

Angela Maria Demétrio

**MORFOANATOMIA DA FOLHA DE *VARRONIA*
MONOSPERMA (CORDIACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Departamento de
Botânica da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do
Título de Licenciatura em Ciências
Biológicas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Claudia
Rodrigues

Florianópolis
2017

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

Demétrio, Angela Maria
MORFOANATOMIA DA FOLHA DE VARRONIA MONOSPERMA
(CORDIACEAE) / Angela Maria Demétrio ; orientadora, Ana
Claudia Rodrigues - Florianópolis, SC, 2017.
40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Família Cordiaceae. 3.
Cistólitos em tricomas. 4. Tricomas glandulares com cabeça
globosa. 5. Anatomia Vegetal. I. Rodrigues, Ana Claudia.
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. III. Título.

Angela Maria Demétrio

MORFOANATOMIA DA FOLHA DE VARRONIA
MONOSPERMA (CORDIACEAE)

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas, e aprovado em sua forma final pela banca examinadora.

Florianópolis, 03 de março de 2017.

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Ana Claudia Rodrigues
(Presidente)

Prof. Dr. João de Deus Medeiros
(Titular)

Prof^a Dr^a. Makeli Garibotti Lusa
(Titular)

*Dedico para o casal que me
inspira a persistir com ternura e
força: Dona Teure e Seu Zéca, a
vocês, todo o meu amor.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à minha família, em especial aos meus pais que, incansavelmente, estiveram ao meu lado, dando-me todo suporte possível. À minha sobrinha, Thayane, sempre amável.

Às amigas e amigos, que a qualquer hora ou lugar, foram acolhedores em ouvir minhas lamentações.

Aos Laboratórios LAVeG e LCME por proporcionarem o processamento e análise das amostras.

Aos amigos do laboratório LAVeG e à minha orientadora, Ana Claudia, meu muitíssimo obrigada, pelo tempo, ensinamentos e paciência dispendidos a mim!

Ao professor Rafael Trevisan pela devida identificação da espécie e pela simpatia!

Ao professor Elisandro e demais amigos do laboratório MICOLAB, que também participaram de modo importante na minha formação.

A todas as professoras, professores do Curso de Ciências Biológicas da UFSC (Universidade Federal de Santa Catarina) e técnicas e técnicos administrativos desta instituição em geral. Muitos destes, hábeis e estimulantes, frente à pluralidade do cotidiano, são fonte de inspiração na profissional que venho construindo dia a dia.

A equipe do Horto Didático de Plantas Medicinais do HU – UFSC que gentilmente me receberam e fizeram sugestões riquíssimas para realização deste trabalho.

Agradeço à professora Larissa Corrêa do Bomfim Costa pela atenção e pelas dicas.

Por fim, sou grata às precursoras da vontade e da curiosidade de realizar este estudo: as plantas. Foram seus mistérios, medicina e beleza, que me trouxeram até aqui.

RESUMO

Varronia monosperma, também denominada *Cordia polycephala* (Lam.) I. M. Johnst. e *Cordia monosperma* (Jacq.) Roem. & Schult., possui registro de uso medicinal em algumas comunidades em substituição à erva baleeira, *V. curassavica* Jacq. Estimulado pela constatação de compostos com potencial para desenvolvimento de fitoterápicos em outras espécies do gênero *Varronia*, o presente trabalho teve por objetivo analisar a morfoanatomia e histoquímica da folha de *V. monosperma* através de métodos usuais em estudos anatômicos em microscopia óptica e eletrônica de varredura. Os resultados mostram a ocorrência de tricomas tectores com cristólitos, tricomas glandulares, idioblastos com areia cristalina com alto teor de cálcio presente no mesofilo, além de idioblastos com proteínas. Os caracteres descritos são comuns aos observados em outras espécies do gênero.

Palavras-chave: Cordiaceae. Uso medicinal. Fitoterápicos.

ABSTRACT

Varronia monosperma, also called *Cordia polycephala* (Lam.) I. M. Johnst. and *Cordia monosperma* (Jacq.) Roem. & Schult., has a record of medicinal use in some communities to replace baleeira herb, *V. curassavica* Jacq. Stimulated by the confirmation of compounds with potential for phytotherapeutic development in other species of the genus *Varronia*, the aim of the present study was to analyze the morphology and the histochemistry of the *V. monosperma* leaf by means of the usual methods in anatomical studies in optical microscopy and scanning electron microscopy. The results show the occurrence of tectonic trichomes with cystoliths, glandular trichomes, idioblasts with crystalline sand that have an high calcium content present in the mesophyll, as well as idioblasts with proteins. The described characters are common to those observed in other species of the genus.

Keywords: Cordiaceae. Medical use. Herbal remedies.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Folha de *Varronia monosperma* Jacq. observada sob microscopia eletrônica de varredura.....25
- Figura 2.** Lâmina foliar de *Varronia monosperma* Jacq. A, E-F. Microscopia eletrônica de varredura. B-D, G-H. Secções transversais coradas com Azul de Toluidina. E-F. Vista frontal.....27
- Figura 3.** Secções transversais do pecíolo de *Varronia monosperma* Jacq.....29
- Figura 4.** *Varronia monosperma* Jacq. A. Microscopia eletrônica mostrando idioblasto com areia cristalina na região mediana. B. Gráfico gerado pela análise EDS nos cristais da figura anterior, mostrando alta percentagem de cálcio. C-H. Secções transversais. C-E, G. Lâmina foliar. F-H. Pecíolo.....32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SC – Santa Catarina

LCME – Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3. RESULTADOS	24
Lâmina foliar	24
Pecíolo	28
Testes histoquímicos.....	30
4. DISCUSSÃO	33
REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

Cordiaceae R. Br. ex Dumort. foi tradicionalmente considerada uma subfamília de Boraginaceae juntamente com Ehretioideae, Heliotropioideae e Boraginoideae (Miller e Gottschling, 2007). No entanto, estudos filogenéticos (Gottschling *et al.*, 2001) demonstraram que Boraginaceae é um grupo parafilético. Assim, as quatro subfamílias de Boraginaceae *sensu lato* foram elevadas ao nível de família e juntamente com Hydrophyllaceae e Lennoaceae constituem a ordem Boraginales (Gottschling *et al.*, 2001).

Cordiaceae apresenta cerca de 350 espécies (Miller, 2001), sendo 65 delas registradas para o Brasil (Gasparino e Barros, 2009). A família inclui três gêneros: *Coldenia* L., *Cordia* L. e *Varronia* P. Br. (Miller e Gottschling, 2007; Gasparino e Barros, 2009). O gênero mais representativo em número de espécies é *Cordia* L. com aproximadamente 350 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Miller e Gottschling, 2007). *Varronia* compreende cerca de 100 espécies distribuídas nos novos trópicos e regiões temperadas do Arizona à Argentina (Miller e Gottschling, 2007). A diferença morfológica principal entre os gêneros *Cordia* e *Varronia* consiste nos tipos de hábitos e inflorescências: árvores com panículas abertas ou inflorescências cimosas pertencem ao gênero *Cordia* e arbustos com inflorescências condensadas, capitadas ou em forma de espigas pequenas e compactas pertencem ao gênero *Varronia* (Miller e Gottschling, 2007).

Varronia monosperma Jacq. (sinonímia = *Cordia monosperma* (Jacq.) Roem. & Schult. e *Cordia polycephala* (Lam.) I.M. Johnst.) tem hábito arbustivo (0,6m a 2m), ramos adpresso-setulosos, frequentemente hirsutos com folhas pecioladas, ovadas a ovado-lanceoladas, ápice agudo a acuminado, a margem pode variar de claramente serrada até inconspicuamente serrilhado, base obtusa ou algo arredondada, face adaxial geralmente adpresso-estrigosa e miudamente estrigulosa, tuberculada, a abaxial miudamente tomentosa com tricomas estrigosos entremeados. Apresenta inflorescência glomerulada ou curto-paniculoide, com flores heterostílicas e frutos cônicos ou cilíndricos, com corola não persistente (Ranga *et al.*, 2012). Segundo Ranga *et al.* (2012) ocorre no nordeste, sudeste e sul do Brasil, nos estados da Paraíba, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa

Catarina e Rio Grande do Sul, em locais abertos ou em mata secundária apresentando flores e frutos entre novembro e abril.

Segundo Correa (1952), com base ainda na classificação tradicional, algumas espécies do gênero *Cordia* produzem substâncias empregadas em medicamentos, como *Cordia verbenacea* DC. (sinonímia = *Varronia curassavica* Jacq.). A espécie é conhecida popularmente como erva-baleeira, cujo princípio ativo (flavonóide artemetina) tem efeito anti-inflamatório comprovado (Sertié *et al.*, 1990; Matias *et al.*, 2010), sendo lançado comercialmente, pelo laboratório Aché, sob o nome Acheflan[®]. O medicamento é o primeiro anti-inflamatório tópico feito a partir do extrato de uma planta brasileira.

Varronia monosperma, planta do mesmo gênero que a erva-baleeira, possui registros de uso medicinal em algumas comunidades, como relatado por Souza *et al.*, (2004), cuja pesquisa etnofarmacológica avaliou o potencial antimicrobiano de algumas plantas usadas em formulações nas “Farmácias Caseiras Comunitárias” na comunidade de Maquiné, no Rio Grande do Sul. *Varronia monosperma* é empregada nesta comunidade em substituição à erva-baleeira, sendo recomendada popularmente como anti-inflamatório para o tratamento de doenças da bexiga. Apesar de não existirem estudos anteriores que comprovassem sua atividade antimicrobiana, o estudo mencionado verificou que *V. monosperma* se mostrou ativa contra dois microorganismos (Souza *et al.*, 2004).

Na comunidade da Costa da Lagoa, em Florianópolis/SC, *V. monosperma* é chamada popularmente de trinca-trinca e a sua utilização popular também é como anti-inflamatória e em substituição à erva-baleeira, entretanto, neste caso, a indicação é para combater hemorróidas na forma de banho de assento, conforme relata o médico Cesar Paulo Simionato (comunicação pessoal). Marques (2010) comparou o levantamento realizado por Schardong (1996) quanto às plantas e seus usos nas comunidades da Costa da Lagoa e Canto dos Araçás, com o objetivo de verificar se as plantas permaneciam sendo indicadas para as mesmas enfermidades. A autora constatou que *V. monosperma* era indicada em 1996 contra diarreia, já em 2010 a comunidade referia-se à ela para uso interno, em casos de inflamação “por dentro da mulher” e garganta, problemas nos rins e na bexiga e uso externo para lavagem de ferimentos.

Dentre os estudos anatômicos com espécies da família Cordiaceae destacam-se Metcalfe e Chalk (1950); Lo' e Duarte (2001); Dasti *et al.* (2003); Ventrella e Marinho (2008); Souza (2008); e Tölke *et al.* (2013). Tais estudos são fundamentais para o levantamento de caracteres anatômicos úteis, os quais auxiliam na identificação e distinção dessas espécies (Tölke *et al.*, 2013). Quando se trata de plantas potencialmente medicinais, os estudos anatômicos aliados aos estudos histoquímicos contribuem para a primeira identificação e localização de possíveis estruturas secretoras, as quais podem estar relacionadas à produção de princípios ativos utilizados em estudos farmacológicos. Desta forma, o presente estudo tem por objetivo fazer a primeira descrição anatômica da folha de *Varronia monosperma* a fim de levantar características estruturais e histoquímicas peculiares à referida espécie, contribuindo assim com subsídios para futuros trabalhos farmacológicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Espécimes de *Varronia monosperma* o foram coletados próximos à Lagoa Pequena em Florianópolis, localizada na latitude 27° 35' 48" S, longitude 48° 32' 57" W, sob o clima subtropical. O material testemunho foi herborizado e depositado no Herbário FLOR sob o n°. 59559. Amostras de três ou mais indivíduos, foram coletados para os estudos anatômicos.

Microscopia de Luz

Para a realização do presente estudo, amostras da região mediana das lâminas foliares e dos pecíolos, adultos localizados a partir do 5° nó, foram fixados em FAA 70°GL por 24h (Johansen, 1940) e posteriormente estocadas em etanol 70° GL. Para preparação de lâminas permanentes, o material fixado foi desidratado em série etanólica e incluído em hidroxietilmetacrilato (Jung's Historesin, Leica), seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante. As secções foram realizadas em micrótomo rotativo Leica RM 2125 RT, com espessura de 5 µm.

As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40° C) e posteriormente submetidas aos testes histoquímicos com ácido periódico - Schiff (PAS) para verificação de polissacarídeos neutros (Gahan, 1984), azul de toluidina (ATO) 0,5% pH 3,0 para identificar polissacarídeos ácidos (O'Brien *et al.* 1964), como corante metacromático, foi utilizado para análises estruturais. Azul brilhante de comassie (CBB) 0,4% em solução de Clarke, para identificar proteínas (Gahan, 1984), lugol (Johansen, 1940) para identificar amido, cloreto férrico (Johansen, 1940) para substâncias fenólicas. Testes com sudan III (Jensen, 1962) para substâncias lipídicas, foram realizados em secções previamente fixadas e seccionadas à mão livre.

As análises do material e as imagens foram capturadas em microscópio óptico Leica, modelo DM 2500 com câmera integrada Leica DFC 295.

Microscopia Eletrônica de Varredura

Com a intenção de analisar ambas as superfícies foliares, amostras previamente fixadas das folhas foram desidratadas em série etanólica gradual até álcool 100° GL. Em seguida foram secas em ponto crítico de CO₂, (CDP 03, Leica) aderidas sobre suportes de alumínio com auxílio de fita de carbono dupla face e cobertas com 20 nm de ouro

em metalizador (CED 030, Baltec). As amostras, foram analisadas em microscópio de varredura (JEOL JSM-6390 LV, Phillips) com detector de raio-X (EDS) do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC.

3. RESULTADOS

Lâmina foliar

Em vista frontal, na face adaxial (Figura 1A-B), observam-se tricomas tectores cônicos de diferentes tamanhos em grande quantidade, com base bulbosa envolvida por células subsidiárias que se projetam acima das demais células epidérmicas (Figura 1B, setas), observam-se ainda na parede desses tricomas pequenas projeções (Figura 1B, cabeças de setas). As células epidérmicas comuns são arredondadas com paredes anticlinais lisas (Figura 1B). Na face abaxial ocorrem dois tipos de tricomas tectores e um tipo de tricoma glandular (Figura 1C-G). Os dois tipos de tricomas tectores encontrados são: 1) unicelular, sem base proeminente, com parede lisa e muito abundante (Figura 1C, D, F, G). 2) unicelular cônico com base mais proeminente, podendo ser alongado e com projeções nas paredes (Figura 1C-D, *), ocorrendo principalmente sobre as nervuras. O tricoma glandular é menos abundante, é do tipo subséssil globular capitado com cabeça secretora unicelular esférica, ligada ao pedúnculo curto (Figura 1E). As células epidérmicas comuns tem paredes anticlinais levemente sinuosas (Figuras 1F-G). Os estômatos ocorrem apenas na face abaxial (Figura 1F). A visualização das células comuns da epiderme abaxial, bem como dos estômatos torna-se difícil devido à ocorrência de grande quantidade de tricomas tectores do tipo 1.

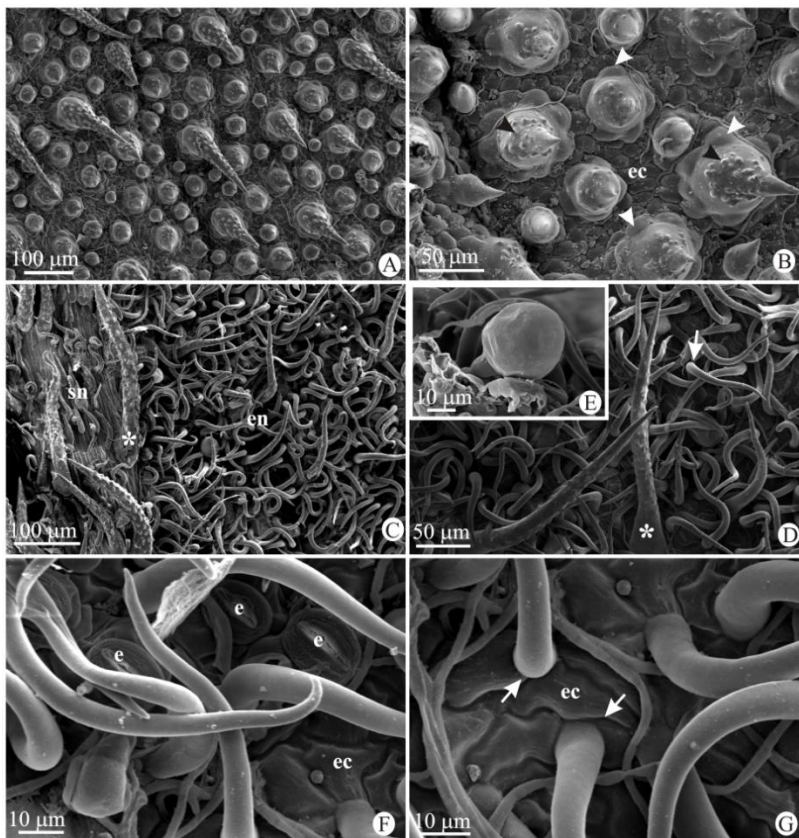


Figura 1. Vista frontal da folha de *Varronia monosperma* Jacq. observada sob microscopia eletrônica de varredura. A-B. Face adaxial. C-G. Face abaxial. A. Observam-se os tricomas tectores cônicos de diversos tamanhos. B. Tricomas evidenciando base bulbosa envolvida por células subsidiárias (cabeça de seta branca) e com projeções pontiagudas na parede (cabeça de seta preta). C. Observam-se as regiões sobre (sn) e entre nervura (en) coberta por tricomas tectores. D. Dois tipos de tricomas tectores: com parede lisa e sem base proeminente (seta) e com base proeminente e com projeções pontiagudas na parede (*). E. Detalhe do tricoma glandular subsessil. F. Estômatos. G. Detalhe mostrando células epidérmicas comuns e tricomas tectores de parede lisa e sem base proeminente (seta), células epidérmicas comuns (ec).

Em secção transversal observa-se a epiderme unisseriada em ambas as faces (Figura 2A-D). Na face adaxial as células epidérmicas são arredondadas, enquanto na face abaxial são mais achatadas e menores. A cutícula é inconspícua em ambas as faces (Figuras 2A-D). Os estômatos são elevados em relação às demais células epidérmicas (Figura 2B seta). Observam-se ainda os cystólitos na base dos tricomas tectores na face adaxial (Figura 2B-C). O mesofilo é dorsiventral com parênquima paliçádico composto por uma camada de células, seguido pelo parênquima esponjoso com três a quatro camadas de células braciiformes as quais delimitam espaços intercelulares proeminentes (Figura 2A-C). O sistema vascular é constituído de feixes vasculares colaterais de diferentes calibres distribuídos ao longo do mesofilo. Na região do bordo observa-se a presença de tricomas tectores cônicos (Figura 2D-F). A nervura central é côncava na face abaxial e convexa na face adaxial, apresentando um feixe vascular colateral central envolvido por células parenquimáticas. Observa-se ainda cordão de colênquima anelar próximo à face superior e três a quatro camadas de colênquima também anelar próximo à superfície abaxial (Figura 2G). Idioblastos, contendo areia cristalina, foram observados no mesofilo (Figura 2B), nos feixes vasculares e na região do parênquima na nervura central (Figura 2H).

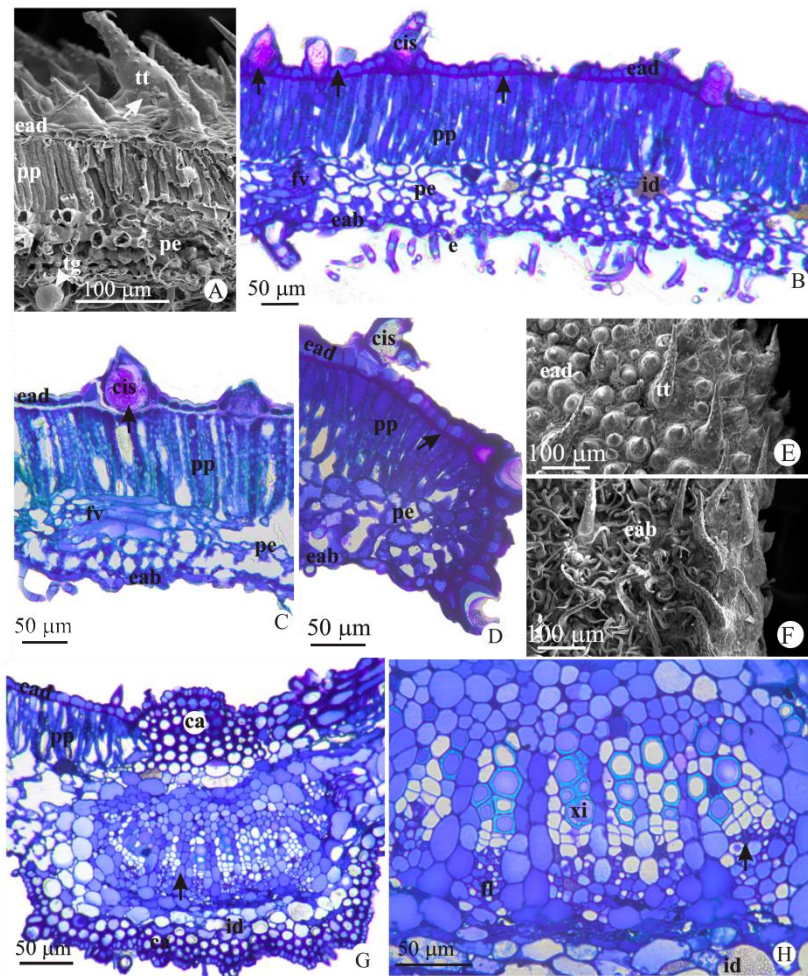


Figura 2. Lâmina foliar de *Varronia monosperma* Jacq. A, E-F. Microscopia eletrônica de varredura. B-D, G-H. Secções transversais coradas com Azul de Toluidina, com reações metacromáticas ressaltando diferentes colorações nos tecidos A. Secção transversal mostrando os tricomas tectores elevados (seta branca) na face adaxial e tricoma glandular (cabeça de seta branca) na face abaxial. B. Vista geral do mesofilo dorsiventral. C. Detalhe evidenciando base bulbosa do tricoma tector. D-F. Bordo foliar. E. Face adaxial. F. Face abaxial. G-H. Nervura mediana. G. Vista geral. H. Detalhe do feixe vascular. Destaque das reações metacromáticas (setas pretas). cistólito (cis), colênquima angular (ca), face

da epiderme abaxial (eab), face da epiderme adaxial (ead), estômato (e), feixes vasculares (fv), floema (fl), idioblastos com areia cristalina (id), parênquima esponjoso (pe), parênquima paliçádico (pp), tricoma glandular (tg), tricoma tector (tt), xilema (xi).

Pecíolo

O pecíolo de *V. monosperma* possui, em secção transversal, forma de “D”, não sulcado na região superior, com a face adaxial plana e a face abaxial convexa (Figura 3A). A epiderme é unisseriada com cutícula fina (Figura 3A-B) e tricomas tectores e glandulares semelhantes aos vistos na folha. Abaixo da epiderme observa-se seis a sete camadas de colênquima anelar em faixa contínua (Figura 3A-B). Internamente o parênquima de preenchimento apresenta células relativamente grandes, com paredes finas e espaços intercelulares evidentes (Figura 3A-B), com presença de grão de amido apenas na camada mais interna do córtex, ou seja na bainha amilífera (Figura 3C, cabeça de seta). O sistema vascular é composto por três feixes, um central maior, colateral na forma de arco, e dois menores anficrivais, dispostos um de cada lado do feixe central (Figura 3A, C-D). No feixe central observa-se a ocorrência de câmbio vascular e os raios do xilema e do floema (Figura 3E). Idioblastos com areia de cristalina são evidentes no parênquima de preenchimento (Figura 3A) assim como nas células do floema (Figura 3D-E, setas).

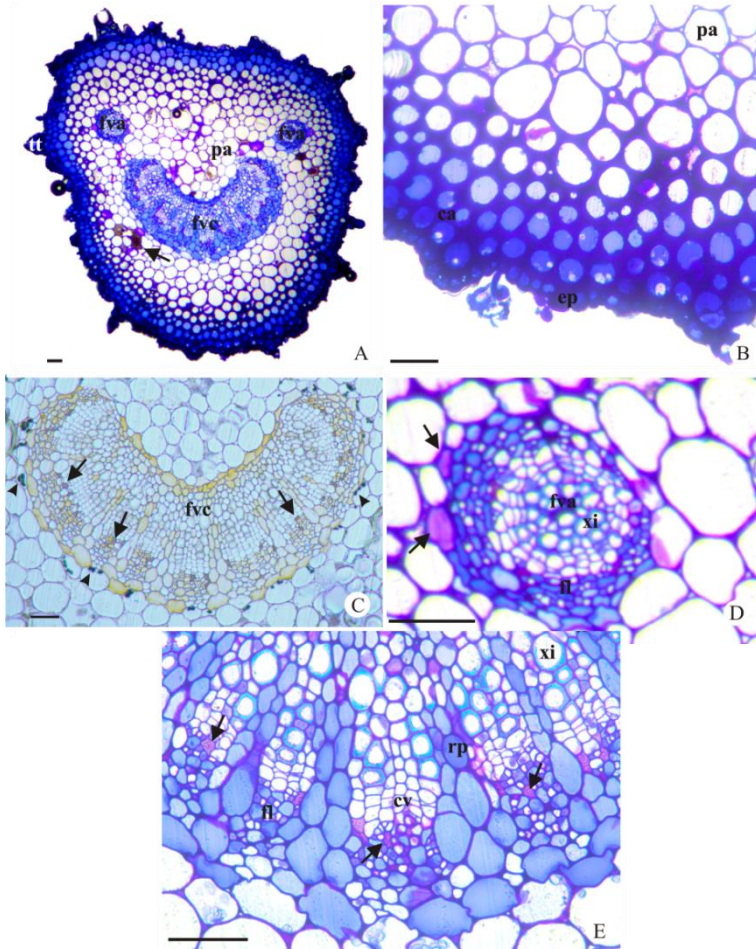


Figura 3. Secções transversais do pecíolo de *Varronia monosperma* Jacq. A. Vista geral onde se observa a forma de “D”, com um feixe vascular central colateral e dois menores anficirvais. B. Detalhe evidenciando epiderme unisseriada, colênquima anelar e parênquima de preenchimento. C. Feixe vascular central com bainha amilífera, evidenciado com Lugol (cabeça de seta). D. Detalhe do feixe anficirval. E. Detalhe do feixe central. câmbio vascular (cv), colênquima anelar (ca), epiderme (ep), feixe vascular anficirval (fva), feixe vascular colateral (fvc), floema (fl), idioblastos com areia cristalina (seta), parênquima de preenchimento (pa), raios parenquimáticos (rp), tricoma tector (tt), xilema (xi), barras 50 µm.

Testes histoquímicos

Sob microscopia eletrônica de varredura pode-se confirmar a natureza cristalina das areias presentes nos idioblastos (Figura 4A). Sob análise de EDS tais cristais apresentam maior porcentagem de cálcio (Figura 4B).

A coloração com Azul de Toluidina (ATO) tanto na lâmina foliar quanto no pecíolo evidenciou reações metacromáticas ressaltando diferentes colorações nos tecidos (Figura 2B-D, G-H, 3A-B, D-E, setas). Nas células da epiderme da face adaxial, observam-se as paredes celulares periclinais internas e externas de cor púrpura, evidenciando o espessamento primário, especialmente péctico, mais acentuado em relação às células da face abaxial (Figura 2B-D). No pecíolo também se observa o espessamento das paredes periclinais das células epidérmicas (Figura 3B). Destaca-se ainda a coloração púrpura nos cristólitos presentes nos tricomas tectores com base bulbosa ocorrentes na face adaxial da lâmina foliar (Figura 2B-C) evidenciando possivelmente a presença de polissacarídeos, especialmente pécticos. A intensa coloração em azul do conteúdo celular das células da epiderme (Figura 2B-D, 3A-B), do colênquima e do parênquima regular e clorofiliano, dos raios parenquimáticos do feixe vascular central da nervura mediana da folha (Figura 2G-H) (Figura, 3E), indica possivelmente presença de compostos fenólicos.

A ocorrência de grande quantidade de amiloplastos foi evidenciada no parênquima clorofiliano (Figura 4C), bem como a presença de bainha amilífera no pecíolo (Figura 3C) e ainda a presença de amiloplastos no colênquima anelar também do pecíolo. Na lâmina foliar, além da ocorrência dos grãos de amido no mesófilo e ausência destes nas células epidérmicas, foi evidenciado o espessamento péctico das paredes das células epidérmicas da face adaxial, em relação às células da face abaxial. Ainda a reação positiva para carboidratos gerais pode ser observada no conteúdo das células do parênquima paliçádico e da epiderme da face adaxial e dos tricomas glandulares (Figura 4D, setas). No pecíolo também observou-se reação positiva para carboidratos gerais no espessamento nas paredes das células epidérmicas e do colênquima (Figura 4F), assim como também nos raios parenquimáticos do feixe vascular central do pecíolo (Figura 4F) e da nervura mediana da lâmina foliar (Figura 4H).

Observou-se reação positiva para proteínas no conteúdo das células epidérmicas da face adaxial, assim como no conteúdo das células do parênquima clorofiliano, especialmente no paliçádico (Figura 4E).

No feixe da nervura mediana da lâmina foliar, assim como no feixe central do pecíolo observa-se reação positiva para proteínas no conteúdo das células do raio, nas células que envolvem o feixe vascular e ainda em algumas células do floema.

Substâncias lipofílicas foram observadas apenas na cutícula delgada.

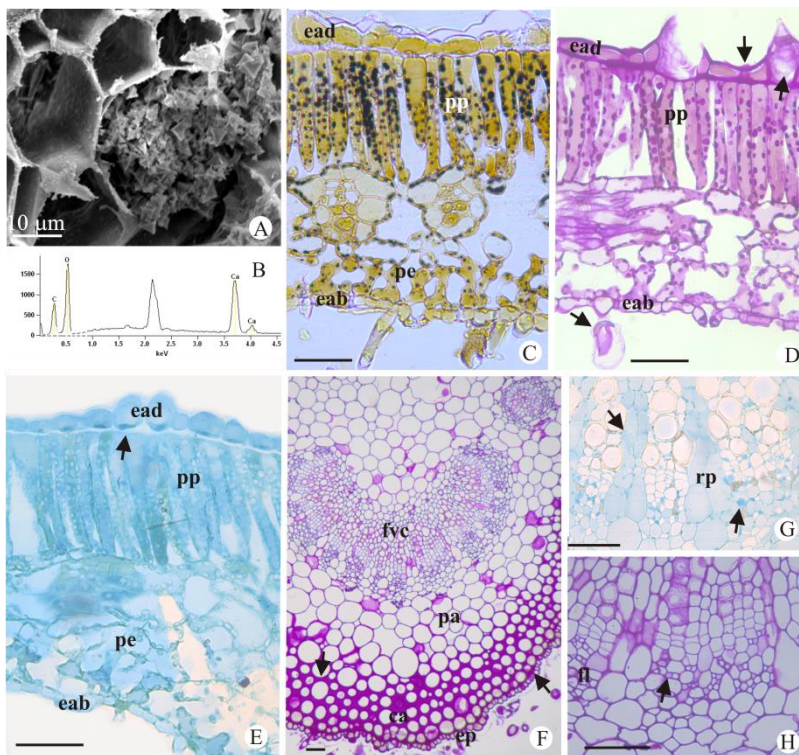


Figura 4. *Varronia monosperma* Jacq. A, C-H. Seções transversais. A, C-E, G. Lâmina foliar. F-H. Pecíolo. A. Microscopia eletrônica de varredura mostrando idioblasto com areia de cristal no parênquima da nervura mediana da folha. B. Gráfico gerado pela análise EDS nas areias de cristal da figura anterior, mostrando alta percentagem de cálcio. C. Reação com Lugol evidenciando presença de amiloplastos (pontos pretos) no parênquima clorofiliano. D, F, H. Reação com ácido periódico de Schiff (PAS). D. Reação positiva nas paredes das células epidérmicas, nos cystólitos dos tricomas tectores, no conteúdo do parênquima paliçádico e tricoma glândular. F. Reação positiva nas paredes das células epidérmicas e do colênquima. H. Reação positiva ao conteúdo dos raios parenquimáticos e de algumas células do floema. E, G. Reação para proteínas com Azul Brillhante de Comassi (CBB). E. Reação positiva ao nas células no conteúdo das epidérmicas e parênquimas. G. Reação positiva no conteúdo das células do floema, do raio parenquimático e nas células que envolvem o feixe vascular. Destaque das reações positivas (setas). colênquima anelar (ca), epiderme adaxial (ead), epiderme abaxial (eab), epiderme (ep), feixe vascular colateral (fvc), floema (fl), parênquima paliçádico (pp), parênquima esponjoso, parênquima de preenchimento (pa), raios parenquimáticos (rp) Barras 50 μ m.

4. DISCUSSÃO

A análise dos caracteres anatômicos e histoquímicos de *V. monosperma* juntamente com os trabalhos de Tölke *et al.* (2013) e Ventrella & Marinho (2008) nos possibilitam traçar semelhanças, distinções e compilar informações para agregar ao gênero *Varronia*.

Varronia monosperma possui paredes epidérmicas anticlinais sinuosas como citado para *V. globosa* (Tölke *et al.*, 2013) bem como é hipoestomática com estômatos elevados como observado em *V. leucocephala* (Tölke *et al.*, 2013) e *V. curassavica* (Ventrella & Marinho 2008). Os tricomas tectores observados em *V. monosperma* são semelhantes aos que ocorrem em *V. globosa* e *V. leucocephala* (Tölke *et al.* 2013) e em *V. curassavica* (Ventrella & Marinho 2008) os quais são unicelulares, cônicos, alongados e com projeções pontiagudas nas paredes, no entanto, em *V. leucocephala* (Tölke *et al.*, 2013) as células adjacentes não são salientes acima da epiderme, diferindo das demais. Além disso, em *V. monosperma* os tricomas tectores apresentam projeções nas paredes, como em *V. leucocephala* e em *V. globosa*. Nos tricomas tectores e de formato cônico observados em *V. monosperma*, assim como em *V. leucocephala* (Tölke *et al.*, 2013) e *V. curassavica* (Ventrella & Marinho 2008) ocorre a presença de base bulbosa com cristólito. Outro tipo de tricoma comum observado no presente estudo e citado para a família Boraginaceae é o glandular. Em *V. monosperma*, o tricoma glandular encontrado, assemelha-se com o tipo descrito por Tölke *et al.* (2013) em *V. globosa* como subséssil com cabeça globular. No entanto, em *V. globosa*, segundo Tölke *et al.* (2013), os tricomas globulares ocorrem nas duas faces da folha, enquanto que nesse estudo observou-se que em *V. monosperma*, os tricomas glandulares ocorrem apenas na face abaxial com cabeça unicelular. Em *V. curassavica* (Ventrella & Marinho 2008) são observados várias morfologias de tricomas glandulares, sendo apenas um deles semelhantes aos observados em *V. monosperma*.

Os tricomas são apêndices epidérmicos com diversas morfologias e embora sua estrutura varie bastante dentro de famílias e táxons inferiores, eles podem ser uniformes em um determinado táxon e têm sido utilizados com propósitos taxonômicos (Dasti *et al.*, 2003). Além de exercerem diversas funções fisiológicas, principalmente em plantas de ambientes áridos, também aumentam a reflexão dos raios solares, diminuindo assim a temperatura foliar, aumentam também a camada superficial de ar parado na folha, evitando a perda de água pela difusão do vapor da água (Fahn, 1986; Evert, 2013). Os tricomas ainda

atuam como defesa contra insetos e outros herbívoros. A abundante densidade de tricomas não glandulares em *V. monosperma* em ambas as superfícies e principalmente na superfície abaxial está de acordo com as possíveis funções fisiológicas citadas, já que *V. monosperma* é espécie tolerante a diversos ambientes, dentre eles locais abertos expostos à altas temperaturas. Neste sentido Selvi & Bigazzi (2001) salientam ainda que as projeções das paredes dos tricomas tectores, como as observadas nesse estudo em *V. monosperma* ajudam à reflexão dos raios solares reduzindo a temperatura da superfície da folha. Outra característica xérica também observada em *V. monosperma* é a presença de estômatos apenas na face abaxial, reduzindo a perda de água uma vez que os estômatos estão protegidos da radiação solar Lakusic *et al.* (2010). Além disso, os estômatos estão acima do nível da epiderme, como observado em outras espécies de *Varronia* (Ventrella & Marinho, 2008; Tölke *et al.*, 2013) o que pode estar relacionado com a melhora nas trocas gasosas (Tölke *et al.*, 2013).

De acordo com Solereder (1908) a ocorrência de tricomas, tanto pelos de cobertura, quanto glandulares são comuns para os representantes da família Boraginaceae *sl.* com grande importância taxonômica. Segundo o mesmo autor, os tricomas podem ter a parede inteiramente ou parcialmente calcificada, com cristólitos na base, serem unicelulares e unisseriados, com paredes lisas e verrugosas, conforme constatado no presente estudo em *V. monosperma* e em outras espécies do gênero (Tölke *et al.* 2013; Ventrella & Marinho 2008). De acordo com Evert (2013) a presença de cristólito no tricoma o classifica como especializado podendo ocorrer também em *Humulus*, *Boehmeria*, *Cannabis*. De acordo com Metcalfe e Chalk (1950) o número e o tamanho de cristais de cálcio nos tricomas depende da disponibilidade de cálcio no solo e pode variar durante o ano, dificultando a sua evidenciação. O significado fisiológico dos cristólitos ainda não é claro. Tem sido sugerido que a formação dos cristólitos pode estimular a fotossíntese por aumentar o fornecimento de dióxido de carbono ou que eles podem ser o produto de um mecanismo de desintoxicação similar à formação de grânulos de cálcio em células de moluscos (Setoguchi *et al.*, 1989). Em Boraginaceae ocorrem também idioblastos com areia cristalina, as quais também são de oxalato de cálcio (Solereder, 1908). Em *V. monosperma* foi constatado através da análise em EDS a alta concentração de cálcio nesses idioblastos com areia cristalina. Apesar de não ter sido confirmado a presença de carbonato de cálcio no cristólito dos tricomas em *V. monosperma*, os testes indicaram a presença de polissacarídeos neutros.

O presente estudo mostrou muitas semelhanças entre os caracteres morfoanatômicos foliares de *V. monosperma* e *V. leucocephala* (Tölke *et al.* 2013). A lâmina foliar é hipostomática com estômatos elevados, abundância de tricomas tectores na face abaxial, cristólito na base dos tricomas tectores cônicos, idioblastos com areia de cristal, colênquima anelar, formato em D não sulcado do pecíolo e feixes vasculares colaterais e anficrivais no pecíolo. As espécies diferem pela forma e abundância de tricomas glandulares os quais são subséssil e abundantes na face abaxial em *V. monosperma* e pedunculados e mais abundantes na face adaxial em *V. leucocephala*. A morfologia e a distribuição dos tricomas glandulares também distingue *V. monosperma* e *V. curassavica* (Ventrella & Marinho, 2008). *V. monosperma* apresenta apenas um tipo de tricoma glandular globular subséssil ocorrendo apenas na face abaxial. Em *V. curassavica* são distintos dois tipos de tricomas glandulares, o globular e o reniforme, além disso, entre eles variam o tamanho da haste, ocorrem em ambas as faces e são mais abundantemente na face abaxial.

Nossos resultados corroboram com Tölke *et al.* (2013) os quais afirmam que os tricomas tectores são muito semelhantes entre espécies de *Varronia* não sendo uma boa característica determinante, mas que entretanto, os tricomas glandulares são morfologicamente diferentes e representam uma característica diferencial para as espécies deste gênero.

Sobre a composição histoquímica de *Varronia*, Tölke *et al.* (2013) identificaram presença de lipídios em vários tecidos da lâmina foliar e do pecíolo de *V. leucocephala*, como epiderme, parênquima paliádico, idioblastos do sistema vascular, sugerindo que tal acúmulo seja uma característica ao ambiente xérico, promovendo retenção e evitando perda excessiva de água. Tais células tiveram reação positiva para proteínas em *V. monosperma*, assim como também para compostos fenólicos. Pereira (2013), utilizando o extrato bruto de folhas de *V. curassavica*, identificou lipídios totais, óleos essenciais, esteróides, terpenóides com grupo carbonila, pectinas, compostos fenólicos, flavonóides, o que pode estar de acordo com alguns resultados indicativos obtidos nesse estudo e apontar *V. monosperma* como potencialmente viável para estudos químicos e farmacológicos. A presença de amido no parênquima clorofiliano observada em *V. monosperma* também foi constatada em *V. leucocephala* (Tölke *et al.* 2013) e podem estar atuando no controle da pressão osmótica sobre déficit hídrico acumulando solutos para conversão de amido em carboidratos simples (Rotondi *et al.* 2003). Chama-se atenção também a

ocorrência de bainha amilífera, caracterizando a endoderme no pecíolo de *V. monosperma*.

REFERÊNCIAS

- CORREA, Manuel Pio. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura IBDF, 1952. 3: 312-313.
- DASTI, Altaf A.; BOKHARI, T.Z; MALIK, Saeed A.; AKHTAR, Rubina. **Epidermal morphology in some members of family Boraginaceae in Baluchistan**. Paquistão: Asian Journal of Plant Sciences, 2003. 2: 42-47.
- EVERT, Ray Franklin. **Anatomia das plantas de ESAU**. São Paulo: Blucher, 2013.
- FAHN, Abraham. **Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves**. Annals of Botany, 1986. 57: 631-637.
- GASPARINO, Eduardo Custódio; Barros, Maria Amélia Vitorino da Cruz. **Palinotaxonomia das espécies de Cordiaceae (Boraginales) ocorrentes no Estado de São Paulo**. Revista Brasileira de Botânica, 2009. 32: 33-55.
- GOTTSCHLING, M.; HILGER, H. H.; WOLF, M.; DIANE, N.; **Secondary structure of the ITS1 transcript and its application in a reconstruction of the phylogeny of Boraginales**. Plant Biology, 2001. 3: 629-636.
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry**. New York: H.H. Freeman and Co., 1962.
- JOHANSEN, Donald Alexander. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Will, 1940.
- LAKUSIC, Branislava; JANCIC, Radisa; STEVANOVIĆ, Branka; LAKUSIC, Dmtar. **Habitat-related adaptations in morphology and anatomy of Teucrium (Lamiaceae) species from the Balcan peninsula (Serbia and Montenegro)**. Flora, 2010. 205:633–646.
- LO´, Stella Melissa Siu; DUARTE, Márcia do Rocio. **Leaf and steam morpho-anatomy of Cordia americana (L.)**. Gottschiling & J. S.

Mill., Boraginaceae. Latin American Journal of Pharmacy, 2011. 30: 823-828.

MARQUES, Mel Simionato. **Retratos de dois momentos: plantas de uso medicinal nas comunidades da Costa da Lagoa e do Canto Dos Araçás, Florianópolis, SC.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Centro de Ciências Biológicas, UFSC. 2010.

MATIAS, Edinardo Fagner Ferreira; COUTINHO; Henrique Douglas Melo; COSTA, José Galberto Martins da; SANTOS, Karla Katiúcia Alves dos; ALMEIDA, Thiago Silva de. **Atividade antibacteriana in vitro de *Croton campetris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC.** Revista Brasileira de Biociências, 2010. 8:294-298.

METCALFE, C. R; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons.** Clarendon Press, Oxford, 1950.

MILLER, James S. **New Boraginaceae from tropical America 4: three new species of *Cordia* from South America.** Novon, 2001. 11: 421-428.

MILLER, James S.; GOTTSCHLING, Marc. **Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales): resurrection of the genus *Varronia* P.** Br. Taxon, 2007. 56: 163-169.

PEREIRA, Juhán Augusto Scardelato. ***Cordia verbenacea* DC.: perfil morfo-anatômico, histoquímico, farmacognóstico e avaliação da atividade anti-candida do extrato hidroetanólico e suas frações.** Dissertação (Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista. 2013.

RANGA, Neusa Taroda; MELO, José Iranildo de; SILVA, Larissa Cavalheiro da. **Boraginaceae. In: Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo.** Wanderley, M. G. L *et al.* (eds.). Instituto de Botânica, São Paulo, 2012. 7: 117-142.

ROTONDI, Annalisa; ROSSI, Federica; ASUNIS, Corrado; CESARACCIO, Carla. **Leaf xeromorphic adaptations of some plants of a coastal Mediterranean macchia ecosystem.** Journal of Mediterranean Ecology, 2003. 4:25-35

SCHARDONG, Roberta Moriconi Freire. **Levantamento das plantas de uso medicinal nas comunidades do Canto dos Araçás e Costa da Lagoa, Ilha de Santa Catarina, Florianópolis, SC.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Centro de Ciências Biológicas, UFSC. 1996.

SELVI, Frederico; BIGAZZI, Massimo. **Leaf surface and anatomy in Boraginaceae tribe Boragineae with respect to ecology and taxonomy.** Flora, 2001. 196:269–285.

SERTIÉ, Jayme A. A.; PANIZZA, Sylvio; BASILE, Aulus C.; ZELNIK, Raymond. **Anti-Inflammatory Activity and Sub-Acute Toxicity of Artemetin.** Planta Medica, 1990. 56: 36-40.

SETOGUCHI, H.; OKAZAKI, M.; SUGA, S. **Calcification in higher plants with special reference to cystoliths. In: Origin, Evolution, and Modern Aspects of Biomineralization in Plants and Animals.** R. E. Crick, New York :ed. Plenum Press, 1989. 409-418

SIMONIATO, Cesar Paulo. (Professor da Universidade Federal de Santa Catarina no curso de Graduação em Medicina, Médico clínico geral da Prefeitura Municipal de Florianópolis e Tutor do Horto Didático de Planta Mediciniais do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago). Conversa com: Angela Maria Demétrio (Graduanda do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina). 2016/MARÇO/10.

SOLEREDER, Hans. **Systematic Anatomy of the dicotyledons,** Clarendon Press, Oxford, 1908. 1: 554-559.

SOUZA, G. Coelho de; HAAS, A.P.S.; POSER, G.L. von; SCHAPOVAL, E.E.S.; ELISABETSKY, E.; **Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies In the south of Brazil.** Journal of Ethnopharmacology, 2004. 90: 135-143.

SOUZA, Luiz Antonio de. **Morphology and anatomy of the *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex I.M. Johnst. Diaspore (Boraginaceae).** Brazilian Archives of Biology and Technology, 2008. 51: 761-768.

TÖLKE, Elisabeth Emília Augusta Dantas; MELO, José Iranildo Miranda de; CARMELLO-GUERREIRO, Sandra Maria; LACCHIA, Ana Paula Stechhahn. **Leaf anatomy with emphasis on separation of two species of Varronia P. Br. (Cordiaceae) of the Brazilian semi-arid region.** Brazilian Journal of Botany, 2013. 36: 189-201.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Disponível em <<http://www.tropicos.org/name/4002730>> Acesso em 23/06/2016.

VENTRELLA, Marília Contin; MARINHO, Cristina Ribeiro. **Morphology and histochemistry of Glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) leaves.** Revista Brasileira de Botânica, 2008. 31: 457-467.