

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E PLANTAS

Angela Maria Demétrio

Caracterização estrutural, histoquímica e fitoquímica de *Mikania cordifolia* (L. f.) Willd. (Asteraceae) em ambiente de restinga

> Florianópolis 2021

Angela Maria Demétrio

# Caracterização estrutural, histoquímica e fitoquímica de *Mikania cordifolia* (L. f.) Willd. (Asteraceae) em ambiente de restinga

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. Orientadora: Prof<sup>a</sup> Makeli Garibotti Lusa, Dr<sup>a</sup>. Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Ana Claudia Rodrigues, Dr<sup>a</sup>.

# Florianópolis, 2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

```
Demétrio, Angela Maria
Caracterização estrutural, histoquímica e fitoquímica de
Mikania cordifolia (L. f.) Willd. (Asteraceae) em ambiente
de restinga. / Angela Maria Demétrio ; orientadora, Makeli
Garibotti Lusa, coorientadora, Ana Claudia Rodrigues,
2021.
90 p.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas,
Florianópolis, 2021.
Inclui referências.
1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. Estudo
anatômico de liana. 3. Plantas medicinais de restinga. 4.
Adaptações estruturais em plantas de duna frontal. I. Lusa,
Makeli Garibotti . II. Rodrigues, Ana Claudia. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.
```

## Angela Maria Demétrio

# Caracterização estrutural, histoquímica e fitoquímica de *Mikania cordifolia* (L. f.) Willd. (Asteraceae) em ambiente de restinga

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof<sup>a</sup>, Aline Bertolosi Bombo, Dr<sup>a</sup> Instituto de Biociências/UNESP/Rio Claro

Prof<sup>a</sup> Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira, Dr<sup>a</sup> Universidade Federal de Santa Catarina

Prof<sup>a</sup> Denisele Neuza Aline Flores Borges, Dr<sup>a</sup> Secretaria de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável de Goiás

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof<sup>a</sup> Makeli Garibotti Lusa, Dr<sup>a</sup> Orientadora

Florianópolis, 2021.

Este trabalho é dedicado aos 47.040.906 votos de ELE NÃO!

#### AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais pelo amor, compreensão e pelo duro caminho que trilharam para que eu tivesse acesso à instrução.

Agradeço ao meu bem, Juarez, por me lembrar que "pouco tempo é muito para quem quer viver" e por lavar a louça sem eu precisar pedir.

À minha sobrinha, Thayane, pelo apoio, amor e pela cumplicidade.

Às amigas pela torcida, força e acolhimento! À Maiara e Sacha, por salvarem minha sanidade através das nossas conversas e risadas! À Indi, por ser inspiração e por ser parceira nesse processo de aprendizagem. Ao Janga, grande amigo da família, agradeço pela disponibilidade em ajudar os meus pais sempre que foi necessário. À Aninha, à Professora Fernanda, ao Everton, ao William e aos demais amigos do LAVEG pelos cafés, risadas e pelas dicas valiosas para a realização deste trabalho!

Ao PPGFAP e ao Laboratório de Anatomia Vegetal - LAVEG pelas cooperações, pelo ambiente de trabalho, pelo processamento e análise das amostras.

Às minhas orientadoras, Makeli e Ana Claudia, por contribuírem através de seus ensinamentos, pelos momentos de compreensão, acolhimento, por tornar a pós-graduação mais humana, pela precisão técnica e pela dedicada experiência em Anatomia vegetal!

À professora Mara Rejane Ritter e ao professor Rafael Trevisan pelo auxílio nas identificações dos espécimes! Agradeço ao professor Rafael também por todo zelo com o Departamento de Botânica, tornando-o mais aconchegante e organizado!

Ao professor César e à equipe do Horto Didático de Plantas Medicinais do HU – UFSC pela permissão em averiguar as espécies de *Mikania* no banco de plantas.

À Amanda Athayde, à Professora Maique Biavatti e ao Departamento de Farmácia pelo excelente auxílio técnico!

A todas as professoras, professores, a todas as técnicas e técnicos administrativos, agradeço pela ajuda nos assuntos científicos ou burocráticos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior – CAPES pela bolsa de estudos para a realização deste trabalho.

À plataforma Sci-hub e demais plataformas de acesso gratuito pelo auxílio no acesso à ciência.

À Dona Maria e ao Seu Admir pelos sorrisos cheios de vida a cada bom dia! Assim como agradeço aos demais servidores terceirizados e colaboradores da UFSC, muito obrigada! Cada parte fez de mim uma melhor profissional.

"Plantas humildes ocultam segredos surpreendentes." Ameenah Gurib-Fakim

### RESUMO

A restinga é um habitat que representa fatores determinantes e muitas vezes limitantes para o desenvolvimento vegetal. Espécies da família Asteraceae são comumente encontradas nesse ambiente, inclusive ocupando dunas frontais, onde os ventos, a salinidade e o solo representam condições ambientais mais drásticas, como é o caso de Mikania cordifolia. Asteraceae é reconhecida por seus diversos tipos de estruturas secretoras e por conter espécies com potencial para bioprospecção. Mikania cordifolia é uma espécie com hábito volúvel, ampla distribuição geográfica e com registros de uso medicinal. No entanto, não há na literatura estudos que abranjam a investigação anatômica, histoquímica e química de todos os órgãos vegetativos da espécie referida. Neste sentido, este trabalho avaliou a organização celular dos tecidos e das estruturas secretoras, dos órgãos aéreos e subterrâneos de M. cordifolia, assim como a composição química do extrato dos mesmos órgãos. Para isso, foram utilizadas técnicas de diafanização, microtomia, histoquímica e fitoquímica. Nossos resultados mostraram órgãos com diversas adaptações às condições de restinga, entre elas a presença de três tipos de estruturas secretoras, tais como canais secretores, tricomas e hidatódios. Por meio das análises em histoquímica observamos a presença de lactonas sesquiterpênicas, compostos pécticos e fenólicos, substâncias lipofílicas, flavonóides, cumarinas, amido e taninos. As análises em ressonância magnética nuclear demonstraram substâncias como diterpenos cauranos, esteroides, ácidos graxos, derivados fenólicos e substâncias metoxiladas. Nossos resultados contribuem para a compreensão da estrutura e fitoquímica do gênero Mikania, das adaptações da espécie ao ambiente restinga e da ocorrência e a distribuição de estruturas secretoras no gênero além de fomentar o conhecimento e justificar a conservação da flora da restinga.

Palavras-chave: Guaco. Estruturas secretoras. Bioprospecção. Dunas frontais. Liana.

### ABSTRACT

Restinga is a habitat that represents determining and often limiting factors for plant development. Species of the Asteraceae family are commonly found in this environment, even occupying frontal dunes, where wind, salinity and soil represent more drastic environmental conditions, as is the case of Mikania cordifolia. Asteraceae is recognized for its different types of secretory structures and for containing species with potential for bioprospecting. Mikania cordifolia is a species with a climbing habit, wide geographic distribution and records of medicinal use. However, there are no studies in the literature that cover the anatomical, histochemical and chemical investigation of all vegetative organs of the referred species. In this sense, this work evaluated the cellular organization of the tissues and secretory structures, of organs aerial and underground organs of *M. cordifolia*, as well as the chemical composition of the extract of the same organs. For this, clearing, microtomy, histochemistry and phytochemistry techniques were used. Our results showed organs with different adaptations to restinga conditions, including the presence of three types of secretory structures, such as secretory ducts, trichomes and hydathodes. Through histochemical analysis we observed the presence of sesquiterpenic lactones, pectic and phenolic compounds, lipophilic substances, flavonoids, coumarins, starch and tannins. Nuclear magnetic resonance analyzes showed substances such as kauran diterpenes, steroids, fatty acids, phenolic derivatives and methoxylated substances. Our results contribute to the understanding of the structure and phytochemistry of the genus Mikania, the adaptations of the species to the restinga environment and the occurrence and distribution of secretory structures in the genus, in addition to promoting knowledge and justifying the conservation of the *restinga* flora.

Keywords: Guaco. Secretory structures. Bioprospecting. Frontal dunes. Liana.

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagens de Mikania cordifolia em campo.	26	
Figura 2 - Folhas de Mikania cordifolia diafanizadas.	27	
Figura 3 - Lâmina foliar de Mikania cordifolia.	28	
Figura 4 - Lâmina foliar de Mikania cordifolia.	30	
Figura 5 - Pecíolo de Mikania cordifolia em secções transversais.	32	
Figura 6 - Secções transversais do caule aéreo em crescimento primário de Mikania cordif	olia.	
	34	
Figura 7 - Secções transversais do caule aéreo em crescimento secundário de Mik	cania	
cordifolia.	36	
Figura 8 - Secções transversais do caule estolão de Mikania cordifolia.	38	
Figura 9 - Secções transversais da raiz fina de Mikania cordifolia.	39	
Figura 10 -Secções transversais da raiz de Mikania cordifolia em crescimento secundário.	41	
Figura 11 - Secções transversais da raiz de Mikania cordifolia em crescimento secundário	(raiz	
espessada).	42	
Figura 12 - Secções transversais da lâmina foliar de Mikania cordifolia.	44	
Figura 13 - Secções transversais da lâmina foliar de Mikania cordifolia.	46	
Figura 14 - Secções transversais do pecíolo de Mikania cordifolia.	47	
Figura 15 - Secções transversais do pecíolo de Mikania cordifolia.	49	
Figura 16 - Secções transversais do caule em crescimento primário de Mikania cordifolia.	51	
Figura 17 - Secções transversais do caule em crescimento secundário de Mikania cordif	°olia.	
	52	
Figura 18 - Secções transversais do caule em crescimento secundário de Mikania cordif	°olia.	
	53	
Figura 19 - Secções transversais da raiz de Mikania cordifolia.	54	
Figura 20 - Secções transversais da raiz espessada de Mikania cordifolia.	55	
Figura 21 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (300Hz, TMS, CDCl3) correspondente aos extratos dos ór	gãos	
vegetais de Mikania cordifolia. Na sequência: raiz, caule aéreo, caule estolão, flores e folhas.		
	57	
Figura 22 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (300Hz, TMS, CDCl3) correspondente	e aos	
extratos dos órgãos vegetais de Mikania cordifolia. Na sequência: raiz, caule aéreo, c	caule	

estolão, flores e folhas.

57

Figura 23 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 6,5 e 8,1 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais. 58

Figura 24 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 4,5 e 6,5 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais. 59

Figura 25 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 2,5 e 4,5 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais.

Figura 26 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 0,6 e 2,5 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais.

Figura 27 - Sobreposição dos espectros de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) de *Mikania cordifolia* ao padrão de cumarina. 66

Figura 28 - Ampliação da região entre 6 e 8 ppm, apresentando a sobreposição dos espectros de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) de *Mikania cordifolia* ao padrão de cumarina. 66

# LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Diterpenos cauranos	84
Quadro 2 - Diterpenos labdanos	85
Quadro 3 - Lactonas sesquiterpênicas	86
Quadro 4 - Fenólicos	87
Quadro 5 - Fitoesteróis	89

### LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de material coletado, suas respectivas localidades, coordenadas geográficas e números de coletor. 20 Tabela 2 - Descrição dos testes histoquímicos utilizados para detecção dos grupos químicos nos tecidos de M. cordifolia. 22 Tabela 3 - Testes histoquímicos realizados nos órgãos vegetativos de Mikania cordifolia (L.f.) Wild 55 Tabela 4 - Dados de deslocamento químico (δ) e multiplicidade dos sinais de RMN <sup>1</sup>H na região espectral de metabólitos secundários presentes no gênero Mikania, conforme dados de revisão da literatura. Sendo, (+) representando a presença do sinal com deslocamento químico (δ) e multiplicidade na região espectral de RMN <sup>1</sup>H dos respectivos metabólitos e (-) representa ausência dos mesmos. 61 Tabela 5 - Classes de metabólitos secundários sugeridas para cada órgão vegetal de M. cordifolia e os sinais espectrais característicos (deslocamento químico, δ). RMN <sup>1</sup>H (300Hz,

65

TMS, CDCl3).

# SUMÁRIO

1	INT	[RO]	DUÇÃO	16
2	OB	JET	IVOS	19
	2.1	OB.	JETIVO GERAL	19
	2.2	OB.	IETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	MA	TEF	RIAL E MÉTODOS	20
	3.1	MA	TERIAL BOTÂNICO	20
	3.2	AN	ÁLISES MORFOLÓGICAS DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS	20
	3.3	AN	ÁLISES ANATÔMICAS	20
	3.3.	1	Diafanização	21
	3.4	HIS	TOQUÍMICA	22
	3.5	FIT	OQUÍMICA	23
4	RE	SUL	TADOS	25
	4.1	AN	ÁLISES MORFOLÓGICAS DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS	25
	4.2	AN	ÁLISES ANATÔMICAS	26
	4.2.	1	Diafanização – Estruturas secretoras	27
	4.2.	2	Lâmina foliar	27
	4.2.	.3	Pecíolo	31
	4.2.	.4	Caule aéreo - crescimento primário	32
	4.2.	.5	Caule aéreo - crescimento secundário	34
	4.2.	.6	Caule estolão - crescimento secundário	37
	4.2.	.7	Raiz fina	38
	4.2.	.8	Raiz em crescimento secundário	40
	4.2.	.9	Raiz adventícia espessada - em crescimento secundário mais avançado	41
	4.3	HIS	TOQUÍMICA	42
	4.3.	1	Folha	43
	4.3.	2	Caule aéreo	49
	4.3.	.3	Raiz fina e raiz em crescimento secundário	53
	4.3.	.4	Raiz espessada	54
	4.4	FIT	OQUÍMICA	56
5	DIS	SCUS	SSÃO	67
	5.1	ASI	PECTOS MORFOLÓGICOS	67
	5.2	ASI	PECTOS ANATÔMICOS E PAPEL FUNCIONAL DAS ESTRUTURAS	68

	5.3	ASPECTOS FITOQUÍMICOS	.73
6	CO	DNSIDERAÇÕES FINAIS	.75
	REFI	ERÊNCIAS	.76
	ANE	XO A - Principais metabólitos secundários descritos para o gênero Mikania	.84

## 1 INTRODUÇÃO

O domínio Mata Atlântica possui alto grau de endemismo, riquíssima biodiversidade e possui distintas formações vegetais, tais como a restinga. A restinga está presente ao longo da costa brasileira, fazendo parte de uma complexa formação intimamente relacionada a condições climáticas e edáficas adversas, comum em solos arenosos, com baixa matéria orgânica e alto teor de salinidade (ASSIS; PEREIRA; THOMAZ, 2004; ASSIS et al., 2011). Essa formação vegetacional pode ocorrer na forma de mosaicos e apresentar aumento da lenhosidade, da altura da vegetação e da diversificação em número de espécies conforme aumenta a distância do mar para o interior (FALKENBERG, 1999; MIRANDA; HANAZAKI, 2008; BRASIL, 2012). A restinga está presente em grande parte da costa marítima da Ilha de Santa Catarina. Tal local tem sido explorado desde o século XVIII seja com fins de extração de madeira e uso do solo para produção agrícola, seja com a finalidade de ocupação humana (FUHR; DAL SANTO, 2006). Embora a restinga componha um cenário para novas descobertas na utilização econômica, provendo plantas com recursos alimentícios, cosméticos e medicinais, a redução de áreas nesse ecossistema atualmente se dá pela crescente especulação imobiliária e introdução de espécies exóticas (FUHR; DAL SANTO, 2006; OLIVEIRA et al., 2016).

Na restinga um grupo de plantas com ampla ocorrência é a família Asteraceae. Reitz (1961) estimou 38 gêneros da família para o estado de Santa Catarina, porém atualmente o número de registros está em torno de 135 gêneros, com cerca de 550 espécies catalogadas, sendo 49 gêneros com 106 espécies de ocorrência na restinga (FLORA DO BRASIL, 2020). No cotidiano encontramos exemplos de utilização de espécies de Asteraceae na medicina popular, como a macela (*Achyrocline satureioides* DC.) e os guacos (*Mikania* spp.) (GASPARETTO et al., 2015). Além disso, muitas espécies da família possuem grande importância econômica em diversos segmentos, sendo cultivadas com finalidade ornamental, para a produção de óleo, ou utilizadas na alimentação e na confecção de cosméticos (JANAĆKOVIĆ et al., 2019). Com alcance cosmopolita, Asteraceae obteve sucesso na sua distribuição através de estratégias de dispersão bem-sucedidas e também pela presença de ampla variedade de estruturas secretoras contendo poliacetilenos, lactonas sesquiterpênicas, flavonoides e óleos essenciais responsáveis pela defesa química das espécies, entre outras funções (CLARO, 1994; CASTRO; LEITÃO-FILHO; MONTEIRO, 1997; FUNK et al., 2009).

O estudo das estruturas secretoras tem se mostrado relevante para o conhecimento de sua anatomia, da natureza química do exsudato e do papel que essas estruturas desempenham no corpo do vegetal e no ambiente (FAHN, 1982). Espécies de Asteraceae são caracterizadas por apresentarem diferentes tipos de estruturas secretoras, tais como: canais, idioblastos, hidatódios, nectários extraflorais, tricomas e demais apêndices glandulares (CLARO, 1994; CASTRO; LEITÃO-FILHO; MONTEIRO, 1997). Embora ainda haja muitas dúvidas sobre o papel de certas estruturas secretoras, de modo geral, elas estão relacionadas com a capacidade de sobrevivência no habitat, cujas adaptações podem estar associadas com as condições climáticas e edáficas, como por exemplo, a presença de glândulas de sal e hidatódios, fundamentais em plantas halófitas (FAHN, 1979). O papel de estruturas secretoras também podem estar relacionadas com a interrelação com a população circunvizinha (FAHN, 1979), através da ocorrência de tricomas glandulares, canais, cavidades, idioblastos e laticíferos relacionados à proteção da planta, ou ainda tricomas glandulares, osmóforos e nectários relacionados à atração de animais (TURNER, 1994).

Dados sobre anatomia vegetal de estruturas secretoras e a química de seus exsudatos são importantes devido aos diferentes segmentos potenciais envolvendo os produtos da secreção, tendo em vista que muitos desses produtos possuem grande relevância econômica, sendo usados na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (METCALFE; CHALK, 1950). Além disso, o reconhecimento de estruturas secretoras e seus produtos em espécies não comerciais é fundamental na sinalização de novas fontes de prospecção para essas áreas.

Espécies do gênero *Mikania* Willd. (Asteraceae) são conhecidas no Brasil pelo nome popular "guaco" e entre elas, algumas são reconhecidas pelo seu interesse farmacêutico, especialmente *Mikania glomerata* Spreng. e *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker, as quais apresentam evidências do seu potencial químico e farmacológico pela presença de cumarinas, triterpenos/esteróides e heterosídeos flavônicos, sendo amplamente utilizadas para tratar distúrbios respiratórios (SOARES DE MOURA et al., 2002; BOLINA; GARCIA; DUARTE, 2009; BRIGIDA DA SILVA; OWITI; BARBOSA, 2018). Para o gênero *Mikania* os estudos apontam estruturas secretoras como tricomas glandulares em diversas formas e arranjos (unisseriados, multisseriados, capitados ou peltados) e canais e cavidades secretoras que secretam substâncias lipofílicas, entre outros compostos (MILAN; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; AMORIN et al., 2014; ALMEIDA et al., 2017).

Dentre os estudos anatômicos com o gênero *Mikania* destaca-se a comparação da região aérea entre as espécies *M. campanulata* Gardner, *M. cordifolia*, *M. glomerata* Spreng., *M. hastato-cordata* Malme e *M. microptera* DC. realizado por Almeida et al. (2017), a análise dos sistemas subterrâneos de *M. cordifolia* e *M. sessilifolia* DC. por Appezzato-da-Glória e Cury (2011), como também as contribuições de Schweikerdt e Walt (1973) para *M. cordata* (Burm.

F.) Robins., de Budel et al., 2009 para *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker e, de Amorin et al., 2014, para *M. lanuginosa* DC. A associação entre os estudos anatômicos, histoquímicos e fitoquímicos de espécies potencialmente medicinais são importantes para distinção entre espécies, bem como para a identificação de estruturas secretoras e seus exsudatos, os quais podem ser utilizados como princípios ativos e serem investigados em estudos farmacológicos (DEMÉTRIO et al., 2020).

*Mikania* é o maior gênero da tribo Eupatorieae, contendo cerca de 450 espécies, com distribuição pantropical e extensões até as áreas temperadas da América e sudeste da África (RITTER; WAECHTER, 2004; DE GODOY et al., 2017). Cerca de 200 espécies possuem ocorrência no Brasil, entre elas *Mikania cordifolia* (L.f.) Wild. (FLORA DO BRASIL, 2020). *Mikania cordifolia* ocorre comumente junto ao extrato arbustivo e apresenta hábito volúvel ou lianescente. Possui ampla distribuição, sendo encontrada do sul dos Estados Unidos até a Argentina (ROBINSON, 1922; HOLMES, 1981; RITTER; MIOTTO, 2005). No Brasil a espécie é encontrada em todas as regiões, embora os maiores números de registros estejam localizados no Sudeste e no Sul do Brasil (RITTER; MIOTTO, 2005; INCT, 2019; FLORA DO BRASIL, 2020).

Além disso, *Mikania cordifolia* é considerada uma liana, um grupo abundante e diversificado, comum em transições florestais, de ambientes úmidos para secos sendo também relacionada com a fragmentação florestal (ANGYALOSSY et al., 2012; LIMA, 2012). *Mikania cordifolia* também ocorre na restinga de Florianópolis (BINFARÉ; FALKENBERG, 2016), sendo importante na estrutura populacional desse ambiente, inclusive ocupando áreas de dunas frontais, como será apresentado neste trabalho.

A espécie pode receber os nomes populares de "guaco" ou "cipó cabeludo", dependendo da região do Brasil, e é utilizada na forma de chá, infusões ou xaropes para o tratamento de problemas respiratórios, picadas de cobra ou como anti-inflamatório (PELUSO et al., 1995; CAROLLO, 2008; COLARES, 2010; COSTA; MAYWORM, 2011; ALMEIDA et al., 2017). A partir dos referidos usos se pode afirmar que *Mikania cordifolia* tem potencial para a bioprospecção, portanto este trabalho realizou investigações anatômicas e histoquímicas em *M. cordifolia* com o intuito de avaliar tanto a sua estrutura geral e relacioná-la ao ambiente restinga, quanto compreender as estruturas secretoras e seus exsudatos em órgãos vegetativos. Além disso, o presente estudo também buscou identificar os principais metabólitos presentes nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *M. cordifolia* com ocorrência na restinga.

### **2 OBJETIVOS**

#### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a estrutura anatômica dos órgãos vegetativos e a composição química de *M*. *cordifolia* com ocorrência em áreas de restinga de Florianópolis, buscando identificar aspectos de adaptação ao ambiente e a possibilidade de prospecção da espécie.

# 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar e descrever a anatomia dos órgãos vegetativos do sistema aéreo e subterrâneo;
- Analisar, descrever e classificar os diferentes tipos de estruturas secretoras;
- Realizar análises histoquímicas de material contendo estruturas secretoras e indicar os principais grupos químicos para as porções analisadas;
- Realizar análises fitoquímicas dos órgãos vegetativos e reprodutivos e indicar os principais metabólitos presentes nas porções analisadas;
- Discutir o papel funcional das estruturas anatômicas como estratégias de adaptação ao meio.

# **3** MATERIAL E MÉTODOS

## 3.1 MATERIAL BOTÂNICO

As coletas para os estudos morfológicos, anatômicos e fitoquímicos foram realizadas nos meses de setembro a abril de 2019 a 2021, em dunas frontais na restinga de Florianópolis – Santa Catarina, contando com três indivíduos de *M. cordifolia,* sendo um indivíduo coletado na Praia de Naufragados e dois na Praia da Armação, conforme a Tabela 1. Um exemplar de cada ponto de coleta foi herborizado e será depositado no Herbário FLOR (após a pandemia), no departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O clima é considerado subtropical. Geologicamente, a restinga se encontra em área formada por processos de sedimentação marinha, cujo solo é arenoso, pobre em argila e matéria orgânica (CLARO, 1994; FALKENBERG, 1999).

Tabela 1 - Lista de material coletado, suas respectivas localidades, coordenadas geográficas e números de coletor.

Espécie	Local	Coordenadas	Número de coletor
Mikania cordifolia	Praia dos Naufragados	27°50'08.5"S 48°34'11.4"W	Demétrio, A.M. 12
Mikania cordifolia	Praia da Armação	27°44'41.8"S 48°30'27.6"W 27°44'39.6"S 48°30'28.4"W	Demétrio, A.M. 13 Demétrio, A.M. 14

Fonte: Produzido pela autora (2020).

# 3.2 ANÁLISES MORFOLÓGICAS DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS

Para as observações quanto à morfologia, realizaram-se saídas a campo e amostras de indivíduos contendo os sistemas aéreo e subterrâneo foram retiradas do substrato com auxílio de pá de jardinagem e tesoura de poda. Os indivíduos foram colocados sobre fundo branco ou sobre o solo e fotografados com câmera de aparelho celular (SM-J5, Samsung). Os órgãos vegetativos foram descritos segundo as propostas de Bell (1991) e Almeida e Almeida (2014).

# 3.3 ANÁLISES ANATÔMICAS

Para as descrições anatômicas, foram escolhidas amostras de órgãos aéreos (n=3 por indivíduo), sendo: caules (regiões em crescimento primário e secundário) e folhas totalmente expandidas (região do terço médio: nervura central e porções internervurais - região do bordo, do ápice

foliar e do pecíolo). Além disso, foram coletadas amostras de raízes finas (com regiões em transição entre o crescimento primário e secundário), raízes espessadas e estolão. As raízes finas foram assim definidas com o auxílio da literatura de McCormack et al. (2015). O material foi fixado em FAA (formaldeído, ácido acético e etanol 70%) (Johansen, 1940), por 24 horas. Posteriormente as amostras fixadas foram desidratadas em série etanólica e incluídas em resina plástica hidroxietilmetacrilato (Historesin, Leica®), seguindo as recomendações do fabricante. Os blocos foram seccionados em secções transversais e longitudinais. Para a lâmina foliar foram realizadas também secções paradérmicas e frontais, a fim de descrever a ocorrência de canais e/ou cavidades. As secções (transversais, paradérmicas e longitudinais) foram realizadas em micrótomo rotativo (RM 2125 RT Leica Microsystem, Nussoch, Alemanha) com 7 µm de espessura, distendidas sobre lâminas histológicas com água e secas em chapa aquecedora (55° C). Em seguida foram coradas em Azul de toluidina 0,1% pH 4,0 e montadas em bálsamo do Canadá. As lâminas foram observadas e fotografadas em regime home office em microscópio óptico (CX22LED, Olympus) e com câmera de aparelho celular (SM-J5, Samsung). As lâminas histológicas de material incluído em historesina foram confeccionadas conjuntamente com o aluno de graduação em Ciências Biológicas, Flávio Garcia, quando da sua participação como aluno de iniciação científica e deram origem ao seu Trabalho de Conclusão de Curso. Entretanto, as análises dos materiais, referidas neste trabalho, assim como as demais técnicas utilizadas são obras da autora.

Cortes a mão livre foram realizados para observar a anatomia da raiz espessada, pois nesta análise já estávamos em regime *home office*. As amostras foram seccionadas transversalmente e longitudinalmente com lâmina de barbear, e, posteriormente submetidas ao Azul de toluidina 0,1% pH 4,0 utilizado como corante metacromático para análises estruturais, montadas em água e cobertas com lamínula.

#### 3.3.1 Diafanização

A técnica de diafanização foi utilizada como alternativa às análises com Microscópio Eletrônico de Varredura a fim de observar estruturas secretoras na superfície foliar. A técnica para o estudo de estruturas secretoras seguiu Shobe e Lersten (1967) adaptado por Caires; Gomes-Bezerra e Proença (2012). Foram utilizadas duas folhas totalmente expandidas de um dos indivíduos, as quais foram colocadas em solução NAOH 3% por 24 horas, clarificadas em Hipoclorito de Sódio 2%, lavadas em água destilada, desidratadas em série etanólica (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%) e coradas em safranina saturada 3% em etanol 92%. O

processo de desidratação foi completado com álcool 96% e 100% e, finalmente, as folhas foram banhadas em acetato de butila puro. A montagem foi realizada entre placas de vidro, utilizando como meio de montagem verniz vitral incolor Arts®. As placas finalizadas foram observadas e fotografadas em estereomicroscópio Leica® EZ4D com câmera acoplada.

# 3.4 HISTOQUÍMICA

As análises histoquímicas foram realizadas em material fresco recém coletado, nas mesmas regiões especificadas no tópico anterior dos órgãos vegetativos de *M. cordifolia*, em número amostral n=3, a fim de identificar os principais grupos químicos presentes nas células, tecidos e, ou espaços intercelulares dos órgãos vegetativos. As amostras foram seccionadas transversalmente a mão livre com lâmina de barbear e com auxílio de isopor como suporte. As secções foram submetidas aos seguintes reagentes conforme Tabela 2.

Grupo químico	Reagente	Cor para reação positiva
Carboidrato do tipo amido	Lugol (JENSEN, 1962)	Azul escuro ou marrom escuro
Compostos fenólicos	Azul de toluidina em tampão citrato- fosfato (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964)	Azul-esverdeado
	Cloreto férrico (JOHANSEN, 1940)	Azul, marrom ou verde escuro
Compostos lipídicos	Sudan III (SASS, 1951)	Amarelo-alaranjado ou vermelho
	Vermelho neutro sob fluorescência (filtro de excitação Azul 450-490) (KIRK, 1970)*	Amarela ou azul esverdeada
Compostos pécticos	Azul de toluidina em tampão citrato- fosfato (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964)	Azul-roxeado
Cumarinas	Hidróxido de sódio sob fluorescência (filtro de excitação UV 340-380) (CASSOLA, et al. In prep.)*	Esverdeada

Tabela 2 - Descrição dos testes histoquímicos utilizados para detecção dos grupos químicosnos tecidos de M. cordifolia.

Flavonoides	Cloreto de alumínio sob fluorescência (filtro de excitação UV 340-380) (CHARRIÈRE-LADREIX, 1976)*	Amarela-esverdeada
Lactonas sesquiterpênicas	Vanilina sulfúrica (GEISSMAN e GRIFFIN, 1971) (uso adaptado para LS neste trabalho)	Amarelo
Paredes celulósicas	Safrablau (BUKATSCH, 1972)	Azul
Paredes lignificadas e suberificadas	Safrablau (BUKATSCH, 1972)	Rosa a vermelho
Polissacarídeos pécticos e mucilagem	Vermelho de rutênio (GREGORY e BAAS, 1989)	Rosa forte
Taninos	Vanilina sulfúrica (GEISSMAN e GRIFFIN, 1971)	Rosa ou roxo

\* Análises sob fluorescência no Microscópio Olympus IX53-II, Japão. Fonte: Produzido pela autora (2020).

A observação das lâminas e o registro das imagens foi realizado em microscópio óptico (DM 2500, Leica) com câmera DFC 295 (Leica) e em microscópio de fluorescência invertido (IX53-II, Olympus) com câmera OQCLR5C (Olympus).

# 3.5 FITOQUÍMICA

As análises químicas foram realizadas em parceria com os Laboratórios Central Analítica e Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LABRMN), ambos vinculados ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFSC, sob supervisão da professora Dra. Maique Weber Biavatti. No presente estudo, foi utilizada a Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) como técnica auxiliar para triagem de fitomarcadores. Desta forma, foi utilizada literatura especializada (PAVIA et al., 2010) e realizada uma avaliação geral do espectro de RMN <sup>1</sup>H, identificando grupos funcionais de metabólitos secundários.

Nesta análise foram utilizadas amostras de flores, folhas, caule aéreo, estolão e raízes, as quais foram secas em estufa a temperatura inferior a 50 °C até o material adquirir característica friável, ou seja, aproximadamente dois dias. Posteriormente, foram triturados em moinho de facas para redução do tamanho da partícula a fim de aumentar a superfície de contato do material com o líquido extrator, reduzindo o consumo de solvente e tornando o processo extrativo mais eficiente. Em seguida, foi realizada a maceração estática por sete dias

consecutivos com cada órgão vegetal, utilizando como líquido extrator a mistura de metanol e diclorometano em partes iguais (1:1 v/v), sob temperatura ambiente e abrigo da luz. Após essa etapa, cada extrato foi filtrado com papel filtro, secos em evaporador rotatório e armazenados em dessecador para retirada da umidade e posterior análise por ressonância magnética nuclear (RMN).

Os extratos foram submetidos a análises de RMN de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) utilizando o Espectrômetro Bruker modelo *Fourier 300* (300 MHz para <sup>1</sup>H). Como solvente foi utilizado clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>) acrescido de tetrametilsilano (TMS) para calibração. Utilizouse 40 mg de extrato bruto para 550 µL de CDCl<sub>3</sub>. Os sinais foram expressos em ppm em relação ao TMS. Os dados adquiridos (FID) foram processados em software *TopSpin 3.1* (Bruker<sup>®</sup>).

#### **4 RESULTADOS**

# 4.1 ANÁLISES MORFOLÓGICAS DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS

*Mikania cordifolia* apresenta porte vegetal do tipo liana, ou seja, utiliza-se de plantas próximas para a sua sustentação, mantendo ainda assim, suas raízes conectadas ao solo. O caule aéreo é trepador volúvel, visto que não apresenta nenhum órgão especializado em fixação, enrolando-se em outras plantas para subir (Fig. 1A, setas). O caule aéreo trepador volúvel, apresenta ramos jovens, finos, de coloração verde, flexíveis, com pilosidade e sulcos longitudinais (Fig. 1B-C). Conforme o caule aéreo se desenvolve, adquire maior diâmetro, aspecto glabro, formato cilíndrico e pode se tornar bastante lenhoso (Fig. 1D-E) e apresentar raízes adventícias. Alguns caules muito espessos (Fig. 1E) foram localizados abaixo e entre detritos do solo, como rochas, areia (depósito sedimentar marinho) e plantas vizinhas, dispostos paralelamente ao substrato e eventualmente com raízes adventícias, sendo denominados como estolão (Fig. 1E).

O sistema radicular localiza-se há alguns centímetros abaixo do solo a partir da base do caule (Fig. 1F-H). As raízes se organizam em um sistema axial, algumas delas espessas e longas (Fig. 1H), outras, no entanto, finas e de tamanho limitado (Fig. 1F-G), as quais são raízes laterais. Além disso, raízes adventícias aparecem conectadas ao caule, um pouco acima do colo radicular e se estendem horizontalmente. Assim como o caule, as raízes contornam os detritos do sedimento e se espalham próximo à superfície do solo. Xilopódios não foram localizados.



Figura 1 - Mikania cordifolia em ambiente de restinga - Florianópolis/SC.

A. Visão geral da espécie sobre outras plantas em duna frontal no ecossistema de restinga (setas) em frente ao mar (asterisco). B. Ramo aéreo mostrando caule em crescimento primário. C. Detalhe do caule aéreo em crescimento primário com pilosidade e sulcos longitudinais. D. Caule aéreo em crescimento secundário. E. Visão geral do eixo caulinar emitindo ramos que se estendem paralelamente no chão, os estolões. F. Visão geral do sistema subterrâneo, mostrando raízes adventícias em diferentes fases de desenvolvimento. Raízes finas (cabeças de seta preta), raízes em crescimento secundário (seta branca), raízes adventícias (cabeças de seta preta), raízes axiais (seta preta). G. Sistema subterrâneo em detalhe com as raízes finas (cabeças de seta preta), raízes em crescimento secundário (setas brancas) raízes adventícias (cabeças de seta branca) e raízes axiais (seta preta). H. Sistema subterrâneo com raízes espessadas (setas). Abreviações: eca: eixo caulinar aéreo, es: estolão, ra: raiz adventícia, rcs: raízes em crescimento secundário, re: raízes em crescimento secundário espessadas, rf: raízes finas, rx: raiz axial. Fonte: Produzido pela autora (2021).

# 4.2 ANÁLISES ANATÔMICAS

#### 4.2.1 Diafanização – Estruturas secretoras

A análise das folhas diafanizadas mostra a ocorrência de hidatódios vascularizados (Fig. 2A e D) localizados no ápice (Fig. 2A-B, seta) e nos bordos (Fig. 2C-D, seta).



**A-B.** Ápice da folha. **B.** Detalhe mostrando hidatódio vascularizado. **C-D**. Bordo foliar. **D.** Detalhe da região do hidatódio com vascularização.

#### 4.2.2 Lâmina foliar

Em vista frontal observam-se as células epidérmicas com paredes sinuosas e estômatos do tipo anomocítico (Fig. 3A). A folha é anfiestomática com maior quantidade de estômatos na face abaxial (Fig. 3A). Três tipos diferentes de tricomas secretores ocorrem em ambas as faces da folha:

**Tipo I** - Tricoma secretor capitado bisseriado. Possui cabeça globular e pescoço com cerca de três pares de células. Este tricoma situa-se em depressões na epiderme (Fig. 3B-D).

**Tipo II** - Tricoma secretor unisseriado. Possui de 4-7 células no pescoço, com formato curvo e cabeça unicelular oval (Fig. 3E-F).

**Tipo III** - Tricoma secretor unisseriado. É formado por 3-18 células que se tornam mais alongadas próximas do ápice, os mais comuns apresentam maior número de células (Fig. 3G-H), e tricomas curtos com menos células são menos frequentes.

Em secção transversal observa-se a epiderme uniestratificada, com as células da face adaxial maiores e mais alongadas no sentido periclinal do que as células da face abaxial (Fig. 3I). A cutícula é inconspícua. Os estômatos estão levemente acima do nível das demais células epidérmicas (Fig. 3J), com exceção dos estômatos localizados na região da nervura central, onde alguns estão conspicuamente acima das demais células epidérmicas (Fig. 3K).



Figura 3 - Lâmina foliar de Mikania cordifolia.

**A-B.** Vista frontal. **C-K.** Secções transversais. **A-B, D, F, H-K.** Imagens em microscopia óptica. **C, E, G.** Análises em fluorescência. **A.** Epiderme abaxial evidenciando estômatos anomocíticos. **B.** Tricoma secretor capitado (tipo I). **C-D.** Tricoma secretor do tipo I. **E-F.** Tricoma secretor do tipo II. **G-H.** Tricoma secretor do tipo III. **I.** Lâmina foliar com mesofilo dorsiventral exibindo feixe vascular com extensão de bainha alcançando as duas faces epidérmicas, com canal secretor em seu interior (seta preta) e feixe vascular com reduzido número de células condutoras (seta branca). **J.** Estômatos levemente acima do nível das demais células epidérmicas. **K.** Estômatos conspicuamente acima das demais células. Abreviações: ba: bainha de feixe, cs: canal secretor, ep: células epidérmicas, et: estômato, f: floema, pp: parênquima paliçádico, pe: parênquima esponjoso, t1: tricoma secretor tipo I, t2: tricoma secretor tipo III, t3: tricoma secretor tipo III, x: xilema. Fonte: Produzido pela autora (2020/2021).

Em secção transversal, observa-se o mesofilo dorsiventral com parênquima paliçádico formado, de modo geral, por um estrato de células, porém em alguns pontos do mesofilo é possível observá-lo com duas camadas, com cloroplastos e núcleos evidentes (Fig. 3I). O parênquima esponjoso é bem desenvolvido, com 3-4 camadas de células, de formato variado, geralmente sinuoso e com arranjo frouxo (Fig. 3I). Os feixes vasculares imersos no mesofilo são colaterais com reduzido número de células condutoras e com bainha conspícua de células parenquimáticas (Fig. 3I, seta branca). Feixes vasculares de maior calibre podem apresentar extensão de bainha atingindo as duas faces da lâmina (Fig. 3I e 4A). Nestes feixes também podem ocorrer canais secretores (Fig. 3I, seta preta e 4A), localizados dentro da extensão da bainha, próximo ao xilema, com epitélio unisseriado de cinco a nove células. Em vista paradérmica, percebe-se a estrutura secretora do tipo canal (Fig. 4B).



Figura 4 - Lâmina foliar de Mikania cordifolia.

A, C-I. Secções transversais. B. Secção paradérmica. A. Detalhe do feixe vascular do mesofilo com canal secretor e extensão de bainha. B. Canal secretor. C. Região mediana da nervura central expondo feixes vasculares em arco, canais secretores próximo ao xilema (cabeça de seta) e estômato na face adaxial (seta). D. Estômato da face adaxial em detalhe. E-F. Detalhe do colênquima da nervura mediana. E. Colênquima angular da face adaxial. F. Colênquima angular da face abaxial. G. Feixe vascular com canais secretores próximos ao xilema. H. Bordo foliar exibindo diminuição no comprimento das células do parênquima paliçádico. I. Bordo foliar apresentando hidatódio, onde observam-se elementos traqueais (setas) e poro de água. Abreviações: ba: bainha de feixe, co: colênquima, cs: canal secretor, ep: células epidérmicas, et: estômato, fv: feixe vascular, f: floema, pp: parênquima paliçádico, pe: parênquima esponjoso, po: poro de água, x: xilema. Fonte: Produzido pela autora (2021).

A região mediana da nervura central é levemente convexa no lado adaxial e côncava no lado abaxial (Fig. 4C). Nesta área as células epidérmicas de ambas as faces são arredondadas e com espessamento parietal periclinal. Na face adaxial é possível observar uma porção de colênquima angular (Fig. 4E) e na face abaxial duas camadas (Fig. 4F). O sistema vascular compreende três a quatro feixes vasculares colaterais dispostos em arco, o parênquima fundamental possui células grandes e arredondadas, com paredes delgadas e espaços intercelulares reduzidos (Fig. 4C). Ocorrem canais secretores próximos ao xilema com epitélio unisseriado de 4-8 células (Fig. 4C, cabeça de seta e 4G, em detalhe), e no floema pode ocorrer pectinas no espaço intercelular.

Em secção transversal, a região do bordo foliar possui células epidérmicas arredondadas e redução do parênquima paliçádico (Fig. 4H). Já na região do bordo com presença de dentes marginais, observam-se hidatódios (Fig. 4I). Os hidatódios apresentam o epitema constituído de células parenquimáticas pequenas, com formato variável, citoplasma denso e núcleos evidentes. Observa-se também os elementos traqueais com espessamento espiralado (Fig. 4I, setas). O epitema está envolto por uma bainha de células alongadas que partem do parênquima paliçádico e esponjoso e se encerram abruptamente na região marginal. Na epiderme do bordo foliar ocorre estômato não funcional (poro) com câmara subestomática evidente.

#### 4.2.3 Pecíolo

O pecíolo de *M. cordifolia*, em secção transversal, tende a forma pentagonal, com a face adaxial côncava entre duas projeções e a face abaxial é formada por três vértices (Fig. 5A). Apresenta uma camada de células epidérmicas pequenas e arredondadas, com paredes levemente espessadas. Os estômatos estão acima das demais células epidérmicas (Fig. 5B). Observa-se abundância de tricomas, com a presença dos três tipos já mencionados para a lâmina foliar (Fig. 5C). Abaixo da epiderme ocorre colênquima anelar-angular em cordões distribuídos nas projeções adaxiais (Fig. 5C), na região côncava da mesma face (Fig. 5D), como também nos vértices da face abaxial (Fig. 5E).

O parênquima de preenchimento possui células grandes e arredondadas, com paredes delgadas e poucos espaços intercelulares (Fig 5A). Os feixes vasculares colaterais, em número de 9-11, estão dispostos em arco aberto, possuem tamanhos distintos intercalando entre maiores e menores (Fig 5A). Os canais secretores ocorrem próximos do xilema, entre o parênquima de preenchimento e o parênquima do feixe (Fig. 5F). No espaço intercelular do floema, podem ocorrer pectinas (Fig. 5F, seta). O parênquima próximo ao floema pode apresentar parede espessada.



Figura 5 - Pecíolo de Mikania cordifolia em secções transversais.

**A.** Visão geral mostrando a forma e distribuição dos feixes vasculares e canais secretores próximos ao xilema (setas). **B.** Estômatos elevados. **C.** Projeção adaxial exibindo colênquima e tricomas. **D.** Região côncava adaxial mostrando a localização do colênquima. **E.** Vértice da face abaxial com colênquima. **F.** Feixe vascular com canais secretores próximos ao xilema e pectina no espaço intercelular do floema (seta). Abreviações: co: colênquima, cs: canal secretor, ep: células epidérmicas, et: estômato, fv: feixe vascular, pt: parênquima de preenchimento, t1: tricoma secretor tipo I, x: xilema. Fonte: Produzido pela autora (2021).

### 4.2.4 Caule aéreo - crescimento primário

O caule aéreo em crescimento primário, em secção transversal, é hexagonal, ou seja, apresenta seis projeções em forma de costelas (Fig. 6A). A epiderme é uniestratificada com células relativamente pequenas e arredondadas. Os estômatos ocorrem acima das demais células epidérmicas, sendo levemente ou conspicuamente elevados (Fig. 6B). Os três tipos de tricomas descritos para a folha também foram observados no caule (Fig. 6A, 6C-D). Abaixo da epiderme ocorre uma camada de colênquima anelar, o qual aparece nas projeções em forma de cordões (Fig. 6B-D). Abaixo do colênquima observa-se o parênquima clorofiliano com seis a sete camadas de células arredondadas, com cloroplastos evidentes e poucos espaços intercelulares (Fig. 6B-D). Canais secretores ocorrem na região interna do córtex, em posição oposta à região interfascicular do cilindro vascular (Fig. 6E, seta e 6F). O cilindro vascular é do tipo eustelo com feixes colaterais (Fig. 6A e 6E). Observam-se idioblastos secretores no floema (Fig. 6G, cabeça de seta). Pectinas também podem ocorrer nos espaços intercelulares das células do floema (Fig. 6H, seta). Canais secretores também são observados na medula, próximos aos feixes vasculares (Fig. 6E, seta). Os canais secretores corticais e medulares apresentam o epitélio formado por 5-8 células (Fig. 6F).



Figura 6 - Secções transversais do caule aéreo em crescimento primário de *Mikania cordifolia*.

**A.** Visão geral mostrando formato hexagonal. **B.** Estômatos em diferentes níveis de elevação. **C.** Projeção caulinar exibindo colênquima e tricoma secretor tipo I. **D.** Projeção caulinar exibindo colênquima, tricoma secretor tipo I e tricoma secretor tipo III. **E.** Feixes vasculares e localização de canais secretores (setas). **F.** Canal secretor em detalhe. **G.** Idioblasto presente no floema (cabeça de seta). **H.** Pectinas presente no espaço intercelular do floema (seta). Abreviações: co: colênquima, ct: córtex, cs: canal secretor, ep: epiderme, et: estômato, f: floema, me: medula, t1: tricoma secretor tipo I, t3: tricoma secretor tipo III, x: xilema. Fonte: Produzido pela autora (2021).

#### 4.2.5 Caule aéreo - crescimento secundário

O caule aéreo apresenta crescimento secundário, tornando-se lenhoso (Fig. 1D) a partir do nono nó. Nas porções lenhosas (Fig. 7A-I) o caule apresenta transversalmente o formato circular, exceto por leves projeções (Fig. 7A e 7D). Em algumas regiões a epiderme ainda perdura (Fig. 7B e 7D), mas já é possível observar divisões na camada subepidérmica de forma descontínua (Fig. 7B-C), caracterizando um súber estratificado. Na porção do córtex interno é visível um anel de esclerênquima, com três a quatro camadas de esclereídes, diferenciadas a partir do parênquima cortical (Fig. 7B e 7D). Tais esclereídes apresentam diferentes formatos e tamanhos, sugerindo que ocorra expansão celular previamente à esclerificação das paredes celulares (Fig. 7B). Ainda na porção cortical mais interna é possível notar a presença de canais secretores junto à endoderme, sendo que o epitélio secretor é constituído por células parenquimáticas do córtex e por células da endoderme (Fig. 7E), o que sugere que tenham sido originados a partir de divisões periclinais da endoderme. Os canais apresentam epitélio com cinco a sete células, formando um grande lúmen (Fig. 7E) e se localizam opostos aos raios floemáticos.

Os caules aéreos lenhosos apresentam cilindro vascular com floema secundário pouco desenvolvido e amplo xilema secundário (Fig. 7A e 7D). Acima de cada porção de floema ocorrem pequenas calotas de fibras (Fig. 7D, cabeças de seta). Os raios parenquimáticos são conspícuos na porção do xilema, com duas a quatro séries de células e dilatados na porção do floema secundário (Fig. 7D, seta preta). Em algumas células do parênquima dos raios é possível notar o espessamento péctico da parede primária (Fig. 7F, setas). Os elementos de vaso do xilema secundário têm diâmetro aumentado em relação ao xilema primário. Observa-se ainda o xilema primário próximo à medula. Na medula, ocorrem células parenquimáticas arredondadas algumas com espessamento secundário, especialmente na região central (Fig. 7G, seta). Também são visíveis canais secretores com lúmen reduzido nas regiões opostas aos polos de protoxilema (Fig. 7G, cabeças de seta, 7H, canal secretor em detalhe, e 7I detalhe da localização dos canais).



Figura 7 - Secções transversais do caule aéreo em crescimento secundário de *Mikania cordifolia*.

**A.** Visão geral do caule exibindo nova conformação no formato. **B-C.** Mostrando o desenvolvimento inicial do súber estratificado e as divisões celulares irregulares (seta). **D.** Anel de esclerênquima, calota de fibras (cabeças de seta) e raios parenquimáticos. Seta preta, raios dilatados do floema secundário, seta branca, raios do xilema secundário. **E.** Canal secretor junto à endoderme com estrias de Caspary (cabeças de seta). **F.** Raios parenquimáticos com espessamento parietais pécticos (setas). **G.** Região medular com pequenos canais (cabeças de seta) próximos aos polos de protoxilema e células esclereficadas (seta). **H.** Canal secretor medular em detalhe. **I.** Detalhe da localização dos canais secretores (cabeças de seta) na medula. Abreviações: ca: câmbio, cs: canal secretor, en: endoderme, ep: epiderme, es: esclereides, fs: floema secundário, me: medula, px: protoxilema, rp: raios parenquimáticos, su: súber estratificado, xs: xilema secundário. Fonte: Produzido pela autora (2021).
#### 4.2.6 Caule estolão - crescimento secundário

Em secção transversal do estolão (Fig. 8A-G), observa-se uma estrutura com crescimento secundário conspícuo (Fig. 8A). O revestimento tem origem secundária a partir de divisões descontínuas do córtex externo, formando um súber estratificado (Fig. 8B), assim como observado no caule aéreo em crescimento secundário. Subsequentemente, o anel esclerenquimático possui em torno de oito camadas de esclereídes distribuídas em grandes grupos que são alternados por parênquima (Fig. 8A-C).

A endoderme possui células ligeiramente mais estreitas que as demais células corticais, formando uma camada destacada e junto a ela são visualizados os canais secretores do córtex (Fig. 8C-D, asterisco para canal secretor e setas para endoderme). Os canais secretores possuem grande lúmen e epitélio com cerca de dez células. O floema secundário é robusto e apresenta grupos de esclereídes conspícuos, tanto nas porções condutoras, como nos raios. Os raios parenquimáticos possuem células alongadas com parede primária com espessamento péctico e com esclereídes já diferenciadas muito próximo ao câmbio (Fig. 8A, E-F). Os raios do floema apresentam porções dilatadas, onde esses grupos de esclereídes são ainda mais conspícuos (Fig. 8A, C e E, seta). O xilema apresenta vasos de grande diâmetro (Fig. 8A), muitas vezes obstruídos por tilos (Fig. 8F) e raios amplos, cujas células apresentam espessamento péctico (Fig. 8F). A medula apresenta células parenquimáticas, canais secretores e esclerênquima central (Fig. 8G). Os canais secretores na medula apresentam epitélio com cerca de quatro células e lúmen reduzido.



Figura 8 - Secções transversais do caule estolão de Mikania cordifolia.

**A.** Visão geral mostrando expansão do crescimento secundário. **B.** Súber estratificado em detalhe. **C.** Localização do canal secretor (asterisco), da endoderme (setas) e distribuição das esclereídes. **D.** Detalhe do canal secretor e endoderme (setas). **E.** Células esclerificadas nos raios parenquimáticos (seta) do floema secundário. **F.** Xilema secundário com elementos de maior diâmetro obstruídos por tilose e raios parenquimáticos com espessamento péctico. **G.** Medula com grande porção de esclereídes na região central e pequenos canais secretores (cabeças de seta). Abreviações: ca: câmbio, cs: canal secretor, es: esclereides, fs: floema secundário, me: medula, pr: periderme, px: protoxilema, rp: raio parenquimático, su: súber estratificado, ti: tilose, xs: xilema secundário. Fonte: Produzido pela autora (2021).

#### 4.2.7 Raiz fina

A raiz fina de *M. cordifolia* apresenta a epiderme unisseriada com células pequenas e justapostas. A exoderme é unisseriada e exibe células mais volumosas e arredondadas (Fig. 9A-9B). Esses dois estratos celulares encontram-se geralmente amassados devido à delicadeza do material (Fig. 9A-C). Nesta fase não são observados pelos radiculares, indicando se tratar da região de maturação. O parênquima cortical tem cerca de cinco a seis camadas de células com tamanhos irregulares, paredes finas (Fig. 9A e C) e com espaços intercelulares conspícuos, especialmente no córtex externo (Fig. 9C, cabeças de seta). Braquiesclereídes (Fig. 9A-C) são observadas dispersas em toda a região cortical, bem como células com conteúdo denso (Fig. 9A-C, setas), possivelmente resultantes de interação de origem micológica. A endoderme possui células aproximadamente retangulares com paredes finas. O cilindro vascular apresenta organização usual de raiz do xilema e floema primários e início do crescimento secundário (Fig. 9D). Não foram localizadas estruturas secretoras nesta fase de desenvolvimento da raiz.



Figura 9 - Secções transversais da raiz fina de Mikania cordifolia.

**A.** Visão geral. **B.** Detalhe mostrando epiderme, exoderme e córtex com células de conteúdo denso, com possível interação fúngica. **C.** Detalhe mostrando células com conteúdo denso (setas), espaços intercelulares (cabeças de seta) e esclereídes no córtex. **D.** Cilindro vascular com organização usual, mostrando transição entre o crescimento primário e secundário (cabeças de setas indicam a localização do protoxilema e asterisco indicam

metaxilema). Abreviações: ct: córtex, ep: epiderme, es: esclereide, ex: exoderme, xs: xilema secundário. Fonte: Produzido pela autora (2021).

#### 4.2.8 Raiz em crescimento secundário

O espessamento da raiz em *M. cordifolia* ocorre através da instalação do câmbio e formação de uma estrutura secundária vascular usual. A epiderme e a exoderme são comprimidas e substituídas pela formação de um súber estratificado (Fig. 10A-B). O parênquima cortical apresenta inúmeras células com conteúdo denso, idioblastos fenólicos, e braquiesclereides dispersas pelo córtex, mas especialmente concentradas no córtex interno (Fig. 10A e C), ou seja, formando um anel de uma a três camadas ao redor do cilindro vascular. O cilindro vascular na fase descrita apresenta floema secundário com raios parenquimáticos bastante dilatados, enquanto o xilema secundário apresenta elementos de vaso com diâmetros variados (Fig. 10D). Nos elementos com maior diâmetro é possível notar tilose ocupando o espaço interno (Fig. 10E). A região cambial apresenta cerca de seis camadas de células iniciais. Os raios possuem espessamento de parede péctico, inclusive no xilema secundário, embora sejam menos conspícuos nessa região (Fig. 10F).



Figura 10 -Secções transversais da raiz de Mikania cordifolia em crescimento secundário.

A. Visão geral mostrando o início do espessamento, anel de esclerênquima e organização do cilindro vascular.
B. Detalhe do súber estratificado. C. Detalhe do córtex com células com conteúdo denso (cabeças de seta). D. Cilindro vascular com elementos de vaso de diferentes diâmetros e raios parenquimáticos dilatados. E. Detalhe de elemento de vaso obstruído por tilose. F. Raio parenquimático com espessamento péctico. Abreviações: ca: câmbio, ct: córtex, en: endoderme, es: esclereide, fs: floema secundário, rp: raio parenquimático, su: súber estratificado, ti: tilose, xs: xilema secundário. Fonte: Produzido pela autora (2021).

## 4.2.9 Raiz adventícia espessada - em crescimento secundário mais avançado

Constatou-se nas raízes espessadas de *M. cordifolia* o desenvolvimento de súber estratificado (Fig. 11A). Observou-se cavidades secretoras (Fig. 11B, setas e 11C), o tipo de estrutura secretora foi definida por meio de corte longitudinal da raiz. Nesta fase de desenvolvimento as cavidades são observadas no córtex, com o epitélio junto à endoderme (Fig. 11C). A endoderme claramente apresenta atividade meristemática (Fig. 11C, setas) e possivelmente forma as cavidades secretoras na raiz espessa. Em secção transversal nota-se que as cavidades secretoras podem apresentar o epitélio pluriestratificado, com duas a três camadas (Fig. 11D, asteriscos e 11E). No cilindro vascular os elementos de vaso adquirem diâmetro ainda mais amplo e o incremento de parênquima nos raios torna-se mais conspícuo (Fig. 11F). Não há presença de medula (Fig. 11G).



Figura 11 - Secções transversais da raiz de *Mikania cordifolia* em crescimento secundário (raiz espessada).

A. Súber estratificado. B. Localização das cavidades secretoras (setas) no córtex. C. Detalhe de cavidade secretora junto à endoderme. D. Cavidades secretoras com epitélio multisseriado. E. Detalhe da cavidade secretora com epitélio de duas a três camadas. F. Raios parenquimáticos dilatados. G. Detalhe mostrando protoxilema (seta), metaxilema e cilindro vascular sólido, sem formação de medula. Abreviações: cs: cavidade secretora, en: endoderme, es: esclereide, mx: metaxilema, pr: periderme, px: protoxilema, rp: raio parenquimático, su: súber, xs: xilema secundário. Fonte: Produzido pela autora (2021).

# 4.3 HISTOQUÍMICA

#### 4.3.1 Folha

Na lâmina foliar (Fig. 12A-F, 13A-G) foram observadas as seguintes estruturas secretoras: tricomas secretores, canais secretores e hidatódios. Para os tricomas, conforme a classificação adotada para este estudo e conforme a Tabela 3, os resultados apontam:

**Tipo I** - Substâncias pécticas (Fig. 12A), lipídios (Fig. 12B-C, cabeça de seta), lactonas sesquiterpênicas (Fig. 12D-E), flavonoides (Fig. 12F, seta) e cumarinas (Fig. 13A).

**Tipo II** - Substâncias lipofílicas (Fig. 12C, seta) e lactonas sesquiterpênicas (Fig. 12D, cabeça de seta).

Tipo III - Flavonoides (Fig. 12F, asterisco).



Figura 12 - Secções transversais da lâmina foliar de Mikania cordifolia.

**A.** Teste com Vermelho de rutênio. Observa-se pectina nas células apicais da célula secretora do tricoma secretor do tipo I e na parede periclinal externa da epiderme (asterisco). **B.** Teste com Sudan III. O tricoma secretor do tipo I apresenta conteúdo lipofílico e gotas de óleo no parênquima clorofiliano (setas). **C.** Teste com Vermelho neutro sob fluorescência mostrando ocorrência de substâncias lipídicas. Reação positiva nos tricomas secretores tipos I (cabeça de seta) e tipo II (seta). **D-E.** Teste com Vanilina sulfúrica, reação positiva para lactonas. **D.** Lactona nos tricomas secretores do tipo I a gotículas dispersas no parênquima clorofiliano (setas). **E.** Maior detalhe da lactona no tricoma secretor do tipo I e das gotículas dispersas no parênquima clorofiliano (setas). **F.** Teste com Cloreto de alumínio para flavonoides. Flavonoides na epiderme (cabeça de seta), nas células base do tricoma secretor tipo I (seta) e nos tricomas secretores não tipo III (asterisco). Fonte: Produzido pela autora (2020).

Nos canais secretores na lâmina foliar associados aos feixes vasculares foram observadas substâncias pécticas (Fig. 13B, setas) e substâncias lipídicas (Fig. 13C), (Tabela 3). Observouse também gotículas de substâncias lipofílicas (Fig. 12B, setas, 13D-E, setas) e, ou de lactonas (Fig. 12D-E, setas) no mesofilo. Conforme a Tabela 3, evidenciamos também a cutícula com substâncias lipídicas (Fig. 13D, cabeça de seta), paredes das células epidérmicas com substâncias pécticas (Fig. 12A, asterisco), idioblasto epidérmico com substâncias fenólicas (Fig. 13F, cabeça de seta), flavonoides nas células epidérmicas (Fig. 12F, cabeça de seta) e nas células do parênquima clorofiliano, e espessamento nas paredes das células do epitema que envolvem as traqueídes dos hidatódios com reação positiva para fenólicos (Fig. 13G).



Figura 13 - Secções transversais da lâmina foliar de Mikania cordifolia.

**A.** Teste com hidróxido de sódio evidenciando cumarinas no tricoma secretor tipo I. **B.** Teste com Vermelho de rutênio evidenciando pectina no conteúdo e epitélio dos canais secretores da nervura central. **C.** Teste com Vermelho neutro evidenciando substâncias lipofílicas no canal secretor próximo ao feixe vascular da nervura central. **D.** Teste com Sudan III com lipídios evidenciando a cutícula (cabeça de seta) e gotículas dispersas no parênquima clorofiliano (setas). **E.** Teste com Vermelho neutro com reação para substâncias lipofílicas nas células do mesofilo (setas). **F-G.** Reação com Azul de toluidina, positivo para compostos fenólicos em azul-esverdeado e para compostos pécticos, em azul-roxeado. **F.** Idioblastos fenólicos na epiderme (cabeças de seta). **G.** Região do bordo mostrando hidatódio com epitema (cabeça de seta) envolvendo as traqueídes (seta), onde se observa reação positiva para fenólicos. Fonte: Produzido pela autora (2020).

No pecíolo o tricoma secretor tipo I apresenta compostos fenólicos (Fig. 14A), lactona (Fig. 14B), compostos pécticos (Fig. 14C) e substâncias lipofílicas (Fig. 14D). O tricoma secretor tipo II apresenta lactonas (Fig. 14E) e tipo III lactona (Fig. 14B, cabeças de seta) e

flavonoides (Fig. 14F, setas). Os canais secretores apresentam substâncias pécticas (Fig. 14G, setas) e lipofílicas (Fig. 15A).



Figura 14 - Secções transversais do pecíolo de Mikania cordifolia.

**A.** Teste com Cloreto férrico indicando compostos fenólicos na célula secretora do tricoma secretor do tipo I. **B.** Teste com Vanilina sulfúrica mostrando lactona no tricoma secretor do tipo I (asterisco) e nos tricomas secretores do tipo II (cabeças de seta). **C.** Reação na cor azul-roxeado com o teste Azul de toluidina mostrando compostos pécticos na parede e conteúdo da célula secretora do tricoma secretor do tipo I. **D.** Teste com Vermelho neutro indicando substâncias lipofílicas no tricoma secretor tipo I. **E.** Teste com Vanilina sulfúrica indicando presença de lactona no conteúdo do tricoma secretor tipo II. **F.** Teste com Cloreto de alumínio para flavonoides nos tricomas secretores tipos III (setas). **G.** Teste com Vermelho de rutênio mostrando células do epitélio dos canais secretores próximos aos feixes vasculares com substâncias pécticas (setas). Fonte: Produzido pela autora (2020).

Outros tecidos como colênquima reagiram positivamente para compostos fenólicos (Fig. 15B, setas). Observou-se amido próximo dos feixes vasculares (15C, setas). Na epiderme a cutícula mostrou reação para substâncias lipofílicas (Fig. 15D, cabeça de seta) e espessamentos pécticos na epiderme (Fig. 15E, cabeça de seta). Foram observadas gotas lipofílicas (Fig. 15D, setas) e flavonoides (Fig. 15F, seta) dispersos no parênquima clorofíliano. O resumo das reações histoquímicas realizadas no pecíolo pode ser conferido via Tabela 3.



Figura 15 - Secções transversais do pecíolo de Mikania cordifolia.

**A.** Teste com Vermelho neutro para compostos lipofílicos com reação no lúmen do canal secretor. **B.** Teste com Cloreto férrico com compostos fenólicos na parede do colênquima (setas). **C.** Teste com Lugol indicando a presença de amiloplastos (setas) próximos do feixe vascular, como uma bainha amilífera incompleta. **D.** Teste com Sudan III com substâncias lipofílicas na cutícula (cabeça de seta) e em gotículas dispersas no parênquima clorofiliano (setas). **E.** Reação com Azul de toluidina com compostos pécticos em azul-roxeado no espessamento da parede da epiderme (cabeça de seta). **F.** Teste com Cloreto de alumínio com flavonoides nas células do parênquima clorofiliano (seta). Fonte: Produzido pela autora (2020).

#### 4.3.2 Caule aéreo

No caule em crescimento primário os tricomas secretores do tipo I apresentam lactonas (Fig. 16A, seta) e substâncias lipofílicas (Fig. 16B). Os tricomas secretores do tipo II apresentam lactonas (Fig. 16C). Os tricomas secretores tipo III apresentam lactonas (Fig. 16A, asteriscos), compostos pécticos (Fig. 16D, seta), compostos fenólicos (Fig. 16D-E, asterisco).

Na epiderme foram evidenciadas substâncias lipofílicas na cutícula (Fig. 16F, cabeças de seta), taninos (Fig. 16A, cabeças de seta) e outros compostos fenólicos (Fig. 16E, cabeças de seta), além de compostos pécticos nas paredes das células (Fig. 16D, cabeças de seta). Na endoderme observa-se amiloplastos (Fig. 16G, setas).



Figura 16 - Secções transversais do caule em crescimento primário de Mikania cordifolia.

**A.** Teste de Vanilina Sulfúrica com reação para lactona e para tanino. Observa-se presença de lactona nos tricomas secretores do tipo III (asterisco), nos tricomas secretores do tipo I (seta) e tanino nas células epidérmicas (cabeça de seta). **B.** Teste com Sudan III com substâncias lipofilicas com reação no conteúdo do tricoma secretor tipo I. **C.** Teste de Vanilina Sulfúrica com lactona no tricoma secretor tipo II. **D.** Teste em Azul de Toluidina mostrando compostos pécticos em azul-roxeado no espessamento das paredes epidérmicas (cabeças de seta), no espessamento de parede primária dos tricomas secretores do tipo III (seta) e observa-se também no tricoma do tipo III reação azul-esverdeada, indicando compostos fenólicos (asterisco). **E.** Teste com Cloreto férrico com reação mostrando substâncias fenólicas no conteúdo das células epidérmicas (cabeças de seta) e nos tricomas secretores do tipo III (asterisco). **F.** Teste com Sudan III com substâncias lipofilicas na cutícula (cabeças de seta). **G.** Teste com Lugol mostrando amiloplastos na endoderme (setas). Fonte: Produzido pela autora (2020).

No caule em crescimento secundário o tricoma tipo I reagiu para lipídios (Fig. 17A) e flavonoides (Fig. 17B, seta). O tricoma tipo II reagiu em diferentes células para lactona. Nas células do pescoço, subapical (Fig. 17C), no conteúdo das células (Fig. 17D, asterisco) e em suas células basais (Fig. 17D, seta). O tricoma tipo II também reagiu para lipídios (Fig. 17E). O tricoma tipo III para compostos pécticos (Fig. 17F, asterisco) e lipídios (Fig. 17G, asterisco), (Tabela 3).

Figura 17 - Secções transversais do caule em crescimento secundário de Mikania cordifolia.



**A.** Teste com Sudan III indicando substâncias lipofilicas na célula secretora no tricoma secretor tipo I. **B.** Teste com Cloreto de alumínio para flavonoides no tricoma secretor tipo I (seta). **C-D.** Teste com Vanilina sulfúrica com reação positiva para diferentes células do tricoma secretor tipo II. **C.** Lactona nas células do pescoço (subapical). **D.** Lactonas no conteúdo das células (asterisco) e em suas células basais (seta). **E.** Teste com Sudan III com substâncias lipofilicas no tricoma secretor tipo II e na cutícula (cabeças de seta). **F.** Reação com Azul de toluidina com substâncias pécticas em azul-roxeado nas paredes da epiderme (cabeça de seta), colênquima e nas paredes dos tricomas não secretor do tipo III (asterisco). **G.** Teste com Sudan III com substâncias lipofilicas na cutícula (cabeça de seta) das células epidérmicas e tricomas secretor tipo III (asterisco). **H.** Teste com Vermelho de rutênio com substâncias pécticas nas paredes das células epiteliais dos canais secretores na região da medula (setas). **I.** Reação com Azul de toluidina mostrando substâncias pécticas no epitélio do canal secretor (em detalhe). Fonte: Produzido pela autora (2020).

Os canais secretores no caule em crescimento secundário presentes na medula reagiram positivamente para substâncias pécticas nas paredes das células epiteliais (Fig. 17H, setas e 17I, Tabela 3).

Além das estruturas secretoras, observamos amido na endoderme (Fig. 18A, setas), o acentuado espessamento péctico na epiderme (Fig. 17F e 18B, cabeças de seta,), além do colênquima (Fig. 17F e 18B) e lipídios na cutícula (Fig. 17E e G, cabeças de seta).



Figura 18 - Secções transversais do caule em crescimento secundário de Mikania cordifolia.

**A.** Teste com Lugol mostrando amiloplastos nas células da endoderme (setas). **B.** Teste com Vermelho de rutênio forte indicando substâncias pécticas no espessamento da parede periclinal externa das células epidérmicas (cabeça de seta) e no colênquima. Fonte: Produzido pela autora (2020).

## 4.3.3 Raiz fina e raiz em crescimento secundário

Para a raiz fina e em crescimento secundário de *M. cordifolia,* não foram observadas estruturas secretoras, mas foram identificadas reações histoquímicas positivas para compostos fenólicos no córtex (Fig. 19A-B, setas), além de substâncias pécticas no córtex (Fig. 19C, setas). A endoderme apresentou lipídios (Fig. 19D, setas) e a exoderme, flavonoides (Fig. 19E, seta).



Figura 19 - Secções transversais da raiz de Mikania cordifolia.

A. Teste com Cloreto férrico indicando presença de compostos fenólicos nas células da região cortical (seta).
B. Teste com Azul de toluidina na cor azul-esverdeado com presença de compostos fenólicos no córtex (setas).
C. Teste com Vermelho de rutênio com pectina na região cortical (setas).
D. Teste com Vermelho neutro com substâncias lipofílicas na endoderme.
E. Teste com Cloreto de alumínio com reação para flavonoides na exoderme (seta).
Fonte: Produzido pela autora (2020).

## 4.3.4 Raiz espessada

Como sumarizado na Tabela 3, as cavidades secretoras da raiz espessa apresentam substâncias pécticas (Fig. 20A, seta) e lipofílicas (Fig. 20B, setas e 20C, seta e cabeça de seta). Outras reações foram observadas nos tecidos da raiz em crescimento secundário mais avançado, tais como espessamentos pécticos (Fig. 20D, seta) no parênquima radial do xilema e floema e compostos fenólicos nos raios parenquimáticos (Fig. 20E, setas).



Figura 20 - Secções transversais da raiz espessada de Mikania cordifolia.

**A.** Teste com Vermelho de rutênio mostrando substâncias pécticas no epitélio e conteúdo das cavidades secretoras (setas). **B.** Teste com Sudan III mostrando substâncias lipofílicas no epitélio das cavidades secretoras (setas). **C.** Teste com Vermelho neutro indicando substâncias lipofílicas no epitélio secretor (cabeça de seta) e no conteúdo (seta) das cavidades secretoras. **D.** Reação com Azul de toluidina mostrando compostos pécticos em azul-roxeado nas células do parênquima radial do xilema e floema secundário (setas). **E.** Teste com Cloreto férrico com substâncias fenólicas nos raios parenquimáticos (setas). Fonte: Produzido pela autora (2020).

			Wild				
Reagente	Substância	Lâmina foliar	Pecíolo	Caule cresc. primário	Caule cresc. secundário	Raiz	Raiz espessa
Azul de Toluidina	Compostos fenólicos	EP		T III		СХ	
Azul de Toluidina	Compostos pécticos	CS	EP, T I	EP, T III	EP, T III, CO, CS		PR
Cloreto férrico	Compostos fenólicos		CO, T I	EP, T III		СХ	PR
Cloreto de alumínio	Flavonoides	T I, EP, T III, PC	T III, PC		ΤI	EX	
Hidróxido de sódio	Cumarinas	ΤI					

Tabela 3 - Testes histoquímicos realizados nos órgãos vegetativos de Mikania cordifolia (L.f.) Wild

Lugol	Amido		EN	EN	EN		
Sudan III	Substâncias lipofílicas	CU, PC, T I	CU, PC	CU, T I	T I, T II, CU, T III		CV
Vermelho de rutênio	Compostos pécticos	CS, EP, T I	CS		EP, CS, CO	СХ	CV
Vanilina sulfúrica	Taninos			EP			
Vanilina sulfúrica	Lactonas sesquiterpên icas	T I, T II, PC	T III, T I, T II	T III, T I, T II	T II		
Vermelho neutro	Lipídios	CS, T I, T II, PC	CS, T I			EN	CV

Canal secretor (CS), Cavidade secretora (CV), Colênquima (CO), Córtex (CX), Parênquima clorofiliano (PC), Cutícula (CU), Epiderme (EP), Endoderme (EN), Exoderme (EX), Hidatódio (HI), Parênquima de preenchimento (PP), Parênquima radial (PR), Tricoma secretor tipo I (T I), Tricoma secretor tipo II (T II), Tricoma secretor do tipo III (T III). Fonte: Produzido pela autora (2020).

# 4.4 FITOQUÍMICA

Conforme análise de RMN <sup>1</sup>H são apresentados os espectros obtidos para os extratos de *M. cordifolia* (Fig. 21 e 22). Nas figuras 22, 23, 24, 25 e 26 são apresentados os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais.

Nas Figuras 21 e 22, em uma visão geral do espectro, foi possível verificar semelhanças e diferenças químicas entre os extratos de cada órgão vegetal avaliado de *M. cordifolia* (raiz, caule aéreo, caule estolão, flores e folhas).

Figura 21 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) correspondente aos extratos dos órgãos vegetais de *Mikania cordifolia*. Na sequência: raiz, caule aéreo, caule estolão, flores e folhas.



Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Figura 22 - Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) correspondente aos extratos dos órgãos vegetais de *Mikania cordifolia*. Na sequência: raiz, caule aéreo, caule estolão, flores e folhas.



Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Com base nos dados apresentados na Figura 23, podem ser observados sinais correspondentes aos hidrogênios de anéis aromáticos. Para a espécie avaliada foram observados sinais alargados e de multiplicidade indefinida em  $\delta$  7,05 e 7,65 ppm para as raízes de *M. cordifolia.* Para o gênero botânico em estudo estes sinais são sugestivos da presença de metabólitos como flavonoides, cumarinas ou outras moléculas com núcleo aromático.

Figura 23 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 6,5 e 8,1 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais.



Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Na Figura 24, foram verificados sinais pouco definidos, possivelmente sobrepostos, na região de  $\delta$  4,54; 5,27; 5,6; 5,9 e 6,28 ppm. Os sinais próximos a  $\delta$  5,0 ppm podem sugerir hidrogênios próximos a grupamentos éster, já os sinais entre  $\delta$  5,4 e 5,3 ppm sugerem hidrogênios ligados a carbonos que formam duplas ligações (R-CH=CH-R). De forma geral, diterpenos de esqueleto caurano apresentam sinais referentes a dupla ligação exocíclica entre  $\delta$  4,56 e 4,88 ppm na forma de simpleto largo com integração para 2H. Diterpenos com esqueleto labdano apresentam a dupla ligação exocíclica entre  $\delta$  4,91 e 4,63 ppm na forma de simpleto com integração para 2H. Sinais acima de 6 ppm podem estar associados a núcleos aromáticos.

Figura 24 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 4,5 e 6,5 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais.



Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Na Figura 25 foram encontrados deslocamentos químicos ( $\delta$ ) na região espectral correspondente aos núcleos de hidrogênios próximos a éteres, hidroxilas e aminas terminais.

Figura 25 - Região espectral de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) compreendida entre 2,5 e 4,5 ppm para *Mikania cordifolia*. Apresentando os possíveis deslocamentos químicos de grupos funcionais.



Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Na Figura 26 observa-se a sobreposição dos sinais, sendo portanto, de difícil interpretação. Esta região do espectro de RMN <sup>1</sup>H é sugestiva ao deslocamento químico de prótons de alcanos, alcenos e alcinos.





Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Na sequência observamos a Tabela 4 (com os dados experimentais de deslocamento químico ( $\delta$ ) e multiplicidade dos sinais obtidos por RMN <sup>1</sup>H para os extratos de cada órgão vegetal *M. cordifolia*. Assim, os dados experimentais foram correlacionados com os dados de revisão da literatura.

Tabela 4 - Dados de deslocamento químico ( $\delta$ ) e multiplicidade dos sinais de RMN <sup>1</sup> H na região espectral de metabólitos secundários
presentes no gênero Mikania, conforme dados de revisão da literatura. Sendo, (+) representando a presença do sinal com deslocamento
químico ( $\delta$ ) e multiplicidade na região espectral de RMN <sup>1</sup> H dos respectivos metabólitos e (-) representa ausência dos mesmos.

							111					
	Dados M. co	amos ordife	amostrais <i>rdifolia</i> Esteróides		Diterpenos	Diterpenos Cu		Lactonas sesq	uiterpênicas	Ácidos graxos		
Folhas	Flores	ule estolão	ule aéreo	Raiz	β-sistosterol e Estigmasterol (LIMA NETO; GRAMOSA; SILVEIRA, 2008)	Ácido caurenóico (LIMA NETO; GRAMOSA; SILVEIRA, 2008)	Cinamoil grandiflório (BERTOLUCCI, 2009)	Benzoil grandiflórico (BERTOLUCCI, 2009)	2H-1- benzopiran2- one (SANTOS, 2018)	8-epi- mikanokryptin (VASQUES et al., 2014)	11Hβ-11,13- dihydromicr antholide (VASQUES et al., 2014)	Ácidos oleico e linoleico (COLZATO et al., 2008)
		Ca	Ű		δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)	δ em ppm (multiplicidade)
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	0.78 (d, J = 6.4)	-	-
+	+	+	+	+	-	0,90 (s)	-	-	-	-	-	0,9-0,8 (m)
-	-	-	-	-	-	-	0,99 (s)	0,99 (s)	-	-	-	
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1,15-1,40 (m)
-	-	-	-	-	-	-	1,21 (s)	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	1,23 (s)	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	1,24 (s)	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.27 (d, J = 7.0)	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1,50-1,70 (sl)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.87 (dd, J = 2.0, 0.4)	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1,90-2,10 (m)

#### LITERATURA

-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.91 (dddd, J = 11.5, 7.0, 4.5, 4.0)	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.10 (m)	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,18 (sl)	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2,20-2,35(m)
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.23 (m)	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.24 (m)	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.25 (m)	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.27 (m)	2.27 (m)	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2.33 (m)	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.36 (dd, J = 18.8, 2.0)	-	-
-	-	-	-	-	-	2,40 (s)	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.43 (dd, J = 18.8, 6.0)	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.55 (m)	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2,70-2,80 (m)
+	+	+	+	+	-	-	2,82 (s)	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	3.01 (s)	-	-
+	+	+	+	+	3,48-3,55 (m)	-	-	-	-		-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.49 (dddd, J = 6.0, 2.8, 2.8, 2.4)	-	-

-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.9 (m)	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	4.10 (d, J = 12.0)	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	4,10-4,32 (m)
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	4.13 (d, J = 12.0)	-
+	+	+	+	+	-	4,74 (s)	-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	4,80 (s)	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.94 (ddd, J = 8.4, 8.4, 6.0)	-	-
+	+	-	-	-	5,02; (dd, J = 8,4)	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-		-	-	-	-	5.03 (s)	-	-
-	-	-	-	-	-	-	5,07 (s)	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	5,10 (s)	-	-	-	-
+	+	-	-	-	5,16 (dd, <i>J</i> = 15,2)	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	5,18 (s)	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	-	5,20 (s)	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	5,20-5,26(m)
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	5,26-5,20 (m)
+	+	+	+	+	5,34-5,35 (m)	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.40 (brd, J = 8.5)	-

-	+	+	+	+	-	-	5,41 (s)	-	-	-	-		-
-	+	+	+	+	-	-	-	5,52 (s)	-	-	-		-
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.63 (dd, J = 9.0, 3.5)		-
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.85 (d, J = 2.4)			-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.45 (d)	-	-	-	
+	+	+	+	+	-	-	6,47 (d, J=16)	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.56 (d, J = 2.8)	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.24 (m)	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	7,38 (m)	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.40 (m)	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	7,53 (m)	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.60 (m)	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	7,69 (d, J=16)	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	+	-	-	-	-	7.73 (d)	-	-	-	

Legenda: (s) simpleto, (sl) simpleto largo, (d) dupleto, (dd) duplo dupleto, (m) multipleto. Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Na Tabela 5, observamos de forma resumida os sinais espectrais característicos (deslocamento químico,  $\delta$ ) para cada classe de metabólitos secundários sugeridas para *M*. *cordifolia*.

Órgão vegetal	Classes de substâncias e sinais espectrais característicos em ppm (δ)										
	Diterpeno caurano	Esteroides	Substâncias metoxiladas	Derivados fenólicos	Ácidos graxos						
Folhas	0,90 (s), 1,24 (s), 4,74(s) e 4,80(s)	3,48-3,55 (m), 5,34-5,35 (m), 5,02; (dd, J = 8,4), 5,16 (dd, J = 15,2)			0,9-0,8 (m), 1,15-1,40 (m), 1,50-1,70 (sl), 1,90-2,10 (m), 2,20-2,35(m), 2,70-2,80 (m), 4,10-4,32 (m), 5,20-5,26(m), 5,26- 5,20 (m)						
Flores	0,90 (s), 1,24 (s), 4,74(s) e 4,80(s)	3,48-3,55 (m), 5,34-5,35 (m), 5,02; (dd, J = 8,4), 5,16 (dd, J = 15,2)	3,8-3,6 (s)		0,9-0,8 (m), 1,15-1,40 (m), 1,50-1,70 (sl), 1,90-2,10 (m), 2,20-2,35(m), 2,70-2,80 (m), 4,10-4,32 (m), 5,20-5,26(m), 5,26- 5,20 (m)						
Caule estolão	0,90 (s), 1,24 (s), 4,74(s) e 4,80(s)	3,48-3,55 (m), 5,34-5,35 (m),			0,9-0,8 (m), 1,15-1,40 (m), 1,50-1,70 (sl), 1,90-2,10 (m), 2,20-2,35(m), 2,70-2,80 (m), 4,10-4,32 (m), 5,20-5,26(m), 5,26- 5,20 (m)						
Caule aéreo	0,90 (s), 1,24 (s), 4,74(s) e 4,80(s)	3,48-3,55 (m), 5,34-5,35 (m),			0,9-0,8 (m), 1,15-1,40 (m), 1,50-1,70 (sl), 1,90-2,10 (m), 2,20-2,35(m), 2,70-2,80 (m), 4,10-4,32 (m), 5,20-5,26(m), 5,26- 5,20 (m)						
Raiz	0,90 (s), 1,24 (s), 4,74(s) e 4,80(s)	3,48-3,55 (m), 5,34-5,35 (m),	3,8-3,6 (s)	7.73 (d)	0,9-0,8 (m), 1,15-1,40 (m), 1,50-1,70 (sl), 1,90-2,10 (m), 2,20-2,35(m), 2,70-2,80 (m), 4,10-4,32 (m), 5,20-5,26(m), 5,26- 5,20 (m)						

Tabela 5 - Classes de metabólitos secundários sugeridas para cada órgão vegetal de M. cordifolia e os sinais espectrais característicos (deslocamento químico,  $\delta$ ). RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3).

Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

Nas Figuras 27 e 28 são apresentados os espectros de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl<sub>3</sub>) obtidos dos extratos brutos de *M. cordifolia* em comparação ao padrão de cumarina, visto a importância deste marcador para o gênero *Mikania*.



Figura 27 - Sobreposição dos espectros de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) de Mikania cordifolia ao padrão de cumarina.

Figura 28 - Ampliação da região entre 6 e 8 ppm, apresentando a sobreposição dos espectros de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl3) de Mikania cordifolia ao padrão de cumarina.



Fonte: Departamento de Farmácia/UFSC (2020).

# 5 DISCUSSÃO

# 5.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS

As espécies de *Mikania* são normalmente muito semelhantes entre si, ou seja, apresentam dificuldade de identificação e sua classificação é normalmente determinada apenas pelos detalhes nas inflorescências (RITTER; MIOTTO, 2005). Para *M. cordifolia*, a base foliar cordata, ramos hexagonais e capítulos dispostos em corimbos são alguns dos caracteres que auxiliam na identificação da espécie (RITTER; MIOTTO, 2005). Embora a morfologia de *Mikania* seja descrita por Ritter e Miotto (2005) e relatada em outros estudos (COLARES, 2010; BINFARÉ; FALKENBERG, 2016; ALMEIDA et al., 2017), grande parte destas investigações estão voltadas apenas para as regiões aéreas, havendo pouca informação acerca do sistema subterrâneo para o gênero, o que motivou a descrição de todo o corpo vegetativo de *M. cordifolia*.

Os indivíduos de M. cordifolia aqui analisados, apresentaram além dos ramos fotossintetizantes hexagonais com folhas cordadas, caules espessos lignificados, crescendo paralelamente ao solo e com raízes adventícias, o que classificamos como caule do tipo estolão. De acordo com Bell (1991), o estolão cresce ao longo da superfície do substrato ou através de detritos da superfície, apresentando raízes adventícias que geralmente emergem dos nós. Segundo Appezzato-da-Glória e Cury (2011), M. cordifolia (ocorrente no cerrado) apresentou xilopódio, além de raízes adventícias. Em contrapartida, em nosso estudo, não foi observado xilopódio no sistema subterrâneo de M. cordifolia (ocorrente na restinga), apenas um sistema radicular axial inicial e raízes adventícias tanto finas, quanto espessas. Na restinga, onde as populações podem formar grupos vegetais densos, cobrindo a areia (FALKENBERG, 1999), M. cordifolia dispõe de um sistema caulinar com dupla estratégia adaptativa. Na região aérea, os ramos jovens e fotossintetizantes ganham espaço ao se apoiar nas espécies vizinhas, enquanto na região em contato com o solo, o caule estolão, percorre o substrato se espalhando, podendo conter raízes e fixar clones em novos pontos, ocupando maior área para dispersão. Essas estratégias podem ser importantes para plantas de ambiente litorâneo, as quais ficam expostas à erosão, pois assim podem garantir sua permanência e propagação vegetativa (HESP, 1991; GUIMARÃES, 2006).

*Mikania cordifolia* apresenta ampla distribuição e, no ambiente de restinga, não foi registrado xilopódio. Assim é possível que a espécie apresente grande plasticidade morfológica e fisiológica em distintas condições ambientais. Appezzato-da-Glória e Cury (2011) e

Tertuliano e Figueiredo-Ribeiro (1993) investigaram a morfologia e a anatomia desta espécie em locais com incidência de fogo e grande estresse hídrico, e relacionam a presença de xilopódio a uma estratégia de resistência da espécie às condições citadas. A inexistência de fogo na restinga pode estar relacionada à ausência do xilopódio. As estruturas encontradas, caule estolão e sistema radicular composto especialmente por raízes adventícias espessas, possivelmente são as estratégias que habilitam a espécie a um ambiente cujo solo é móvel e bem drenado.

# 5.2 ASPECTOS ANATÔMICOS E PAPEL FUNCIONAL DAS ESTRUTURAS

A folha de *M. cordifolia* analisada aqui é anfiestomática, o que é esperado para ambientes xéricos, com alta exposição solar (WAGNER, 1991), pois a presença de estômatos na face adaxial facilita a difusão de CO<sub>2</sub> no interior do mesofilo (BOEGER; GLUZEZAK, 2006), assim como os estômatos estarem elevados em relação às demais células epidérmicas também pode favorecer as trocas gasosas (CICCARELLI et al., 2009; DEMÉTRIO et al., 2020). Em *M. cordifolia* os estômatos são visualmente mais frequentes na face abaxial, o que sugere estratégia de redução da perda de água pela folha. Já o número reduzido de estômatos na face adaxial de *M. cordifolia* pode sugerir que os mesmos não sejam identificados e a folha seja usualmente classificada como hipoestomática por alguns autores (COLARES, 2010; ALMEIDA et al., 2017).

A lâmina foliar, o pecíolo e os caules jovens de *M. cordifolia* são cobertos por tricomas, os quais se apresentam em diversidade considerável. Tal característica pode estar relacionada com a proteção destes órgãos imaturos contra herbívoros através das substâncias repelentes secretadas pelos tricomas ou pela barreira física que representam nestes órgãos. Resultados semelhantes foram observados por Lusa e colaboradores (2016), em espécies de Vernonieae (Asteraceae), com ocorrência em campos rupestres, e tais estratégias são pontuadas por Werker (2000) em sua revisão sobre tricomas. A pubescência além de auxiliar na detenção de herbívoros, também pode auxiliar no controle de perda de água, na reflexão da radiação intensa e na regulação da temperatura, fatores comuns em ambientes abertos e intensamente ensolarados (WAGNER, 1991; JANAĆKOVIĆ et al., 2019). Além disso, tricomas glandulares podem estar envolvidos com a produção de substâncias repelentes que consequentemente protegem a planta como um todo (WAGNER, 1991; JANAĆKOVIĆ et al., 2019), já que a produção de órgãos é muito custosa para as plantas, especialmente aquelas que ocorrem em ambientes com mais fatores estressantes.

Os tricomas não glandulares auxiliam na proteção e podem proteger especificamente os tricomas glandulares, conservando as substâncias já secretadas por mais tempo no órgão, ou conservando a capacidade de síntese de substâncias (LUSA et al., 2015). Além disso, os tricomas glandulares também podem ser protegidos pelo fato de estarem afundados (LUSA et al. 2018). Em *M. cordifolia* os tricomas secretores do tipo I ocorrem em depressões epidérmicas e são rodeados por longos tricomas, os tricomas tipo III. Os tricomas do tipo III podem atuar também no sentido da conservação das substâncias secretadas pelos demais tricomas. Além disso, os tricomas tipo I apresentam paredes suberizadas, o que de acordo com WERKER (2000) impede o refluxo apoplástico de substâncias secretadas.

Os tricomas secretores I e II são estruturas comuns no gênero Mikania (BUDEL et al., 2009; ALMEIDA et al., 2017; MILAN; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; SCHWEIKERDT; WALT, 1973; SOLEREDER, 1908). No presente estudo, utilizamos principalmente a morfologia dos tricomas para a sua classificação, visto que os tricomas secretores (I, II e III) secretam mais de um tipo de substância. Assim, o tricoma secretor do tipo I reagiu positivamente para seis tipos de substâncias (compostos fenólicos, compostos pécticos, substâncias lipofilicas, flavonoides, cumarina e lactonas sesquiterpênicas). O tricoma secretor do tipo II reagiu para substâncias lipofílicas e lactonas sesquiterpênicas. Já o tricoma do tipo III, considerado secretor apesar de não apresentar células tipicamente glandulares, apresentou reações semelhantes com as substâncias observadas no secretor de tipo I, com exceção da presença de cumarinas. Assim, podemos considerar que os tricomas em M. cordifolia possuem grande capacidade de secreção. Foi observada a síntese de substâncias lipofílicas, que podem estar relacionadas a terpenos, incluindo óleos essenciais, tal como também observado por Wagner (1991) em sua revisão sobre tricomas secretores. A presença de lipídios em tricomas secretores pode servir como barreira química, impedindo a herbivoria (WERKER, 2000) e a mesma função pode ser atribuída ao material lipofílico sintetizado em espaços secretores internos (DA SILVA; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2014).

Em secção transversal, canais e cavidades secretoras muitas vezes são indistintos, sendo necessário visualizá-los em mais de um plano de secção para uma determinação segura (FERNANDES, 2016). Deste modo, em *M. cordifolia,* as estruturas secretoras internas próximas aos feixes vasculares na nervura central da folha e nos feixes vasculares com extensão de bainha na lâmina foliar, bem como aquelas junto aos feixes vasculares no pecíolo, são canais secretores, conforme apontado também nos trabalhos de Colares (2010) e Almeida et al. (2017), pois possuem lúmen mais alongado em secção paradérmica (ESAU, 1965; FAHN, 1979). As substâncias localizadas nos canais secretores da folha *M. cordifolia* indicam compostos pécticos

e lipofílicos, os quais podem atuar na defesa contra herbivoria (ANDERBERG et al., 2007; (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2008)

A presença de lipídios em *M. cordifolia* também foi observada na cutícula, em gotículas no parênquima clorofiliano e no canal secretor da folha, histolocalizações já reportadas no gênero *Mikania* por Amorim; Ferreira e Fleury (2017).

*Mikania cordifolia* apresenta a lâmina foliar com margem inteira ou um pouco denteada. Dentes foliares podem ser associados a três tipos de glândulas: hidatódios, nectários e coléteres (RIOS; DALVI, 2020). Os hidatódios são comuns em Asteraceae (LERSTEN; CURTIS, 1985) e foram observados neste trabalho com estrutura semelhante a outras espécies da família (LERSTEN; CURTIS, 1985; CLARO, 1994; CASTRO; LEITÃO-FILHO; MONTEIRO, 1997; MELO-DE-PINNA, 2004; MILAN; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; CICCARELLI et al., 2009). Em *M. cordifolia* o hidatódio apresenta poro aberto e câmara 'subestomática' distinta. Os poros de origem estomática permanecem constantemente abertos (ESAU, 1965; FAHN, 1979; DA SILVA; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2014). Em ambientes sob estresse salino, como a restinga, as plantas com hidatódios podem aumentar a concentração de sódio no fluido de gutação (HOSSAIN; MATSUYAMA; KAWASAKI, 2016), evitando o acúmulo de minerais em plantas de ecossistema de dunas (CICCARELLI et al., 2009), o que representa uma importante estratégia de adaptação nas populações de *M. cordifolia* ocorrentes no ecossistema de restiga.

Além disso, em ambiente xérico, como é o caso da restinga onde ocorre *M. cordifolia*, as adaptações estão normalmente voltadas para eficiência fotossintética, como a posição e distribuição de estômatos, aliadas aos espaços intercelulares reduzidos no mesofilo e à presença de tricomas. Tais características promovem a restrição dos vapores de água interna e externamente na folha, internamente devido a redução de espaços intercelulares no mesofilo e externamente pela cobertura de tricomas na superfície da folha (BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002).

Por se tratar de liana, *M. cordifolia* está submetida a tensões mecânicas, visto que seus caules aéreos tendem a se apoiar em plantas circunvizinhas e estão submetidos a exposição ao vento. A presença do colênquima nos órgãos em crescimento primário fornece flexibilidade conferindo adaptação vantajosa para este tipo de hábito, sem danificar os demais tecidos (LEROUX, 2012). Por outro lado, lianas possuem hábito escalador e extensa área condutora, portanto, necessitam de um sistema de condução de água seguro, o que é proporcionado por elementos de vaso maiores e mais largos associados a pequenos vasos (LIMA; PACE; ANGYALOSSY, 2010; LIMA, 2012). Vasos de tamanho aumentado e com tiloses no seu

interior foram observados nos caules de *M. cordifolia*, o que demonstra a adaptação da espécie à condição citada.

Angyalossy e colaboradores (2012), comparam o desenvolvimento entre árvores e lianas e mencionam que lianas crescem duas vezes mais que árvores na estação chuvosa e sete vezes mais em estações secas. Os autores explicam também que a capacidade das lianas em expandir caules, folhas e flores em condições de seca se dá pela habilidade em armazenar água e nutrientes no parênquima não lignificado de seus caules (ANGYALOSSY et al., 2012). Após os eventos de floração e frutificação, lianas perdem sua biomassa aérea, permanecendo apenas através de sistemas subterrâneos, onde as reservas se alocam durante a fase sem folhas (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CURY, 2011; ANGYALOSSY et al., 2012). Através de nossas análises, as reservas de carboidratos foram localizadas apenas em escassos amiloplastos na endoderme do pecíolo, do caule em crescimento primário e em crescimento secundário, o que pode estar relacionado à época das coletas do estudo, realizadas em período de alta rebrota e de emissão de flores como sugerido por Appezzato-da-Glória e Cury (2011). Contudo a presença de parênquima com espessamento péctico, sugere que o armazenamento nesse caso se relacione à água, o que é fundamental no ambiente restinga.

Outra característica marcante e adaptativa em lianas é a presença de variação cambial. Essas plantas podem apresentar a organização do sistema vascular de diversas formas, inclusive é possível observar a combinação de mais de uma variação cambial no mesmo sistema vascular, o que confere belos arranjos anatômicos nos caules lianescentes. No caso de *M. cordifolia*, o câmbio vascular produz xilema secundário internamente e floema secundário externamente, com raios parenquimáticos largos, tanto do xilema quanto do floema, produzidos pelo câmbio interfascicular, o que delimita a atividade cambial como variante. Alguns autores denominam esta variação cambial como "xilema em placas" (CARLQUIST, 2001) e outros como "elementos axiais separados por raios" (ANGYALOSSY et al., 2012). Este tipo de variação cambial, onde a porção fascicular produz elementos axiais e a porção interfascicular apenas os elementos radiais, também pode ser observada no trabalho de Trueba et al. (2015) com *Aristolochia* L.

A formação de raízes adventícias poderia ser prejudicada em caules com maior lenhosidade, pois estes contêm tecidos mais lignificados e esclerificados (ESAU, 1965). No entanto, encontramos raízes adventícias associadas ao estolão espessado em crescimento secundário. Também foi em caules lenhosos de *Mikania glomerata* que Negrelle e Doni (2001) constataram maior aumento de raízes e brotos. Isso poderia ser explicado porque órgãos mais maduros possuem mais reservas que sustentam o crescimento desses órgãos (BOEGER; ALQUINI; NEGRELLE, 2004) e especialmente porque através de parênquima primário (cortical) ou secundário (vascular), podem ser capazes de gerar novos órgãos, como já observado em rebrotes epicórmicos (BURROWS, 2002, 2008).

Nas raízes adventícias, as braquiesclereídes isoladas ou formando um anel no córtex conferem sustentação, mas também podem agir como barreiras mecânicas para a emissão de raízes laterais (BOEGER; ALQUINI; NEGRELLE, 2004; LIMA et al., 2011). Por outro lado, as células parenquimáticas do córtex de *M. cordifolia* exibem compostos fenólicos, que além de representar uma proteção do órgão na defesa contra agentes externos, podem estar relacionados com a formação de raízes adventícias, em consequência de sua atuação antioxidante, inibindo a oxidação no ácido indol acético (BOEGER; ALQUINI; NEGRELLE, 2004). As raízes adventícias podem ainda surgir de primórdios dormentes e se desenvolverem a partir do estímulo ao crescimento (ESAU, 1965). Esta estratégia de formação de raízes adventícias, aliada a capacidade gemífera dos estolões, pode estar relacionada com a manutenção e regeneração da espécie na restinga, assim como proposto por Appezzato-da-Glória e Cury (2011) para as espécies sazonais de Asteraceae do cerrado.

No crescimento secundário de caules e raízes de *M. cordifolia*, o revestimento de origem secundária não se dá por meio de uma periderme, pois não há felogênio distinto, mas observa-se que as células se dividem de forma descontínua, caracterizando um súber estratificado. Este revestimento é composto por divisões celulares na região do córtex, que, após a sua diferenciação, se tornam suberizadas (BOMBO et al., 2014; DA SILVA; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2014; LUSA et al., 2018; LUSA; LOEUILLE; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2014; LUSA et al., 2018; LUSA; LOEUILLE; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2018). Além disso, sugerimos que a breve suberização das raízes proporciona resistência contra patógenos (DICKSON, 2000), já que observamos fungos apenas na fase de raiz fina e não mais nas fases posteriores das raízes, quando o súber estratificado já está presente.

Alguns estudos na família apuraram a presença de canais secretores em raízes (OLIVEIRA et al., 1986; MACHADO et al., 2004; DA SILVA; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2014; JANAĆKOVIĆ et al., 2019). No entanto, nesse estudo observamos estruturas do tipo cavidades secretoras nas raízes mais espessadas de *M. cordifolia*, ou seja, nas raízes onde o floema secundário se encontra bem desenvolvido. Outros autores como Fritz e Saukel (2011), mencionam a ocorrência deste tipo de estrutura nos órgãos subterrâneos de Asteraceae. *Mikania corfolia* também possui substâncias lipofílicas presentes nestas cavidades e novamente, este recurso pode estar atuando na prevenção contra ataques de herbívoros (DA SILVA; HAYASHI; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2014). Já os idioblastos nas raízes contendo
compostos fenólicos podem ser uma resposta ao déficit hídrico, contribuindo na conservação de água (BOSABALIDIS; KOFIDIS, 2002; LUSA et al., 2014).

## 5.3 ASPECTOS FITOQUÍMICOS

A partir da revisão da literatura foram elencados os principais metabólitos secundários descritos para o gênero *Mikania*, que utilizaram a técnica de RMN <sup>1</sup>H para elucidação estrutural (Anexo A). Assim, são descritas as seguintes classes de metabólitos: diterpenos, como o ácido caurenóico e derivados cauranos para Mikania laevigata, M. glomerata (BERTOLUCCI, 2009) e *M. lanuginosa* (SILVA, 2000); diversos triterpenos, entre eles lupenona, lupeol, friedelina, pseudotaraxasterol e taraxasterol, acetato de  $\alpha$  e  $\beta$ -amirina em *M. cordifolia* (DE OLIVEIRA; GREGORIO; DE OLIVEIRA, 2007); esteroides como estigmasterol e  $\beta$ -sitosterol em M. cordifolia (DE OLIVEIRA; GREGORIO; DE OLIVEIRA, 2007); derivados dos ácidos cinâmicos em M. glomerata (ABREU; SANTOS; KAISER, 2007; SANTOS, 2018); flavonoides patuletina, canferol, quercitina e seus derivados heterosídeos, metoxiflavonas (3,3',5-tri-hidroxi-4',6,7-trimetoxiflavona) em М. laevigata (3,5-di-hidroxi-4',6,7trimetoxiflavona) e em M. cordata (COUTINHO; GONÇALVES; MARCUCCI, 2020).

Segundo Santos (2018) e Coutinho et al. (2020), espécies do gênero *Mikania* apresentam altas concentrações de diterpenos, com destaque para os derivados do esqueleto labdano, pimarano e caurano. Dentre estas classes, Silva (2000) isolou das partes aéreas de *Mikania lanuginosa* o diterpeno ácido caurenóico. De forma geral, comparando os dados da literatura com os dados obtidos experimentalmente aqui, sugere-se a presença de derivados do diterpeno caurano em *M. cordifolia*. Diterpenos são substâncias lipofílicas e conforme a caracterização dos testes histoquímicos, substâncias lipofílicas foram observadas em todos os órgãos investigados de *M. cordifolia*.

Fitoesteróis estão presentes em aproximadamente 10% das espécies de *Mikania*, representados pelo estigmasterol e sitosterol. Estes compostos são descritos nas partes aéreas de *Mikania micrantha*, *M. glomerata*, *M. cordata* e *M. cordifolia*, entre outras (COUTINHO; GONÇALVES; MARCUCCI, 2020). Bertolucci (2009) descreve para a espécie *M. glomerata* e *M. leavigata* a presença de uma mistura dos esteroides  $\beta$ -sistosterol e estigmasterol. Os sinais observados neste estudo possivelmente correspondem igualmente a uma mistura dos esteroides  $\beta$ -sistosterol e estigmasterol. Esteroides são substâncias lipofílicas, e, portanto, podem estar relacionados às estruturas secretoras e tecidos indicados pelos testes histoquímicos nos órgãos avaliados neste estudo.

As cumarinas foram observadas no tricoma secretor do tipo I, na lâmina foliar, através dos testes histoquímicos e são descritas como sendo um dos principais grupos de metabólitos secundários presente no gênero Mikania, sendo conhecidas como responsáveis pela atividade brônquio-dilatadora atribuída principalmente à espécie *M. glomerata* (ABREU; SANTOS; KAISER, 2007). Segundo Coutinho et al. (2020), estima-se a presença de 1.300 cumarinas obtidas de fontes naturais, sendo encontradas nas famílias Asteraceae, Fabaceae, Oleaceae, Moraceae, Thymeleaceae, Apiaceae e Rutaceae. Em Mikania glomerata, a cumarina é utilizada como marcador químico, sendo também responsável pelo aroma característico da espécie. A cumarina destaca-se por suas reportadas atividades farmacológicas, como anticoagulante, broncodilatadora, antioxidante e antimicrobiana (COUTINHO; GONÇALVES; MARCUCCI, 2020). Observando-se a importância relatada deste fitomarcador, foi realizada uma nova análise por de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl<sub>3</sub>), utilizando um padrão de cumarina. Os dados encontrados na literatura apresentados na Tabela 4 condizem com aqueles obtidos através da análise experimental de RMN <sup>1</sup>H (300Hz, TMS, CDCl<sub>3</sub>) do padrão de cumarina (1,2benzopirona). Entretanto, não foram observados sinais correspondentes ao padrão de cumarina para *M. cordifolia* através da análise em RMN <sup>1</sup>H.

Outra classe amplamente descrita para o gênero *Mikania* são os flavonóides, e para estes também não foram observados sinais característicos e bem delineados na região do espectro característica para estas substâncias (entre 6 e 8 ppm). Esta carência de sinais pode ser decorrente da baixa concentração destas substâncias, complexidade da matriz vegetal ou limitações do experimento. Assim, para uma avaliação mais detalhada é imprescindível uma maior resolução para a interpretação do espectro, e para tanto, seriam necessárias análises em equipamentos com campo magnético de maior frequência (como exemplo equipamentos de RMN de 600 MHz ou 900 MHz) ou a utilização de técnicas associadas como a espectrometria de massas. Nos testes histoquímicos observamos reação positiva para flavonoides na folha, no caule em crescimento secundário e na raiz.

Todos os órgãos de *M. cordifolia* apresentaram sinais característicos para: diterpenos cauranos, esteroides e ácidos graxos. Sugere-se ainda, a presença de derivados fenólicos nas raízes (sendo necessários mais experimentos para confirmar a presença destas substâncias). Substâncias metoxiladas são indicadas nas flores e raízes de *M. cordifolia*. Por fim, para uma avaliação mais concisa faz-se necessário a utilização de equipamentos que possibilitem uma melhor resolução dos sinais espectrais, bem como a associação de outras técnicas como auxílio na elucidação estrutural de metabólitos secundários.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho discute a funcionalidade das estruturas anatômicas e das secreções de *M. cordifolia*, que representam adaptações da espécie ao ambiente de restinga. Por meio da técnica de diafanização conseguimos identificar a presença de hidatódios nos dentes marginais, provavelmente relacionados à eliminação de sais presentes no substrato. Com os distintos seccionamentos confirmamos não apenas a presença de hidatódios, como foi possível determinar com segurança a presença de canais secretores no sistema caulinar e cavidades no sistema subterrâneo, além de identificar tricomas, idioblastos e tecidos secretores. Com os testes histoquímicos identificamos quais classes de substâncias estão presentes no protoplasto das diferentes estruturas secretoras. Já com as análises fitoquímicas foi possível apontar os metabólitos presentes no corpo vegetal de *M. cordifolia*. A maioria dos compostos identificados são possivelmente relacionados a um eficiente sistema de defesa da espécie.

Este trabalho é resultado da integração de técnicas anatômicas aliadas às perspectivas sociais, ecológicas e de bioprospecção, pois através dos conhecimentos passados de geração em geração chegamos ao relato de uso desta planta como medicinal. Os estudos fitoquímicos levantaram diterpenos cauracanos, esteroides, ácidos graxos, substâncias metoxiladas e derivados fenólicos, com isso abrem precedentes para investigações a respeito das aplicações medicinais, químicas e, ou farmacológicas da espécie. Os resultados morfoanatômicos e histoquímicos obtidos aqui, além de ampliarem o conhecimento sobre a ocorrência e distribuição de estruturas adaptativas para o gênero *Mikania*, numa abordagem ecológica, contribuem para estudos com abordagem taxonômica (CASTRO; LEITÃO-FILHO; MONTEIRO, 1997; FAHN, 1979). Assim, salienta-se a importância da espécie no ambiente referido e por conseguinte, a importância da conservação do domínio Mata Atlântica e da formação pioneira na restinga.

## REFERÊNCIAS

ABREU, A. S.; SANTOS, A. R.; KAISER, C. R. Determinação de Cumarina em Extratos de Guaco Comercial: Um Estudo de Caso sobre o Controle de Qualidade de Fitoterápicos. **Revista Fitos**, v. 3, p. 60–66, 2007.

ALMEIDA, M. DE; ALMEIDA, C. V. DE. **Morfologia do caule de plantas com sementes**. [s.l.] Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2014. v. 02

ALMEIDA, V. P. et al. Comparative morphoanatomical analysis of *Mikania* species. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 1, p. 9–19, 2017.

AMORIM, D. O.; FERREIRA, B. G.; FLEURY, G. Plant potentialities determine anatomical and histochemical diversity in *Mikania glomerata* Spreng. galls. **Brazilian Journal of Botany**, v. 40, n. 2, p. 517–527, 3 jun. 2017.

AMORIN, M. et al. Pharmacobotanical study of the leaf and stem of *Mikania lanuginosa* for its quality control. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 5, p. 531–537, set. 2014.

ANDERBERG, A. A. et al. Compositae. In: The Families and Genera of Vascular Plants.

Flowering plants, Eudicots, Asterales. Springer ed. Berlin: [s.n.]. p. 61-87.

ANGYALOSSY, V. et al. An overview of the anatomy, development and evolution of the vascular system of lianas. **Plant Ecology & Diversity**, v. 5, n. 2, p. 167–182, jun. 2012.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. et al. Occurrence of secretory structures in underground systems of seven Asteraceae species. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 157, n. 4, p. 789–796, 2008.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CURY, G. Morpho-anatomical features of underground systems in six Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, v. 83, n. 3, p. 981–991, 2011.

ASSIS, A. M. DE; PEREIRA, O. J.; THOMAZ, L. D. Fitossociologia de uma floresta de restinga no Parque Estadual Paulo César Vinha, Setiba, município de Guarapari (ES). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 2, p. 349–361, jun. 2004.

ASSIS, M. A. et al. Florestas de restinga e de terras baixas na planície costeira do sudeste do Brasil: Vegetação e heterogeneidade ambiental. **Biota Neotropica**, 2011.

BELL, A. D. **Plant Form. An Illustrated Guide to Flowering Plant Morphology**. New York: Oxford University Press, 1991. v. 47

BERTOLUCCI, S. K. V. Marcadores químicos em *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker e *Mikania glomerata* Sprengel cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento: isolamento, quantificação, variação sazonal e estabilidade. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

BINFARÉ, R. W.; FALKENBERG, D. DE B. Guia ilustrado da flora da restinga de Santa

## CatarinaFlorianópolis, 2016.

BOEGER, M. R. T.; ALQUINI, Y.; NEGRELLE, R. R. B. Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases de desenvolvimento de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel - Asteraceae) e formação de raízes adventícias. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 6, n. 2, p. 1–6, 2004.

BOEGER, M. R. T.; GLUZEZAK, R. M. Adaptações estruturais de sete espécies de plantas para as condições ambientais da área de dunas de Santa Catarina, Brasil. **Iheringia - Série Botânica**, v. 61, n. 1–2, p. 73–82, 2006.

BOLINA, R. C.; GARCIA, E. D. E.; DUARTE, M. G. R. Estudo comparativo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 294–298, mar. 2009.

BOMBO, A. B. et al. Anatomy and essential oil composition of the underground systems of three species of *Aldama* La Llave (Asteraceae) 1. **The Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 141, n. 2, p. 115–125, abr. 2014.

BOSABALIDIS, A. M.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. **Plant Science**, v. 163, n. 2, p. 375–379, ago. 2002.

BRASIL. **Código Florestal Brasileiro**. Disponível em: <<u>http://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/\_ato2011-2014/2012/lei/l12651.htm</u>>. Acesso em: 23 out. 2019.

BRIGIDA DA SILVA, A. S.; OWITI, A. O.; BARBOSA, W. L. R. Pharmacology of *Mikania* genus: A systematic review. **Pharmacognosy Reviews**, v. 12, n. 24, p. 230–237, 2018.

BUDEL, J. M. et al. Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker (guaco), visando o controle de qualidade da matéria-prima. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2B, p. 545–552, 2009.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, n. 8, p. 255, 1972.

BURROWS, G. E. Epicormic strand structure in *Angophora, Eucalyptus* and *Lophostemon* (Myrtaceae) - Implications for fire resistance and recovery. **New Phytologist**, v. 153, n. 1, p. 111–131, 2002.

BURROWS, G. E. *Syncarpia* and *Tristaniopsis* (Myrtaceae) possess specialised fire-resistant epicormic structures. **Australian Journal of Botany**, v. 56, n. 3, p. 254–264, 2008.

CAIRES, C. S.; GOMES-BEZERRA, K. M.; PROENÇA, C. E. B. Novos sinônimos e uma nova combinação em *Pusillanthus* (Loranthaceae). Acta Botanica Brasilica, v. 26, n. 3, p. 668–674, 2012.

CARLQUIST, S. Comparative Wood Anatomy. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2001.

CAROLLO, C. A. Análise fitoquímica e avalição dos efeitos dos tipos de adubação, da radiação solar e do estresse hídrico, no acúmulo de metabólitos secundários em espécies do gênero "*Mikania*". [s.l.] Univesidade de São Paulo, 2008.

CASTRO, M. DE M.; LEITÃO-FILHO, H. DE F.; MONTEIRO, W. R. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 20, n. 2, p. 163–174, 1997.

CHARRIÈRE-LADREIX, Y. Repartition intracellulaire du sécrétat flavonique de Populus nigra L. **Planta**, v. 129, p. 167–174, 1976.

CICCARELLI, D. et al. Leaf anatomical adaptations of *Calystegia soldanella*, *Euphorbia paralias* and *Otanthus maritimus* to the ecological conditions of coastal sand dune systems. **Caryologia**, v. 62, n. 2, p. 142–151, 10 jan. 2009.

CLARO, S. M. C. A. Levantamento dos tipos de estruturas secretoras em folhas de Asteraceae da restinga de Setiba, Guarapari (ES). [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 1994.

COLARES, M. N. *Mikania cordifolia y Mikania micrantha* (Asteraceae): especies medicinales nativas de las reservas naturales de Punta Lara e Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina. Anatomía, ensayos fitoquímicos y actividades biológicas. [s.l.] Universidad Nacional de La Plata, 2010.

COLZATO, M. et al. Análise Comparativa dos Espectros de <sup>1</sup>H RMN de Óleos Comestíveis Oxidados. **Embrapa instrumentação agropecuária**, v. 92, p. 1–4, 2008.

COSTA, V; MAYWORM, M. A. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade do bairro dos Tenentes - município de Extrema, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 3, p. 282–292, 2011.

COUTINHO, L. A.; GONÇALVES, C. P.; MARCUCCI, M. C. Composição química, atividade biológica e segurança de uso de plantas do gênero *Mikania*. **Revista Fitos**, v. 14, n. 01, p. 118–144, 2020.

DA SILVA, E. M. S.; HAYASHI, A. H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomy of vegetative organs in *Aldama tenuifolia* and *A. kunthiana* (Asteraceae: Heliantheae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 37, n. 4, p. 505–517, 26 dez. 2014.

DE GODOY, S. M. et al. Phylogenetic relationships of Brazilian *Mikania* species (Asteraceae, Eupatorieae) based on multilocus DNA markers. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 184, n. 3, p. 326–346, 2017.

DE OLIVEIRA, P. A.; GREGORIO, L. E.; DE OLIVEIRA, D. C. R. Comparative analysis of sesquiterpene lactones from *Mikania cordifolia* collected from three different locations. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 43, n. 2, p. 140–142, mar. 2007.

DEMÉTRIO, A. M. et al. Leaf anatomy of *Varronia polycephala* Lam. (Cordiaceae). Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, v. 271, n. July, 2020.

DICKSON, W. C. Integrative plant anatomy. San Diego: Academic Press, 2000.

ESAU, K. Plant anatomy. 1965.

FAHN, A. Secretory tissues in plants. London: Academic Press, 1979.

FAHN, A. Plant anatomy. Oxford, 1982.

FALKENBERG, D. DE B. Aspectos da flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, sul do Brasil. **Insula Revista de Botânica**, v. 28, p. 1–30, 1999.

FERNANDES, V. F. Estruturas secretoras foliares em *Casearia* Jacq.: Uma abordagem anatômica, ultraestrutural e taxonômica. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2016.

FLORA DO BRASIL 2020. (under construction). Disponível em: <a href="http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB5344">http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB5344</a>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

FRITZ, E.; SAUKEL, J. Secretory Structures of Subterranean Organs of Some Species of the Cardueae, and Their Diagnostic Value. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, v. 53, n. 1, p. 63–73, 1 jan. 2011.

FUHR, C.; DAL SANTO, M. A. A expansão urbana na Ilha de Santa Catarina e suas implicações na comunidade do Santinho. **Laboratório de Geoprocessamento - GeoLab**, p. 1–11, 2006.

FUNK, V. A. et al. **Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae**. Viena, Austria: International Association for Plant Taxonomy, 2009.

GASPARETTO, J. C. et al. A kinetic study of the main guaco metabolites using syrup formulation and the identification of an alternative route of coumarin metabolism in humans. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–22, 2015.

GEISSMAN, T. A.; GRIFFIN, T. S. Sesquiterpene lactones: Acid-catalysed color reactions as an aid in structure determination. **Phytochemistry**, v. 10, n. 10, p. 2475–2485, 1971.

GREGORY, M.; BAAS, P. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. **Israel Journal of Botany**, v. 38, p. 125–174, 1989.

GUIMARÃES, T. B. Florística e fenologia reprodutica de plantas vasculares na restinga do Parque Municipal das dunas da Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. p. 107, 2006.

HESP, P. A. Ecological processes and plant adaptations on coastal dunes. Journal of Arid Environments, v. 21, n. 2, p. 165–191, set. 1991.

HOLMES, W. C. *Mikania* (Compositae) of the United States. **SIDA**, **Contributions to Botany**, v. 9, n. 2, p. 147–158, 1981.

HOSSAIN, M. B.; MATSUYAMA, N.; KAWASAKI, M. Hydathode morphology and role of guttation in excreting sodium at different concentrations of sodium chloride in eddo. **Plant Production Science**, v. 19, n. 4, p. 528–539, out. 2016.

INCT. Herbário Virtual da Flora e dos Fungos. Disponível em: <a href="http://inct.splink.org.br">http://inct.splink.org.br</a>. Acesso em: 1 fev. 2019.

JANAĆKOVIĆ, P. et al. Comparative anatomical investigation of five *Artemisia* L. (Anthemideae, Asteraceae) species in view of taxonomy. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 1, p. 135–147, 18 mar. 2019.

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry, principles and practice**. San Francisco: WH Freeman & Co, 1962.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. London: McGraw-Hill Book Company, 1940. KIRK, P. W. Neutral Red as a Lipid Fluorochrome. **Stain Technology**, v. 45, n. 1, p. 1–4, 12 jan. 1970.

LEROUX, O. Collenchyma: a versatile mechanical tissue with dynamic cell walls. **Annals of Botany**, v. 110, n. 6, p. 1083–1098, nov. 2012.

LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D. Distribution and anatomy of hydathodes in Asteraceae. **Botanical Gazette**, v. 146, n. 1, p. 106–114, 1985.

LIMA, A. C. **Sazonalidade da atividade cambial em lianas**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2012.

LIMA, A. C.; PACE, M. R.; ANGYALOSSY, V. Seasonality and growth rings in lianas of Bignoniaceae. **Trees**, v. 24, n. 6, p. 1045–1060, 11 dez. 2010.

LIMA, D. M. et al. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 4, p. 422–438, 2011.

LIMA NETO, J. DE S.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R. Constituintes químicos dos frutos de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1078–1080, 2008.

LUSA, M. G. et al. Functional groups in Lychnophorinae (Asteraceae: Vernonieae) based on morphological and anatomical traits. **Australian Journal of Botany**, v. 62, n. 2, p. 150–163, 2014.

LUSA, M. G. et al. Trichomes related to an unusual method of water retention and protection of the stem apex in an arid zone perennial species. **AoB PLANTS**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 1 jan. 2015.

LUSA, M. G.; DA COSTA, F. B.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Histolocalization of chemotaxonomic markers in Brazilian Vernonieae (Asteraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 3, p. 581–593, nov. 2016.

LUSA, M. G. et al. Evolution of Stem and Leaf Structural Diversity: a Case Study in Lychnophorinae (Asteraceae). **The Botanical Review**, v. 84, n. 3, p. 203–241, 13 set. 2018.

LUSA, M. G.; LOEUILLE, B. F. P.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. First record of

phytomelanin in aerial vegetative organs and its evolutionary implications in Lychnophorinae (Vernonieae: Asteraceae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 33, n. May, p. 18–33, ago. 2018.

MACHADO, S. R. et al. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & amp; Endl.) H. Robinson (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 1, p. 115–123, mar. 2004.

MCCORMACK, M. L. et al. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. **New Phytologist**, v. 207, n. 3, p. 505–518, 10 ago. 2015.

MELO-DE-PINNA, G. F. DE A. Anatomia foliar de *Richterago* Kuntze (Mutisieae, Asteraceae). Acta Botanica Brasilica, v. 18, n. 3, p. 591–600, 2004.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press, 1950.

MILAN, P.; HAYASHI, A. H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 01, p. 135–144, jan. 2006.

MIRANDA, T. M.; HANAZAKI, N. Conhecimento e uso de recursos vegetais de restinga por comunidades das ilhas do Cardoso (SP) e de Santa Catarina (SC), Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 22, n. 1, p. 203–215, mar. 2008.

NEGRELLE, R. R. B.; DONI, M. E. Efeito da maturidade dos ramos na formação de mudas de guaco por meio de estaquia. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n. 3, p. 351–355, nov. 2001.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368–373, 1964.

OLIVEIRA, F. DE et al. Morfodiagnose de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker - guacodo-mato - estudo do Axófito. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 1, p. 45–57, 1986.

OLIVEIRA, T. C. R. DE et al. Classificação dos cenários costeiros de praias da Ilha de Santa Catarina, Florianópolis – Brasil. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 39, 30 dez. 2016.

PAVIA, D. L. et al. Introdução à espectroscopia. 4. ed. [s.l.] Cengage, 2010.

PELUSO, G. et al. Studies on the Inhibitory Effects of Caffeoylquinic Acids on Monocyte Migration and Superoxide Ion Production. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 5, p. 639–646, 1995.

REITZ, R. Vegetação da zona marítima de Santa Catarina. Sellowia, p. 17-115, 1961.

RIOS, A. B. M.; DALVI, V. C. Muito além de um dente: ocorrência de hidatódios nos dentes foliares de *Hydrocotyle asterias* Cham. & amp; Schltdl. (Araliaceae Juss.). **Hoehnea**, v. 47, 2020.

RITTER, M. R.; MIOTTO, S. T. S. Taxonomia de *Mikania* Willd. (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Hoehnea**, v. 32, n. 3, p. 309–359, 2005.

RITTER, M. R.; WAECHTER, J. L. Biogeografia do gênero *Mikania* Willd. (Asteraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 18, n. 3, p. 643–652, set. 2004.

ROBINSON, B. L. The Mikanias of northern and western South America. Contribuitions. **Gray Herbarium**, v. 64, p. 21–116, 1922.

SANTOS, R. R. DOS. Comparação de sistemas de cultivo convencional e orgânico na produção de cumarina em *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae) e avaliação de genotoxicidade. [s.l.] Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2018.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. [s.l.] The Iowa State College Press; Constable & Co., 1951.

SCHWEIKERDT, H. G.; WALT, J. J. A. Anomalous secondary growth in the stems of the lianes *Mikania cordata* (Burm. f.) Robins (Compositae) and Paullinia pinnata Linn. (Sapindaceae). **Kitkia**, v. 9, n. 1, p. 109–138, 1973.

SHOBE, W. R.; LERSTEN, N. R. A Technique for clearing and staining gymnosperm leaves. **Botanical Gazette**, v. 128, n. 2, p. 150–152, jun. 1967.

SILVA, R. Z. DA. Estudo fitoquímico e biológico das partes aéreas da *Mikania Lanuginosa* DC (ASTERACEAE). [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.

SOARES DE MOURA, R. et al. Bronchodilator activity of *Mikania glomerata* Sprengel on human bronchi and guinea-pig trachea. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 54, n. 2, p. 249–56, 18 fev. 2002.

SOLEREDER, H. Systematic anatomy of the dicotyledons: a handbook for laboratories of pure and applied botany. [s.l.] Clarendon Press, 1908.

TERTULIANO, M. F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. **New Phytologist**, v. 123, n. 4, p. 741–749, jan. 1993.

TRUEBA, S. et al. Stem Anatomy and the Evolution of Woodiness in Piperales. **International Journal of Plant Sciences**, v. 176, n. 5, p. 468–485, jun. 2015.

TURNER, I. M. Sclerophylly: Primarily Protective? **Functional Ecology**, v. 8, n. 6, p. 669, dez. 1994.

VASQUES, E. R. et al. Sesquiterpene lactones from *Mikania micrantha* and *Mikania cordifolia* and their cytotoxic and anti-inflammatory evaluation. **Fitoterapia**, v. 94, p. 155–163, abr. 2014.

WAGNER, G. J. Secreting Glandular Trichomes: More than Just Hairs. **Plant Physiology**, v. 96, n. 3, p. 675–679, 1 jul. 1991.

WERKER, E. Trichome Diversity and Development. Advances in Botanical Research, v. 31, p. 35, 2000.

ANEXO A - Principais metabólitos secundários descritos para o gênero Mikania

Substâncias	Estrutura química	Espécie	Referência
ent-caur-16-en-19-ol	1	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
<i>ent-</i> caur-16-en-19-óico (ácido caurenóico)	2	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
<i>ent</i> -15β-hidróxi-caur-16-en-19- óico	3	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
<i>ent</i> -15β- cinamoilóxi-7α-hidróxi- caur-16-en-19-óico	4	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
<i>ent</i> -7α-cinamoilóxi-15β-hidróxi- caur-16-en-19-óico	5	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
<i>ent</i> -15β- cinamoilóxi -caur-16-en- 19-óico (ácido cinamoil- grandiflórico)	6	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
<i>ent</i> -15β-hidróxi-7α-( <i>E</i> )- lacnofiloiloxi-caur-16-en-19-óico	7	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
2β-, 16α,17-triidróxi- <i>ent</i> -cauran- 19-óico	8	M. hirsutíssima D.C	Bertolucci, 2009
3β-, 16α,17-triidróxi- <i>ent</i> -cauran- 19-óico	9	M. hirsutíssima D.C	Bertolucci, 2009
11α,15β-diidróxi-7- <i>O</i> -β-D- glicopiranosil- <i>ent</i> -caur-16-en-19- óico	10	M. hirsutíssima D.C	Bertolucci, 2009
1α,15β-diidróxi-7- <i>O</i> -β-D- glicopiranosil- <i>ent</i> -caur-16-en-19- óico	11	M. hirsutíssima D.C	Bertolucci, 2009

Quadro 1 - Diterpenos cauranos



Substâncias	Estrutura química	Espécie	Referência
labda-8(17),12,14-trien-19-óico	12	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
labda-12α-epoxi-8(17),14-dien- 19-óico	13	<i>M. vitifolia</i> D.C	Bertolucci, 2009
labda-12 β-epoxi-8(17),14-dien- 19-óico	14	<i>M. vitifolia</i> D.C	Bertolucci, 2009
labda-8(17),13(16),14-trien-19- óico	15	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009

Quadro 2 - Diterpeno	s labdanos
----------------------	------------

labda-12,13-diidhoxi-8(17),14- dien-19-óico	16	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
labda-12,15-epoxi-8(17),13-dien- 19-óico	17	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
Prima-9(11),15-dien-19-óico	18	M. vitifolia D.C	Bertolucci, 2009
Eritróxila-3,15-dien-19-óico	19	<i>M. hirsutíssima</i> D.C	Bertolucci, 2009





Qu	iadro	3 -	Lactonas	sesquiterpênicas

Substâncias	Estrutura química	Espécie	Referência
2α-acetoxi-15-isovaleril- miguanina	20	M. guaco Humb. Ex Bonpl.	Bertolucci, 2009
1α-metoxi-15-isobutiriloxi-9-oxo- germacra-4- <i>E</i> ,10(14),11(13)- trien-12,6α-olídeo	21	M. guaco Humb. Ex Bonpl.	Bertolucci, 2009
15-isovaleriloxi-4β,5α- epoxigermacra-1(10)E,11(13)- dien-12,8α-olídeo	22	M. holwayana B.L. Robins	Bertolucci, 2009
5α-hidroxi-15- isobutiriloxigermaca-	23	M. holwayana B.L. Robins	Bertolucci, 2009

(10)E,3Z,11(13)-trien-12,8α-			
olídeo			
mikagoianolídeo	24	M. goyazensis	Bertolucci, 2009
1β,6α-diidroxieudesm-4(15)-eno	25	M. banisteriae D.C.	Bertolucci, 2009
eudesma-4(15),7(11)-dien-8β,12- olídeo	26	M. banisteriae D.C.	Bertolucci, 2009
eudesma-4(15),7(11)-trien-12- olídeo	27	M. banisteriae D.C.	Bertolucci, 2009







(21)

..O

ŐН

(23)

0



(22)









(27)

Quadro 4 Tenoneos				
Substâncias Estrutura química Espécie	Referência			

patuletina 3- <i>O</i> -β-D-6''-( <i>p</i> - cumaroil)	28	M. cordata	Bertolucci, 2009
patuletina (glicosídeo)	29	M. cordata	Bertolucci, 2009
canferol (glicosídeo)	30	M. cordata	Bertolucci, 2009
quercitina (glicosídeo)	31	M. cordata	Bertolucci, 2009
mikanina	32	M. cordata, M glomerata	Bertolucci, 2009
nepetina	33	Mikania sp.	Bertolucci, 2009
canferol	34	<i>Mikania</i> sp.	Bertolucci, 2009
ácido O-cumárico	35	<i>Mikania</i> sp.	Coutinho et al., 2020
escopoletina	36	<i>Mikania</i> sp.	Coutinho et al., 2020
7-metoxicumarina	37	<i>Mikania</i> sp.	Coutinho et al., 2020
ácido cinâmico	38	M. micrantha	Bertolucci, 2009
ácido <i>O</i> -cumárico	39	Mikania sp.	Bertolucci, 2009
ácido <i>p</i> -cumárico	40	Mikania sp.	Coutinho et al., 2020
ácido cafeico	41	<i>Mikania</i> sp.	Coutinho et al., 2020
ácido ferúlico	42	<i>Mikania</i> sp.	Coutinho et al., 2020
ácido isso-ferúlico	43	Mikania sp.	Coutinho et al., 2020





.OH

ЮΗ

(30) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H (31) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H















(38)  $R=H, R_1=H, R_2=H$ (39) R= OH, R1=H, R2=H (40)  $R=H, R_1=H, R_2=OH$ (41)  $R=H, R_1=OH, R_2=OH$ R= H, R1=OCH3, R2=OH (42) (43)  $R=H, R_1=OH, R_2=OCH_3$ 



Quadro 5 - Fitoesteróis

Substâncias	Estrutura química	Espécie	Referência
β -sistosterol	45	M. glomerata e M. leavigata	Bertolucci, 2009
Estigmasterol	46	M. glomerata e M. leavigata	Bertolucci, 2009

