

## QUIMIOTAXONOMIA DA SUPERORDEM ZINGIBERIFLORAE (SENSU DAHLGREN) I. FLAVONÓIDES COMO MARCADORES QUIMIOSSISTEMÁTICOS<sup>1</sup>

Helena Regina Lima Pugialli<sup>2</sup>

Maria Auxiliadora C. Kaplan<sup>3</sup>

Otto R. Gottlieb<sup>4</sup>

Recebido em 16-09-91. Aceito em 10-11-93.

**RESUMO** - (Quimiotaxonomia da superordem Zingiberiflorae [sensu Dahlgren] I. Flavonóides como marcadores quimiosistemáticos). A análise das características flavonóidicas da ordem Zingiberales (superordem Zingiberiflorae, Monocotyledonae) reforçou a separação das suas famílias em dois grupos: grupo I (Strelitziaceae, Heliconiaceae, Musaceae e Lowiaceae) e grupo II (Zingiberaceae, Costaceae, Marantaceae e Cannaceae). Baseado nos dados químicos e morfológicos sugeriu-se um esquema que caracteriza os diferentes estádios de avanço evolutivo dessas famílias.

Palavras-chave: Monocotyledonae, Zingiberiflorae, quimiotaxonomia, micromoléculas.

**ABSTRACT** - (Chemotaxonomy of superorder Zingiberiflorae [sensu Dahlgren] I. Flavonoids). The analysis of flavonoids in the order Zingiberales (superorder Zingiberiflorae, Monocotyledonae) reinforced the separation of its families into two groups: group I (Strelitziaceae, Heliconiaceae, Musaceae and Lowiaceae) and group II (Zingiberaceae, Costaceae, Marantaceae and Cannaceae).

Chemical and morphological data suggested the relative stages of evolutionary advancement of these families.

Key-words: Monocotyledonae, Zingiberiflorae, Chemotaxonomy, micromolecules.

### Introdução

A investigação de grupos de substâncias químicas que apresentam significado como marcadores taxonômicos tem trazido resultados valiosos com respeito à classificação das

1 - Parte da Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor ao Departamento de Botânica do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), auxílio do CNPq.

2 - Jardim Botânico do Rio de Janeiro, R. Jardim Botânico 1008, 22.460, Rio de Janeiro, RJ.

3 - Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, 21211-941, Rio de Janeiro, RJ.

4 - Instituto de Química, USP, 05.508, São Paulo, SP.

plantas (Kaplan e Gottlieb, 1982) e as considerações sobre evolução de determinados táxons (Gottlieb, 1989).

Os últimos quinze anos testemunharam no Brasil, a demonstração dos princípios básicos e o desenvolvimento de metodologia que permitem utilizar dados moleculares em classificação botânica (Gottlieb, 1982). A busca de correlações entre evolução de estruturas micromoleculares e evolução morfológica de plantas, cada vez mais se mostra como uma promissora linha de pesquisa (Gottlieb, 1990).

É proposta do presente trabalho analisar as relações de afinidade das famílias dentro da superordem Zingiberiflorae (sensu Dahlgren) através de um estudo comparativo de dados químicos e morfológicos.

## Material e métodos

Nessa área de estudo fez-se necessário um levantamento completo de dados químicos no Chemical Abstracts (1907-1989) com posterior consulta as obras e revistas especializadas. Em seguida foram estabelecidos o perfil químico e os prováveis marcadores quimiotaxonômicos para os dois grupos das famílias de Zingiberiflorae em questão. Os flavonóides, terpenóides e diarileptanóides foram considerados bons marcadores taxonômicos. Nesse primeiro trabalho somente os flavonóides serão utilizados, dado a sua grande variedade estrutural e ampla distribuição na superordem. O tabelamento dessas substâncias e o cálculo do grau de proteção das hidroxilas flavonoídicas foram os passos seguintes (\*).

### Quantificação do Grau de Proteção das Hidroxilas Flavonoídicas.

A proteção de hidroxilas fenólicas de metabolitos secundários, ocorre com um certo destaque em alguns grupos vegetais. Esse tipo de proteção desativa tais hidroxilas através de reações de acetilação com açúcares (glicosilação) ou de eterificação por reação com 5-adenosilmetionina (metilação). A quantificação dessa proteção depende da determinação dos índices de glicosilação, de metilação e de proteção total (glicosilação + metilação) e de desproteção (Barreiros, 1990).

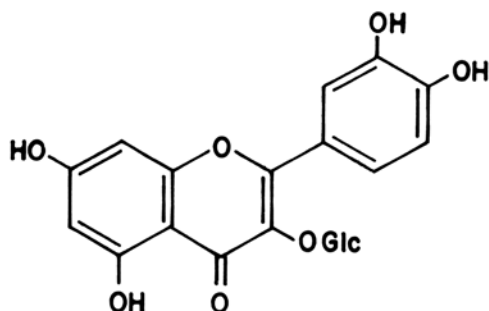
#### a) Cálculo do Índice de Glicosilação (IG)

Esse parâmetro numérico pode ser determinado através da relação entre o número de grupos O-glicosilado e o número total de oxigrupos presentes no esqueleto flavonoídico.

$$IG = \frac{\text{nº de grupos O-glicosilados}}{\text{nº total de oxigrupos.}}$$

(\*) - Os dados de flavonóides utilizados para o cálculo dos índices de glicosilação, metilação, proteção total e desproteção constam do trabalho de Dissertação de Mestrado de Pugialli (1991).

Exemplo:



$$IG = \frac{1}{5} + 0,20$$

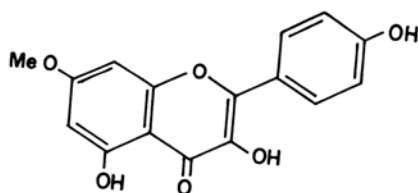
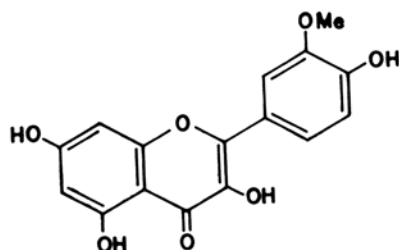
## b) Cálculo do Índice de Metilação (IM)

Esse parâmetro numérico pode ser determinado através da relação entre o número de grupos O-metilados e o número total de oxigrupos presentes no esqueleto flavonóidico.

$$IM = \frac{\text{n}^\circ \text{ de grupos O-Me}}{\text{n}^\circ \text{ total de oxigrupos}}$$

Exemplo:

$$IM = \frac{1}{5} + 0,20$$



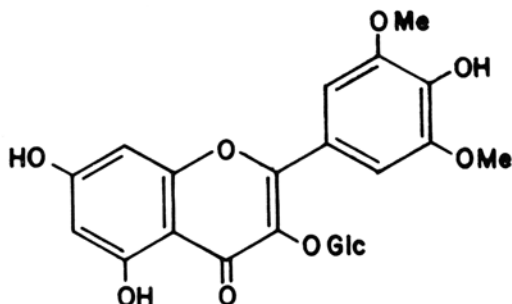
## c) Cálculo do Índice de Proteção Total (IP)

Esse parâmetro numérico pode ser determinado através da relação entre a proteção total (O-glicosilação + O-metilação) e o número total de oxigrupos presentes no esqueleto flavonóidico.

$$IP = \frac{\text{n}^\circ \text{ de grupos O-Gli} + \text{n}^\circ \text{ de grupos O-Me}}{\text{n}^\circ \text{ total de oxigrupos}}$$

Exemplo:

$$IP = \frac{3}{6} + 0,50$$



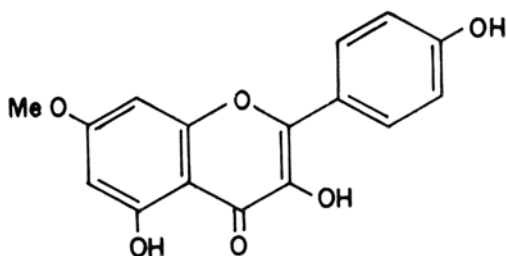
## d) Cálculo do Índice de Desproteção

Um parâmetro numérico baseado na quantificação do número de hidroxilas livres (índice de desproteção) foi usado para avaliar o grau de primitividade.

$$ID = \frac{\text{n}^\circ \text{ de grupos de OH livres}}{\text{n}^\circ \text{ total de oxigrupos}}$$

Exemplo:

$$ID = \frac{3}{4} + 0,75$$



Determinação dos Parâmetros de Avanço Evolutivo referentes à Glicosilação, Metilação, Proteção Total e Desproteção.

Esses parâmetros podem ser determinados através do cálculo das médias ponderadas dos índices de avanço das substâncias que ocorrem em um determinado táxon, segundo as seguintes expressões matemáticas:

$$AE_g = \frac{(IG_1 \cdot a) + (IG_2 \cdot b) + (IG_3 \cdot c) + \dots + (IG_n \cdot n)}{a + b + c + \dots + n}$$

$$AE_m = \frac{(IM_1 \cdot a) + (IM_2 \cdot b) + (IM_3 \cdot c) + \dots + (IM_n \cdot n)}{a + b + c + \dots + n}$$

$$AE_p = \frac{(IP_1 \cdot a) + (IP_2 \cdot b) + (IP_3 \cdot c) + \dots + (IP_n \cdot n)}{a + b + c + \dots + n}$$

$$AE_d = \frac{(ID_1 \cdot a) + (ID_2 \cdot b) + (ID_3 \cdot c) + \dots + (ID_n \cdot n)}{a + b + c + \dots + n}$$

onde:

IG = índice de glicosilação.

IM = índice de metilação.

IP = índice de proteção total.

AEG = parâmetro de avanço evolutivo referente à glicosilação.

AEM = parâmetro de avanço evolutivo referente à metilação.

AEM = parâmetro de avanço evolutivo referente à proteção total (glicosilação + metilação).

a, b, c, ..., n = número de ocorrências de substâncias com um determinado índice, por espécie.

## Resultados e discussão

### Histórico dos sistemas de classificação.

Na ordem Zingiberales foram destacados vários sistemas de classificação ao longo do tempo, resultado de um estudo inicialmente muito superficial e também pela grande similaridade entre os espécimens das oito famílias. Apesar dos autores se apoiarem em características variadas e mesmo distintas, é notável o fato de determinados grupos de famílias serem mantidos próximos.

Endlicher (1837) referiu-se à classe Scitaminae como sendo formada por três famílias

Zingiberaceae, Cannaceae e Musaceae. Bentham e Hooker (1883) elevaram ao nível de família Scitaminae e determinaram quatro tribos : Zingibereae, Maranteae, Canneae e Museae. A partir de Peterson (1889) ficou caracterizado o nível de ordem para Scitaminae, formada pelas famílias Zingiberaceae, Marantaceae, Cannaceae e Musaceae. Nakai (1941) referiu-se à ordem Amomales, sendo constituída por oito famílias. Pela primeira vez, as subfamílias Costoideae e Strelitzioideae e a tribo Heliconieae foram elevadas ao nível de família. A divisão em oito famílias foi mantida por Cronquist (1968) e Takhtajan (1969). Para Dahlgren (1980), que tratou com ênfase os caracteres químicos, Zingiberales aparece separada como uma única ordem, da superordem Zingiberiflorae. O autor separou os oito famílias, baseado em dados morfológicos e químicos, em dois grandes grupos que inclui: I - Strelitziaceae, Heliconiaceae, Musaceae e Lowiaceae; II - Zingiberaceae, Costaceae, Marantaceae e Cannaceae. Thorne (1976, 1983) nos seus sistemas de classificação denominou a superordem de Commeliniflorae, reunindo várias ordens, uma delas Zingiberales, que contém cinco famílias Zingiberaceae, Marantaceae, Cannaceae, Musaceae e Lowiaceae.

#### Posicionamento das famílias dentro de Zingiberiflorae

A superordem Zingiberiflorae formada por uma única ordem Zingiberales, com suas oito famílias, Strelitziaceae, Musaceae, Heliconiaceae, Lowiaceae, Zingiberaceae, Costaceae, Cannaceae e Marantaceae, engloba 87 gêneros e aproximadamente 1800 espécies, principalmente de distribuição tropical.

Com referência aos dados de morfologia floral para a ordem Zingiberales, Tomlinson (1961) considerou que a evolução ocorreu por perda ou diminuição das partes e o aumento na diversidade dos órgãos.

Os gêneros *Ravenala*, *Phenakospermum* e *Strelitzia* são os que reúnem um número maior de caracteres primitivos da superordem e pertencem a família Strelitziaceae. Tais gêneros foram referidos pelo autor, como intermediários das plantas vivas e do ancestral que envolve a ordem. Ele também se referiu a um possível ancestral do grupo, como tendo um hábito vegetativo de *Phenakospermum* e a inflorescência de *Ravenala*. O conhecimento dos caracteres anatômicos mostra que Strelitziaceae, reúne um conjunto de variações distribuídas por todas as outras famílias da ordem Zingiberales, tais como células epidérmicas com paredes sinuosas em *Phenakospermum*, enquanto que em *Ravenala* e *Strelitzia* são retas; aglomerados de sílica nas células adjacentes aos feixes vasculares, que podem apresentar paredes espessas com corpos esféricos ou paredes finas com corpos semelhantes à drusas; e a ausência de elementos secretores especializados. O fato dessa família reter o maior número de caracteres primitivos não significa que todos os seus caracteres anatômicos sejam primitivos. Em 1961, o autor conferiu um valor filogenético à simetria das células estomáticas, porém, mais tarde (1974), ele esclareceu que não há grupos com tipos específicos de desenvolvimento de estômatos nas famílias das monocotiledôneas e considerou prematuro determinar o grau de significado filogenético. Diante desses dados, Tomlinson ignorou a possibilidade da família Strelitziaceae ser o

ponto de partida numa seqüência linear. Ele acreditou na história evolutiva independente de cada uma das famílias, a partir de um ancestral pró-scitamínico, eliminando assim a possibilidade de uma origem polifilética. Em cada família os caracteres apresentam diferentes estádios de avanço, dependendo da velocidade da sua evolução. O autor sugeriu uma disposição tridimensional, em que as famílias são separadas por distâncias variadas a partir de um ancestral comum (Figura 1).

A análise dos flavonóides (Tabelas 1 e 2) permitiu a elaboração de um esquema (Figura 2) que mostra uma provável relação entre as famílias de Zingiberiflorae. Esse esquema está de acordo com a proposta de Tomlinson de evolução independente de cada uma das famílias partindo de um ancestral pró-scitamínico, e evidencia as distâncias entre os táxons variando em função do somatório dos caracteres morfológicos e químicos (Tabelas 3 e 4). A inclusão dos parâmetros de avanço evolutivo referentes à glicosilação, metilação, proteção total e desproteção, permitiu colocar Zingiberaceae numa linha evolutiva mais avançada. As substâncias encontradas nas famílias Strelitziaceae, Heliconiaceae e Cannaceae apresentaram um índice de desproteção elevado (Figuras 6, 7 e 8). Se esses resultados fossem analisados isoladamente, seriam suficientes para caracterizar a primitividade das três famílias por igual. Tendo em vista, que os dados químicos são escassos e aliado ao fato, dos dados morfológicos mostrarem diferenças marcantes, seria precipitado considerar o assunto concluído para esses táxons. Observa-se nas famílias Musaceae e Marantaceae, pertencentes segundo Dahlgren a dois grupos distintos, índices semelhantes e com mecanismo de glicosilação e metilação sendo utilizados concomitantemente como proteção às hidroxilas fenólicas (Figura 3). Provavelmente, em cada uma dessas famílias dos dois grupos, está ocorrendo uma substituição gradual da glicosilação por metilação. Na família Costaceae a proteção das hidroxilas fenólicas de seus flavonóides se deu exclusivamente por glicosilação (Figura 4). Ao contrário, em Zingiberaceae observou-se a tendência à metilação como um mecanismo mais evoluído (Harborne et al. 1975) de proteção total (Figuras 3 e 5).

## Conclusão

A determinação dos parâmetros de avanço evolutivo referentes à glicosilação, metilação, proteção total e desproteção determinou a localização de Strelitziaceae num nível mais baixo em relação aos outros táxons da ordem, dando subsídio a morfologia e reforçando o caráter primitivo da família.

A tendência da família Zingiberaceae de utilizar a metilação como um mecanismo de proteção às hidroxilas fenólicas, determinou a sua posição em um nível mais elevado.

A análise dos tipos estruturais flavonóidicos reforçou a separação das famílias em dois grupos. As famílias do grupo I produzem flavonóis com substituição do anel B, somente em 4 e 3'4'. As famílias do grupo II apresentaram maior variedade estrutural como em Zingiberaceae, que produziu flavona, flavonol, diidroflavona e diidroflavonol. Costaceae e Marantaceae caracterizaram-se por produzir flavonol C- e O-glicosilados.

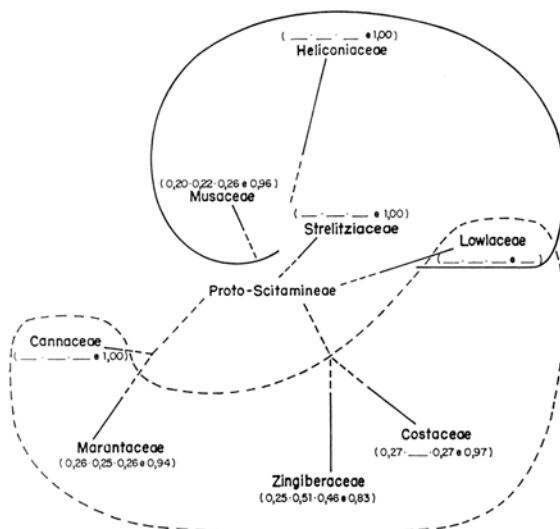


Figura 1 - Diagrama de Tomlinson (1961) adaptado, com a inclusão dos parâmetros de avanço evolutivo referentes à glicosilação, metilação, proteção total e desproteção ( $AE_G$ ;  $AE_M$ ;  $AE_P$  e  $AE_D$ ) das famílias de Zingiberiflorae (1991).

Tabela 1 - Grupos biogenéticos importantes na superordem Zingiberiflorae.

	FLA	TER	ALC	DIA	QUI	ARI
Strelitziaceae	+	+				
Heliconiaceae	+		(+)			
Musaceae	+	++	++			
Lowiaceae						
Zingiberaceae	+++	+++	(+)	+	+	+
Costaceae	++	++	(+)			
Marantaceae	++		(+)			
Cannaceae	+					

+ - Poucas informações para as famílias.

(+) - Registro dúbio, devido a presença de testes gerais para a classe química.

++ - Número médio de informações para as famílias.

+++ - Número maior de informações sobre a família Zingiberaceae.

FLA = flavonóide, TER = terpenóide, ALC = alcalóide, DIA = diaril-eptanóide, QUI = quinóide, ARI = arilalcanóide.



Tabela 2 - Tipos estruturais flavonoídicos.

	Substituição no anel B										
	f	F	h	H	—	4'	3'4'	3'4'5'	OGL	CGL	OMe
Strelitziaceae		+				+	+				
Heliconiaceae		+				+	+				
Musaceae		+				+	+				
Lowiaceae											
Zingiberaceae	+	+	+	+	+	+	+	+			+
Costaceae	+	+				+	+			+	
Marantaceae	+	+				+	+	+	+	+	
Cannaceae		+					+				

f = flavona, F = flavonol, h = diidroflavona, H = diidroflavonol, OGL = O - glicosilado, CGL = C - glicosilado, OMe = O-metilado.

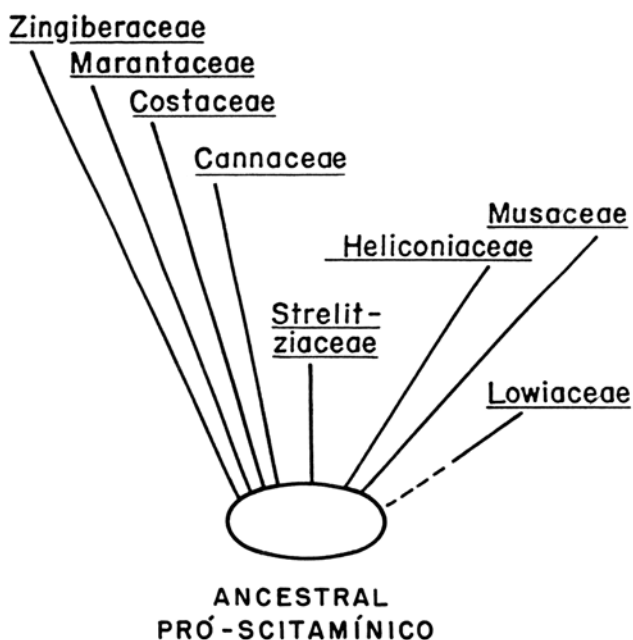


Figura 2 - Provável relação entre as famílias de Zingiberiflorae Pucilli (1991).

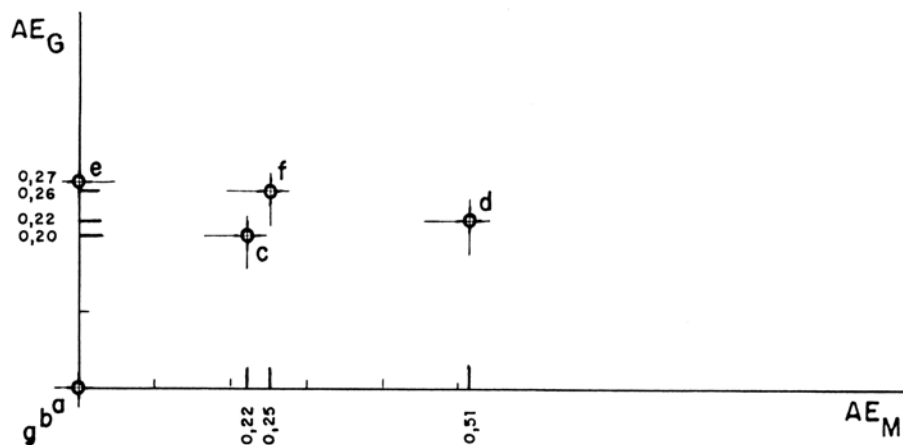


Figura 3 - Correlação dos parâmetros  $AE_G/AE_M$  para as famílias de Zingiberiflorae. a = Strelitziaceae, b = Heliconiaceae, c = Musaceae, d = Zingiberaceae, e = Costaceae, f = Marantaceae, g = Cannaceae.

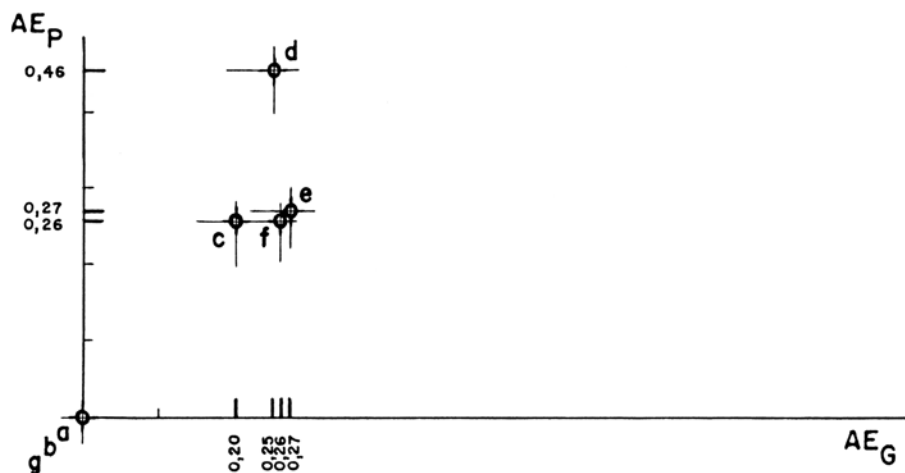


Figura 4 - Correlação dos parâmetros  $AE_P/AE_G$  para as famílias de Zingiberiflorae. a = Strelitziaceae, b = Heliconiaceae, c = Musaceae, d = Zingiberaceae, e = Costaceae, f = Marantaceae, g = Cannaceae.

Tabela 3 - Progressão morfológica.

	Caracteres Primitivos.	Caracteres Derivados
Hábito:	arborescente	herbáceo
Filotaxia:	espiral      dística	dística
Flor:	actinomórfica	zigomórfica
Inflorescência:	frouxa, muitos ramos axilares, muitas flores simétricas e poucos tipos de órgãos.	congesta, poucas flores assimétricas, diferentes tipos de órgãos.
Estames:	aumento em número.	redução em número
Óvário:	trilocular, muitos óvulos.	redução de lóculos e óvulos
Fruto:	cápsula	baga
Semente:	arilo (+).	arilo (-)

Tabela 4 - Progressão micromolecular.

Caracteres Primitivos	Caracteres Derivados
Flavonóides simples ( $C_6C_3 + C_6$ )	Esterilpironas ( $C_6 - C_3 - {}_2 C_2$ ) e diarileptanóides ( ${}_2C_2C_6C_3 + C_1$ ).
Flavonóides com anel B mono e di-oxigenados	Flavonóides com anel B di e tri-oxigenados ou sem oxigenação.
Proteção de hidroxilas fenólicas:	Proteção de hidroxilas fenólicas:
Glicosilação.	Metilação.

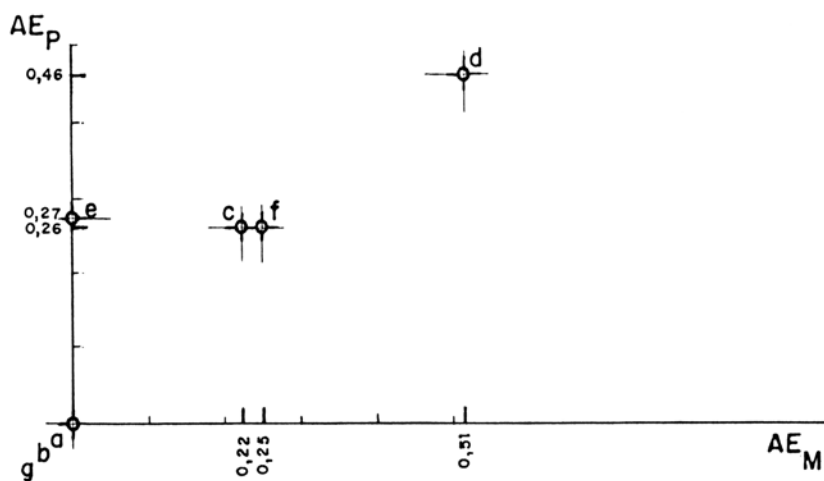


Figura 5 - Correlação dos parâmetros  $AE_P/AE_M$  para as famílias de Zingiberiflorae. a = Strelitziaceae, b = Heliconiaceae, c = Musaceae, d = Zingiberaceae, e = Costaceae, f = Marantaceae, g = Cannaceae.

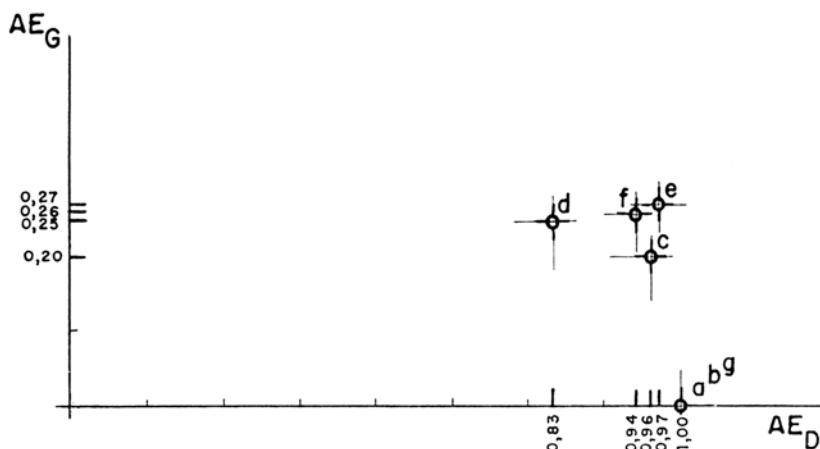


Figura 6 - Correlação dos parâmetros  $AE_G/AE_D$  para as famílias de Zingiberiflorae. a = Strelitziaceae, b = Heliconiaceae, c = Musaceae, d = Zingiberaceae, e = Costaceae, f = Marantaceae, g = Cannaceae.

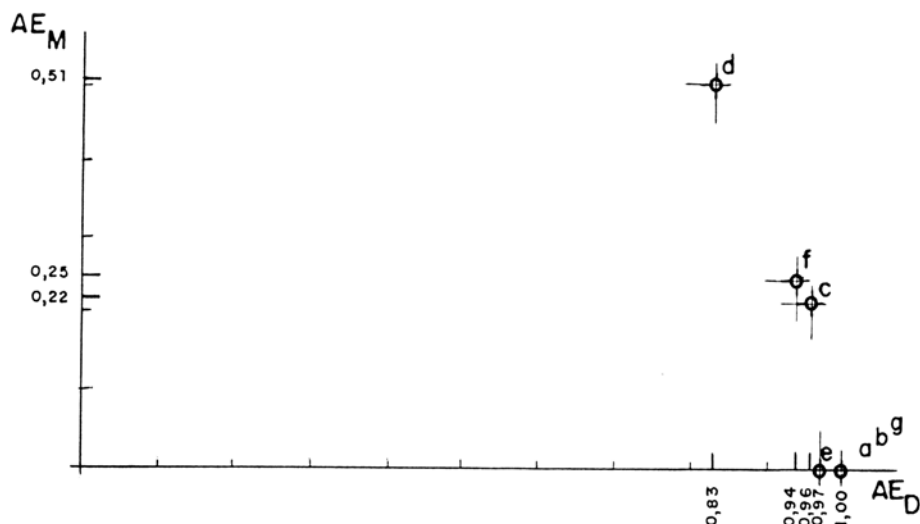


Figura 7 - Correlação dos parâmetros  $AE_M / AE_D$  para as famílias de Zingiberiflorae. a = Strelitziaceae, b = Heliconiaceae, c = Musaceae, d = Zingiberaceae, e = Costaceae, f = Marataceae, g = Cannaceae.

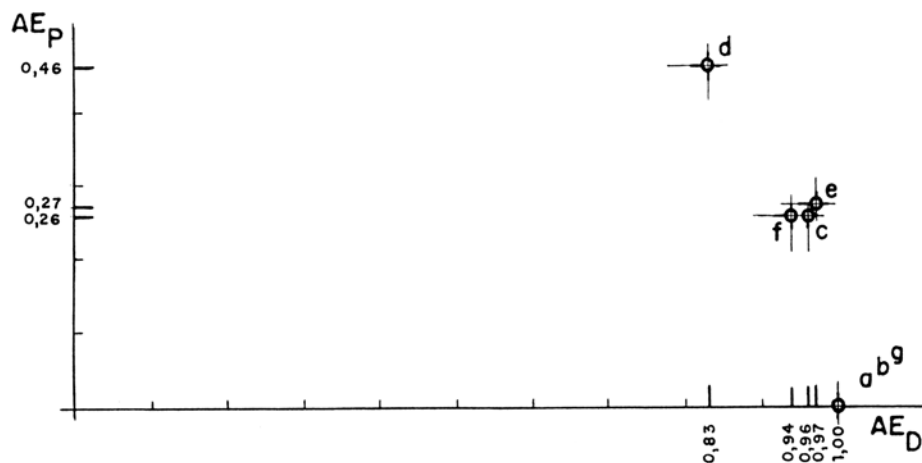


Figura 8 - Correlação dos parâmetros  $AE_P / AE_D$  para as famílias de Zingiberiflorae. a = Strelitziaceae, b = Heliconiaceae, c = Musaceae, d = Zingiberaceae, e = Costaceae, f = Marantaceae, g = Cannaceae.

## Referências Bibliográficas

- Barreiros, E.L. 1990. Flavonóides como marcadores sistemáticos da família Leguminosae. Tese de Doutorado, USP. 295 p., il.
- Benthán, G. & Hooker, J.O. 1883. Genera plantarum. London, Lovell Reeve et Co., Wilhams et Norgate, V.3, p. 636-657.
- Cronquist, R. 1968. The evolution and classification of flowering plants. Boston, Houghton Mifflin Comp., ix + 396 p., il.
- Dahlgren, R.M.T. 1980. A revised system of classification of the angiosperms. J. Linn. Soc., (Bot) 80 (2):91-124.
- Endlicher, S.L. 1837. Genera plantarum secundum ordines naturales. Wiew (Fr. Beck), V. 1, p.221-229.
- Gottlieb, O.R. 1982. Micromolecular evolution systematics and ecology. An essay into a novel botanical discipline. Berlin, Springer Verlag, Heidelber, viii.
- . 1989. The role of oxygen in Phytochemical evolution towards diversity. *Phytochemistry* 28:2545-2558.
- . 1990. Phytochemicals: differentiation and function. *Phytochemistry* 29: 1715-1724.
- Gottlieb, O.R.; Kaplan, M.A.C.; Kubitzki, K. & Toledo Barros, J.R. 1989. Chemical dichotomies in the magnolialean complex. *Nord. J. Bot.* 8: 437-444.
- Harborne, J.B.; Mabry, T.J. & Mabry, H. 1975. The flavonoids. London, Chapman and Hall. xiv + 4204 p.
- Kaplan, M.A.C. & Gottlieb, O.R. 1982. Plant systematics and phylogeny. XVI. Iridoids as systematics markers in dicotyledons. *Biochem Syst. Ecol.* 10: 329-347.
- Nakai, T. 1941. Notulae ad plantas Asiae Orientalis. XVI. *J. Jap. Bot.* 17: 200-203.
- Petersen, O.G. 1889. Musaceae, Zingiberaceae. In: Engler, H.G.A. & Prantl, K.A.E. Die natürlichen Pflanzenfamilien... ed. 1, Leipzig, Verlag von Wilhelm Engelmann, v. 1, p.1-30, il.
- Pucialli, H.R.L. 1991. Quimiotaxonomia da superordem Zingiberiflorae (sensu Dahlgren). Dissertação de Mestrado, Museu Nacional (UFRJ), Rio de Janeiro. 99 p. il.
- Takhtajan, A. 1969. Flowering plants, origin and dispersal. Washington, Smithsonian Institution Press., x + 309 p. il.
- Thorne, R.F. 1968. Synopsis of a putatively phylogenetic classification of the flowering plants. *Aliso* 6 (4): 57-66.
- . 1976. A phylogenetic classification of the Angiospermae. *Evol. Biol.* 9:35-106.
- Tomlinson, P.B. 1962. Phylogeny of the Scitamineae - morphological and anatomical considerations. *Evolution* 16: 192-213.
- . 1961. Palmae. In: Metcalfe, C.R. Monocotyledons. Oxford, Clarendon Press, V. 2, 453 p.
- . 1974. Development of the stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons. *Taxon* 23 (1/2): 109-128.