicas</b>	+	+

(+) positivo (-) negativo), AZ + = (Azul) positivo para Taninos hidrolisáveis.

Na **tabela 1**, observam-se os resultados obtidos em diferentes épocas do ano para os compostos antitumoral Menezes Filho et al. (20), Tian (34). Os compostos polissacarídeos e derivados de benzoquinonas não foram detectados em nenhuma das amostras. Estes compostos apresentam ação expectorante, na produção de medicamentos anticonvulsivante e para tratamento de leishmaniose (20,35,36). Os compostos depsídicos e depsidonas foi positivo apenas na amostra 1. Estes compostos possuem ação analgésica, antipirética e como agente antioxidante (37). Antraquinonas não foram observadas em nenhum dos extratos,

já as duplas olefínicas foram observadas nos dois extratos analisados.

## Referências

1. Gomes CC, Moura TM. Estrutura genética em populações de plantas do Cerrado. Rev Agrotec. 2010;1:33-51.
2. Soares-Silva LH, Proença CEB. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. Bot J Linn Soc. 2008;158:51-4.
3. Soares ID, Nogueira AC, Grabias J, Kuniyoshi YS. Caracterização morfológica de fruto, semente e plântula de *Psidium rufum* DC. (Myrtaceae). Iheringia. 2017;72(2):221-7.
4. Souza VC, Lorenzi H. Botânica Sistemática – Guia ilustrado para a identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. Nova Odessa: Plantarum; 2008.
5. Landrum LR, Kawasaki ML. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. Brittonia. 1997;49(4):508-36.
6. McVaugh R. The genera of American Myrtaceae. Taxon. 1968;17(4):354-418.
7. Saibert PCS, Romagnolo MB, Albiero ALM. Comparação morfológica de folhas de *Campomanesia xanthorcapa* O. Berg e *Campomanesia guaviroba* (DC.) Kiaersk. (Myrtaceae) como contribuição a farmacognosia. Vis Acad. 2018;19(3):5-27.
8. Fonsêca LCM, Proença CEB, Gonçalves EG. Descrição do padrão de venação em *Spathicarpa* Hook. Acta Bot Bras. 2007;21(1):213-21.
10. Hickey LJ, Taylor DW. The leaf Architecture of *Ticodendron* and the Application of foliar characters in discerning its relationships. Annals of the Miss Bot Gard. 1991;78:105-30.
11. Kraus JE, Arduin M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Rio de Janeiro: EDUR; 1997.
12. Bezerra JEF, Lederman IE, Silva Juniuor JF, Proença CEB. Araçá. In: Vieira RF, Costa TSA, Silva DB, Ferreira FR, Sano SM. (Editores). Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2006.
13. Amede SC, Graciano-ribeiro A, Rezende MH, Faria MT. Morfo-anatomia e histoquímica foliar de *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem) (Meliaceae), cultivadas em Goiás. Rev Elet Edu Facul Ara. 2015;7:65-89.
14. Shobe WR, Lersten NR. A techniques for clearing and staining Gymnosperm leaves. Bot Gazette. 1967;128(2):150-2.
15. Hickey LJ. A revised Classification of the Architecture of dicotyledonous leaves. In: Metcalfe CR, Chalk L. (Ed.). Anatomy of the dicotyledons, v. 1, 2<sup>nd</sup>, Ed. Oxford: Clarendon Press; 1979.
16. LEAF OF ARCHITETURE WORKING GROUP. Manual of leaf Architecture-morphological description and categorization of dicotyledonous and net veined monocotyledonous angiosperms; 2009.
17. Henriques SVC, Almeida SSMS. Identificação do caráter medicinal da espécie *Curatela americana* por meio das folhas. Est Cient. 2013;3(2):89-97.
18. Barbosa WLR, Quignard E, Tavares ICC, Pinto LN, Oliveira FQ, Oliveira RM. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. UFPA-PA. Rev Cient, 2004;4:1-19.
19. Kloss LC, Albino AM, Souza RG, LIMA RA. Identificação de classes de metabólitos

- secundários do extrato etanólico de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae). SOUT AMER J Basic Educ, Tec Techn. 2016;3(2):118-28.
20. Menezes Filho ACP, Castro CFS. Prospecção fitoquímica preliminar dos frutos do jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) e murici-bravo (*Byrsonima coccolobifolia* Kunth). Glob Sci Techn. 2018;11(3):241-55.
21. Silva NLA, Miranda FAA, Conceição GM. Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental municipal de Inhamum, Caxias, Maranhão. Rev Sci Plen. 2010;6(2):1-17.
22. Gomes NM, Martins RL, Almeida SSMS. Análise preliminar fitoquímica do extrato bruto das folhas de *Nephrolepis pectinata*. Est Cien. 2017;7(1):77-85.
23. Gomes EMC, Pena RCM, Almeida SSMS. Composição fitoquímica e ação fungicida de extratos brutos de *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Quambalaria eucalypti*. Bio Ama. 2016;6(4):54-8.
24. Harper L, Freeling M. Studies on early leaf development. Current Opinion in Biotechnology. 1996;7:139-44.
25. Gomes SM, Somavilla NSD, Gomes-Bezerra KM, Miranda SC, De-Carvalho OS, Graciano-Ribeiro D. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuição à taxonomia e filogenia. Acta Bot Bras. 2009;23:223-38.
26. Cardoso CMV, Sajo MG. Nervação foliar em espécies brasileiras de Myrtaceae Adans. Acta Bot Bras. 2006;20(3):657-69.
27. Lima MPS, Soares A, Sousa JLR, Carvalho MS, Porto JMP, Braga FT. Leaf Architecture of Rubiaceae Juss. From caatinga vegetation in Brazil. Biota Neo. 2019;19(1):e20170473.
28. Donato AM, Morretes BL. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. Braz J Pharmac. 2007;17(3):426-43.
29. Martins JR, Alvarenga AA, Castro EM, Silva APO, Alves E. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. Ciên Rural. 2009;39(1):82-7.
30. Larcher W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: RiMA Artes e Textos, 2004.
31. León JAM, Fuentes DP, Rodríguez ET, Espinosa RH, García AF, Armas MS. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de los extractos clorofórmicos de las hojas de *Cassia uniflora* Mill. Rev Cub Plan Medi. 2018;23(1).
32. Orsi PP, Seito LN, Di Stasi LC. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal antiinflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. J Ethno. 2014;151:380-385.
33. Cassini J. Utilização de enzimas para a obtenção de óleos essenciais e cumarinas da casca de *Citrus latifolia* Tanaka. 2010. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia), Universidade de Caxias do Sul, RS, f. 60.
34. Tian Y, Zou B, Li C-M, Yang J, Xu S-F, Hagerman AE. High molecular weight persimmon tannin is a potente antioxidant both *ex vivo* and *in vivo*. F Res Inter. 2012;45(1):26-30.
35. Micheletti AC, Beatriz A. Progressos recentes na pesquisa de compostos orgânicos com potencial atividade leishmanicida. Rev Virt Quím. 2012;4(3):268-286.
36. Barroso ICE, Oliveira F. Caracterização farmacognóstica dos frutos de *Cordia sellowiana* Cham. e de *Cordia myxa* L. (Boraginaceae Jussieu). Rev Bras Farmac. 2009;19(2A):458-70.
37. Chomcheon P, Wiyakrytta S, Sriubolmas N,

Ngamrojanavanich N, Kengtong S, Mahidol C, Ruchirawat S, Kittakoop P. Aromatase inhibitory, radical scavening and antioxidant activities of depsidones and diaryl ethers from the endophytic fungus *Corynespora cassiicola* L36. Phyt. 2009;70:407-13.