**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Anatomia e perfil químico de duas espécies do gênero *Smilax* L.
(Smilacaceae)**

João Marcelo Silva

Dissertação para obtenção do título de Mestre em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2010**

JOÃO MARCELO SILVA
Bacharel em Ciências Biológicas

Anatomia e perfil químico de duas espécies do gênero *Smilax* L. (Smilacaceae)

Orientador:
Profa. Dra. **BEATRIZ APPEZZATO-DA-GLÓRIA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e
Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Silva, João Marcelo

Anatomia e perfil químico de duas espécies do gênero *Smilax* L. (Smilacaceae) / João Marcelo Silva. - - Piracicaba, 2010.
68 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Anatomia vegetal 2. Compostos fenólicos 3. Cromatografia líquida de alta eficiência
4. Fitoquímica 5. Liliales 6. Morfologia vegetal 7. Plantas medicinais I. Título

CDD 584.323
S586a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

À minha família, dedico.

AGRADECIMENTOS

A professora doutora Beatriz Appezzato da Glória merece muito mais do que essas singelas palavras de agradecimento. Receber um aluno desconhecido e abrir para ele todas as portas do conhecimento é uma tarefa que exige mais que profissionalismo, exige amor à profissão e ao ser humano. Por sua genialidade, ética, companheirismo, dedicação e outras incontáveis qualidades, ela vai levar consigo a minha admiração, a minha amizade e o meu respeito, para sempre!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) agradeço pela bolsa institucional de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento deste estudo (Projeto nº: 05/58964-9).

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, que por meio do seu programa de pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, realizado no Departamento de Ciências Biológicas, possibilitou o aprendizado e o trabalho deste que escreve.

À equipe do Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Ciências Biológicas (ESALQ-USP), principalmente à Marli K. M. Soares, pelo apoio incessante e inquestionável.

À Profa. Dra. Regina Helena Potsch Andreatta pela identificação do material coletado.

À equipe do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Agricultura (NAP/MEPA – ESALQ/USP), em especial ao Prof. Dr. Eliot Watanabe Kitajima, pelo apoio no uso dos equipamentos.

Aos funcionários do Centro de Biotecnologia (CEBTEC), do departamento de Ciências Biológicas (ESALQ/USP), pelo apoio na casa de vegetação.

À Doutora Juliana Aparecida Severi, pelo auxílio e realização das análises químicas deste trabalho.

Aos funcionários do Museu de Biologia Melo Leitão, em Santa Teresa – ES, pelo apoio e acolhimento nas coletas.

Aos funcionários da Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa (EAFST) pelo apoio nas coletas.

Aos funcionários do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pelo apoio e acolhimento nas coletas.

À minha família, pela paciência, apoio e compreensão quanto à minha ausência durante o período deste estudo.

Aos meus “irmãos” da República Popular Democrática Lesma Lerda, pelos indescritíveis momentos e pelas lições de vida.

A todos os meus muitos e grandes colegas e amigos que conquistei nesta jornada acadêmica.

A todos vocês, que me ensinam diariamente a arte de viver, o meu muito obrigado!

“...somos todos iguais no infinito da nossa ignorância ”. (Karl Popper)

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Estudos anatômicos.....	17
3.2 Etapa química.....	19
4 RESULTADOS.....	21
4.1 Anatomia foliar.....	21
4.2 Anatomia do caule não-espessado.....	35
4.3 Sistemas subterrâneos.....	39
4.4 Perfil cromatográfico.....	47
5 DISCUSSÃO.....	53
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
REFERÊNCIAS.....	63

RESUMO

Anatomia e perfil químico de duas espécies do gênero *Smilax* L. (Smilacaceae)

As espécies do gênero *Smilax* L., conhecidas pelos nomes vulgares japecanga, cipó japecanga, salsaparrilha e aputá, são amplamente utilizadas como plantas medicinais, para os mais variados tipos de tratamentos. O presente estudo apresenta a análise dos caracteres anatômicos e do perfil químico de indivíduos da espécie *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow coletados em área de Mata Atlântica, em Santa Tereza – ES e *Smilax aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow coletados na Floresta Amazônica, em Manaus. O material botânico foi herborizado e identificado pela especialista Profa. Dra. Regina Helena Potsch Andreato. As exsiccatas foram registradas e incorporadas ao acervo do Herbário da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, sob os números 107665 e 111412. As amostras de folhas (região mediana: internervural, nervura central e bordo), de caules não espessados (terceiro entrenó, próximo ao solo, subterrâneo), de rizóforos e raízes adventícias foram fixadas em FAA 50 (1:1:8 formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%), infiltradas em historesina (Leica Historesin), seccionadas em micrótomo rotativo, coradas e montadas em resina sintética. Também foram realizados testes histoquímicos usuais. Para realizar as análises da ornamentação cuticular ao microscópio eletrônico de varredura, amostras de folhas foram fixadas em Karnovsky, desidratadas em série de acetona e pelo método do ponto crítico do CO₂, montadas em suporte de alumínio e revestidas com ouro. Os perfis cromatográficos de ambas as espécies foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Detector Diodo, utilizando-se extratos metanólicos (MeOH) de raízes e rizóforos. Observou-se que as espécies diferem com relação à ornamentação e à espessura cuticular, arranjo e espessamento parietal das células epidérmicas, tipos de estômatos, localização e natureza de conteúdos celulares, presença de idioblastos com ráfides, cristais prismáticos, e cristais de areia, presença de grãos de amido, e tipo de colênquima e presença de bainha esclerenquimática no pecíolo. As duas espécies apresentam rizóforos formadores de raízes adventícias, que podem ser brancas ou marrons dependendo do seu revestimento. Os perfis cromatográficos revelaram presença de substâncias fenólicas em ambas as espécies, porém, em rizóforos de amostras de *S. syphilitica*, foi observada maior complexidade química. As características anatômicas e químicas encontradas nas espécies estudadas proporcionarão uma base mais segura para a certificação e comercialização dessas plantas medicinais.

Palavras-chave: Morfoanatomia; Rizóforo; *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow; *Smilax aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow; Salsaparrilha; Substâncias fenólicas

ABSTRACT

Anatomy and chemical profile of two species of the *Smilax* L. (Smilacaceae) genus

Species of the genus *Smilax* L., popularly known as japecanga, salsaparrilha and aputá are widely used as medicinal plants in many kinds of treatments. This study presents anatomical features and chemical profiles of the *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow from Atlantic Forest (Santa Teresa – Espírito Santo) and *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow from Amazon Forest (Manaus – Amazonas). The botanical material was herborized and identified by the genus specialist, Prof. Dr. Regina Helena Potsch Andreato. The collection was registered in the Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” herbarium under the numbers 107665 and 111412. Leaf blades (median region: intervacular, midvein and edge), stems (third internode region, close to the ground internode and underground internode), rhizophores and adventitious roots were fixed in FAA 50 (1:1:8 formaldehyde, glacial acetic acid and 50% ethylic alcohol), embedded in Historesin (Leica Historesin), sectioned by rotary microtome, stained and mounted in synthetic resin. Also, usual histochemical tests were performed. To perform cuticle the cuticle ornamentation analyses under a scanning electron microscopy. Leaf samples were fixed in Karnovsky, dehydrated in acetone series and subjected to critical point method of CO₂, mounted on aluminum stubs and coated with gold. Chemical profile of both species was analyzed by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Diode Array Detector using methanol extracts (MeOH) of roots and rhizophores. The studied species differ regarding cuticle thickness and ornamentation, cell wall thickness and arrangement in the epidermis, stomata classification, location and nature of chemical cell contents, presence of idioblasts with raphides, prismatic crystals, crystal sands, presence of starch grains, presence of collenchyma and thickened cells around vascular bundles in the petiole. Both species have rhizophores forming white and brown adventitious roots whose color depends on their covering tissue. Chemical profile showed presence of phenolic compounds in both species, although in *S. syphilitica* it was observed higher chemical complexity. The anatomical and chemical characteristics found in the studied species will provide a more secure basis for the certification and commercialization of these medicinal.

Keywords: Greenbrier; Morphoanatomy; Phenolic compounds; Rhizophore; *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow; *Smilax aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow

1 INTRODUÇÃO

As atuais atividades extrativistas, aliadas às políticas conservacionistas pouco eficazes, entre outros fatores como especulação imobiliária e poluição, ameaçam a sobrevivência das espécies da flora brasileira de uma maneira geral. Incontáveis espécies ainda não tiveram seu potencial para a exploração - comercial ou medicinal - inteiramente esclarecido e pode ser que nunca venham a ter. Segundo Vieira (1999), milhares de espécies medicinais já foram identificadas nos biomas brasileiros, todos com alto grau de degradação.

Neste sentido, aborda-se o gênero *Smilax* L. conhecido por abrigar o maior número de espécies (duzentos a trezentos e cinquenta) dentro da família Smilacaceae. Tal gênero também é conhecido por sua existência cosmopolita e, no Brasil, trinta e uma espécies compõem o quadro de ocorrência (ANDREATA, 1997).

A importância medicinal deste gênero é reconhecida globalmente desde a antiguidade e o extrato de suas folhas e raízes é utilizado para o tratamento de enfermidades como sífilis, gota, reumatismo, afecções cutâneas, asma, dores de dente, ferimentos, e até mesmo dores nos olhos (VANDERCOLME, 1971-73; PECKOLT, 1936; HOENE, 1955; CHHABRA et al., 1993). Entretanto, são poucas as espécies brasileiras investigadas cientificamente, sendo o conhecimento popular a maior fonte de informações disponíveis (ANDREATA, 1997).

Andreatta (1997) cita que cerca de cem binômios de sessenta espécies do gênero *Smilax* L. já foram identificados, o que corrobora a colocação de que a classificação taxonômica para as espécies deste gênero é falha, necessitando de uma revisão conclusiva (KOYAMA, 1960; ANDREATA, 1980; GUAGLIANONE; GATTUSO, 1991). Da mesma maneira, Martins e Appezzato-da-Glória (2006) apontam para uma deficiência no uso dos caracteres descritivos indicados pela Farmacopéia Brasileira de 1929, uma vez que estes não são suficientes para a separação anatômica das espécies.

A espécie foco deste trabalho, *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, também conhecida pelos nomes vulgares japecanga, cipó japecanga,

salsaparrilha e aputá, ocorre no Brasil, nos Estados de Roraima, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Maranhão, Ceará, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais e Espírito Santo. Habita a floresta amazônica (na mata de terra firme, mata de igarapé, campinarana), floresta de tabuleiro, mata de restinga, brejos nordestinos, ocasionalmente também a caatinga e o cerrado, tendo os seus extratos utilizados no tratamento de sífilis, cólicas menstruais, e como abortivo (ANDREATA, 1997).

O estudo da anatomia e morfologia de plantas é comumente utilizado para a atribuição de caracteres que permitam a diferenciação entre grupos vegetais, como observado por Fisher e French (1976), que investigaram e caracterizaram meristemas internodais de monocotiledôneas. Da mesma maneira, espécies do gênero *Smilax* L. foram agrupadas pela presença de uma camada unisseriada de células, contínua à epiderme, em caules aéreos (HURST, 1950).

Os principais grupos de substâncias químicas encontradas nas plantas do gênero *Smilax* L. são: flavonóides, taninos, ácidos fenólicos (XU et al., 2005; CHEN et al., 1999; GUO et al., 2004; CHHABRA; UIISO, 1990) e saponinas (SHU et al., 2004; JU; JIA, 1992; BERNARDO et al., 1996). Estes compostos são geralmente produtos do metabolismo secundário das plantas superiores, sendo responsáveis, principalmente, pela proteção contra a herbivoria (KANDIL et al., 2004).

Silva et al. (2005) consideram que muito do conhecimento tradicional, especialmente sobre plantas medicinais, está sendo perdido com o tempo, seja devido à falta de investigação científica propriamente dita, seja pelo uso inadequado dos recursos vegetais. A falta de técnicas de manejo sustentável do uso da terra promove imensa pressão sobre os biomas brasileiros, ameaçando muitas espécies de extinção.

Considerando o exposto acima, o presente projeto teve por **objetivos**:

- Analisar a morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Smilax syphilitica* coletadas em áreas de Mata Atlântica e Floresta Amazônica. A meta é levantar caracteres de valor diagnóstico a fim de diferenciar tal espécie das outras do gênero.
- Analisar o perfil químico de *S. syphilitica* através do HPLC-UV-PDA (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Diodos) utilizando-se extratos metanólicos de raiz, rizóforo e ramos aéreos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ao executar levantamento dos estudos anteriores voltados à descrição e classificação de *Smilax syphilitica*, Andreatta (1997) mostrou uma nítida evolução e convergência entre as conclusões de seus autores, como se revela a seguir. Willdenow (1806) descreveu *S. syphilitica* baseado em um exemplar estéril, coletado na Venezuela, pobremente representado pela porção apical do ramo. Grisebach (1842), através da análise de um número maior de exemplares, além de completar a descrição das flores pistiladas e frutos, considerou uma nova variedade, a qual chamou de *S. syphilitica* var. *aequatorialis*, que se diferenciava unicamente pelos frutos. Kunth (1850) apud Andreatta (1997) re-descreveu *S. syphilitica*, porém, sem acrescentar novas informações. Destaca-se a consideração de duas novas espécies pelo autor: *S. pseudosyphilitica* e *S. schomburgkiana*, entretanto, sem descartar a afinidade com *S. syphilitica*.

De Candolle (1878) tratou os três indivíduos acima como *taxa* independentes, tendo elevado *S. syphilitica* de Grisebach (1842) ao *status* de espécie, denominando-a de *S. aequatorialis*. Descreveu três novas variedades, *S. pseudosyphilitica* var. *foliosa*, *S. schomburgkiana* var. *gracilis* (baseando-se, para esta, em um espécime cujo pedúnculo era menor do que na variedade típica), e *S. schomburgkiana* var. *foliosa*.

Smith (1939 apud ANDREATTA, 1997) publicou uma nova espécie, que denominou *S. graciliforma*, relacionado-a com *S. cinnamomea* Desf., espécie próxima de *S. pseudosyphilitica*.

Assim, a análise de todos os tipos envolvidos, bem como observações na natureza, permitiu a Andreatta (1997) verificar que todos os táxons citados se referiam a uma única espécie, *S. syphilitica*, cujos ramos variam desde lisos a verrucosos e as folhas apresentam consistência em geral coriácea, mas às vezes membranácea.

3 MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em áreas de Mata Atlântica, na região do Município de Santa Tereza – ES (S 19°56'21,0", W 40°35'55,2") e Floresta Amazônica, na região da Reserva Florestal Adolpho Ducke, no Município de Manaus (entre as coordenadas 03°00'00"-03°08'00"S e 59°52'40"-59°58'00"W). O material coletado foi herborizado e identificado pela especialista Profa. Dra. Regina Helena Potsch Andreato. As exsiccatas foram registradas e incorporadas ao acervo do Herbário da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESA) da Universidade de São Paulo, sob os números 107665 (ES) e 111412 (AM).

3.1 Estudos anatômicos

As análises anatômicas foram realizadas com os órgãos vegetativos de, no mínimo, três espécimes. Na folha completamente expandida, foram analisados a região mediana da lâmina foliar (na porção da nervura central, área internervural e bordo) e o pecíolo. O caule foi analisado no terceiro entrenó (a partir do ápice), no entrenó mais próximo ao solo e no primeiro entrenó subterrâneo. No sistema subterrâneo, além do rizóforo, foram analisadas as raízes adventícias com diferentes diâmetros. As amostras foram fixadas em FAA 50 (1:1:8 formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%) (JOHANSEN, 1940). Para melhor fixação, as amostras foram submetidas ao vácuo, para a retirada do ar contido nos tecidos.

Para a análise da ornamentação cuticular, amostras de folhas foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), desidratadas em série etílica até etanol absoluto. Em seguida, submetidas à desidratação pelo método de secagem ao ponto crítico de CO₂ (HORRIDGE; TAMM, 1969), montadas sobre suportes de alumínio e cobertas com uma camada de ouro de 30 a 40 nm. As observações e elétrôn-micrografias foram realizadas ao microscópio eletrônico de varredura modelo LEO VP 435, operado a 20 kV, com as escalas das elétrôn-micrografias diretamente impressas

nas imagens. Os padrões de deposição de cera epicuticular seguiram as classificações de Barthlott et al. (1998) e Metcalfe e Chalk (1979).

As secções (transversais e longitudinais) dos caules e do sistema subterrâneo foram realizadas em micrótomo de deslize, com 20-40 μm de espessura, clarificadas com hipoclorito de sódio a 20% e lavadas em água destilada. Alguns cortes foram corados com verde iodo e vermelho Congo (DOP; GAUTIÉ, 1928) e montados em gelatina glicerizada (lâminas semipermanentes). Outros cortes foram corados em safranina e azul de astra (BURGER; RICHTER, 1991), e montados em resina sintética "Entellan" (lâminas permanentes).

Amostras dos órgãos vegetativos também foram desidratadas em série etílica, incluídas em hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historesin) e os blocos obtidos foram seccionados em micrótomo rotativo entre 5-10 μm de espessura. O material foi corado com safranina e azul de astra (BURGER; RICHTER, 1991) ou em azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato e ácido cítrico pH 4,5 (SAKAI, 1973) para as análises histológicas usuais e em Calcofluor White M2R para a verificação da presença de celulose (HUGHES; MCCULLY, 1975). As lâminas coradas foram montadas em resina sintética "Entellan".

Para o estudo das células do mesófilo, foi utilizada a técnica de maceração de tecidos, que constitui de tratamento com ácido crômico 10% e ácido nítrico 10%, coloração, desidratação e montagem em gelatina glicerizada.

Os testes histoquímicos foram realizados em amostras de órgãos vegetativos frescos ou fixados, seccionadas em micrótomo de deslize ou rotativo. A presença de substâncias lipídicas foi visualizada pelo emprego de Sudan IV e Sudan black B (JENSEN, 1962). A presença de amido foi verificada pelo cloreto de zinco iodado (STRASBURGER, 1913). A presença de substâncias protéicas, pelo emprego de anilina blue black (FISHER, 1968) e a de substâncias fenólicas pelo emprego de cloreto férrico (JOHANSEN, 1940). A presença de lignina foi evidenciada por meio da floroglucina em meio ácido (JOHANSEN, 1940) e as substâncias pécticas, pelos corantes vermelho de rutênio e azul de metileno (JOHANSEN, 1940). As lâminas foram montadas com o próprio reagente, em água destilada, gelatina glicerizada ou em resina sintética "Entellan".

As lâminas foram analisadas no microscópio trinocular Leica DM LB, acoplado à câmera de vídeo modelo Leica DC 300 F, e as imagens geradas, capturadas no microcomputador.

A morfologia dos órgãos vegetativos foi documentada por meio de fotografias com máquina digital e de ilustrações botânicas.

3.2 Etapa química

Extração

Raiz, rizóforo e ramos aéreos de *S. syphilitica* foram secados em estufa e triturados separadamente com o auxílio do moinho de facas. Os extratos foram preparados a partir de maceração a frio em metanol (25×10^{-3} g mL⁻¹, em duas horas de banho ultrassônico), seguida de filtração em papel-filtro pregueado, rotaevaporação sob pressão reduzida (em temperatura inferior a 40° C), transferência para vidros tarados em capela, até completa eliminação dos solventes, restando somente os extratos metanólicos.

Perfil cromatográfico

Os extratos metanólicos obtidos foram injetados no HPLC-UV-PDA (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Diodos). Alíquotas de 30 mg de cada extrato (ramos, raízes e rizóforos) foram dissolvidas em 1 mL de solução MeOH/H₂O 8:2, filtradas em filtro Millex de 0,45 µm e em filtro de 0,22 µm. As soluções foram submetidas ao fracionamento em cartucho Sep-Pak RP18 (Supelco, com 100 mg de adsorvente), eluído com uma mistura de MeOH/H₂O 8:2. Os eluatos finais foram investigados sob diferentes condições de análise, variando-se a fase móvel, o fluxo e o comprimento de onda (200 a 400 nm). Os picos apresentados na região de absorção ultravioleta foram comparados com os padrões disponíveis, para fins de identificação.

4 RESULTADOS

Foram observadas diferenças relevantes entre os caracteres anatômicos dos indivíduos procedentes das regiões supracitadas. Por recomendação da especialista do gênero, Profa. Dra. Regina Helena Potsch Andreato, adotou-se a classificação de *Smilax aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow para uma das amostras do Estado do Amazonas (AM).

4.1 Anatomia foliar

Lâmina foliar

A lâmina foliar de *S. syphilitica* e *S. aff. syphilitica* é coriácea, com formato lanceolado, ápice apiculado, base obtusa e margem inteira (Figuras 1A-C). A venação é do tipo acródroma basal, com três nervuras principais e duas inconspícuas (Figura 1B). A folha é completa e apresenta limbo, e pecíolo, provido de um par de gavinhas (Figura 1B) e bainha.

Com relação à análise ultra-estrutural, a ornamentação da cutícula e o padrão de deposição de cera epicuticular variam de acordo com a face da lâmina foliar (Figuras 2 A-G). Na face adaxial, os espécimes do Espírito Santo (ES) possuem o padrão de deposição em crostas, com grânulos e plaquetas (Figura 2A), e os do AM, na forma de rede de cumes arredondados (Figura 2C). Na face abaxial, a cera epicuticular é depositada unicamente na forma de rede de cumes arredondados, mais ou menos conspícuos (Figuras 2B, D). Em *S. aff. syphilitica*, sobre ambas as faces foliares, estes cumes estão em paralelo (Figuras 2E, F) e os espaços entre eles são preenchidos por inúmeras plaquetas membranáceas (Figura 2G).

Em ambas as espécies, a epiderme é uniestratificada e recoberta por cutícula espessa formando flanges (Figuras 3A-B). Em vista frontal, as células epidérmicas em *S. syphilitica* possuem paredes sinuosas (Figuras 3C-D), as quais são mais pronunciadas nos indivíduos do AM (Figuras 3E-F). Em *S. aff. syphilitica*, as células também possuem paredes sinuosas, porém essas são mais alongadas no sentido

Figura 1 - A. Indivíduo arbustivo de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, com o sistema subterrâneo exposto (seta). B. Desenho da lâmina foliar de *S. syphilitica*. C. Indivíduo arbustivo de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. Barras: A, C = 5 cm; B = 1 cm

transversal da lâmina e estão arranjadas paralelamente (Figuras 3G-H). Em secção transversal, as paredes das células epidérmicas de *S. syphilitica* das amostras do ES não apresentam espessamento conspícuo (Figuras 4A-B). No entanto, nas amostras do AM, o espessamento parietal é pronunciado nas paredes anticlinais e periclinais internas (Figuras 4D-E). Em *S. aff. syphilitica*, o espessamento ocorre nas paredes periclinais internas e externas e nas paredes anticlinais (Figuras 4G-H). A coloração com azul de metileno (Figuras 5A-B) e com calcofluor white (Figuras 6B-C) comprova a natureza péctico-celulósica destes espessamentos. A reação positiva com o reagente cloreto férrico confirma o acúmulo de conteúdo fenólico em células epidérmicas e parenquimáticas de *S. syphilitica* (Figuras 5C-D), assim como o acúmulo de conteúdo protéico foi evidenciado pelo aniline blue black, exclusivamente na região da nervura central (Figura 5F).

A folha de todos os indivíduos analisados é hipoestomática, porém, os estômatos de *S. syphilitica* são paracíticos e os de *S. aff. syphilitica* são paracíticos e anisocíticos (Figuras 3D, F, H). Os estômatos situam-se ao mesmo nível das células adjacentes.

Figura 2 - Eletromicrografias das superfícies foliares. A-B. Superfície foliar adaxial e abaxial, respectivamente, de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, proveniente do Espírito Santo. C-D. Superfície foliar adaxial e abaxial, respectivamente, de *S. syphilitica*, proveniente do Amazonas. E-F Superfície foliar adaxial e abaxial de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, respectivamente. G. Detalhe de F evidenciando as plaquetas membranáceas. Barras: A, B, D, E = 20 μm ; C, F = 30 μm ; G = 10 μm

O mesofilo é homogêneo nas duas espécies (Figuras 4A-B, D-E, G-H), constituído por cinco a sete camadas de células braciiformes (Figuras 7A, C). Em *S. syphilitica* de procedência do ES, foram observadas células parenquimáticas com paredes espessadas em relação exemplares do AM (Figura 6A). É frequente a presença de ráfides no interior de idioblastos, principalmente no bordo, onde aparecem

isolados ou em pares (Figuras 4A,D,G). Foram observados cristais no interior das células parenquimáticas em ambas as espécies. Em *S. syphilitica* são prismáticos (Figura 4B) e em *S. aff. syphilitica* são cristais de areia (Figuras 4H). Ao longo da lâmina foliar, os feixes vasculares são colaterais e envoltos por células de paredes espessas e lignificadas (Figuras 6D-F). Fibras e esclereides compõem as células lignificadas encontradas, sendo esclereides colunares e astroesclereides (não observados em *S. aff. syphilitica*) (Figuras 7B, D).

Na nervura central, o parênquima sob a epiderme da face adaxial apresenta cloroplastos e há ocorrência de colênquima angular. A presença de grão de amido (esféricos e poliédricos) e de conteúdo protéico foi observada somente na região da nervura central de amostras da Amazônia de *S. syphilitica* (Figuras 5E-F). Há entre três e oito feixes colaterais em ambas as espécies. Estes feixes compartilham da mesma bainha esclerenquimática apenas em indivíduos de *S. syphilitica* (Figura 6D) procedentes do ES, enquanto em amostras do AM e de *S. aff. syphilitica*, cada feixe possui uma bainha esclerenquimática (Figuras 6E-F).

A tabela 1 resume as características distintas da lâmina foliar das espécies estudadas.

Figura 3 - A-B. Secções transversais de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow e *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, respectivamente, evidenciando a cutícula

corada pelo Sudan IV. C-H. Vista frontal da epiderme das faces foliares adaxial (C, E, G) e abaxial (D, F, H) de *S. syphilitica* do Espírito Santo (C, D) e do Amazonas (E, F) e *S. aff. syphilitica* (G, H). Barras = 100 μ m

Figura 4 - Secções transversais de lâminas foliares de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, proveniente do Espírito Santo (A-C), do Amazonas (D-F) e de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow (G-I). Setas em A, D e G indicam idioblastos contendo ráfides. ca = cristais de areia. Barras = 100 μ m

Figura 5 - Secções transversais de lâminas foliares de *Smilax* aff. *syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow (A) e *S. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow (B-F). Reação positiva para azul de metileno (A, B), cloreto férrico (C, D), cloreto de zinco iodado (E) e aniline blue black (F). ca = cristais de areia. Barras = 100 µm

Figura 6 - A-C. Mesofilo de região internervural corada com calcofluor white de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow proveniente do Espírito Santo-ES (A) e do Amazonas-AM (B) e de *S. aff. syphilitica* Humboldt Bonpland ex Willdenow (C). D-F. Secções transversais da nervura principal sob luz polarizada de *S. syphilitica* provenientes do ES (D) e do AM (E) e de *S. aff. syphilitica* (F). Barras = 100 μ m

Figura 7 - Mesofilo dissociado. A-B. *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. C-D. *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. br = células braciformes; fi = fibras; ec = esclereídes colunares; ae = astroesclereídes. Barras = 100 μm

Tabela 1 - Resumo dos caracteres distintos da lâmina foliar de *S. syphilitica* e *S. aff. syphilitica*

Caracteres	<i>S. syphilitica</i>	<i>S. aff. syphilitica</i>
Padrão de deposição cuticular na face adaxial	Crostras, com grânulos e plaquetas; rede de cumes arredondados	Cumes arredondados, em paralelo
Padrão de deposição cuticular na face abaxial	Rede de cumes arredondados	Cumes arredondados, em paralelo, entremeados por plaquetas membranáceas
Células epidérmicas - vista frontal	Arranjo aleatório	Arranjo paralelo
Paredes das células epidérmicas	Pouco espessas ou espessadas nas paredes periclinais internas	Espessadas nas paredes periclinais internas e externas
Classificação dos estômatos	Paracíticos	Paracíticos e anisocíticos
Tipos de cristais	Cristais prismáticos	Cristais de areia
Conteúdo fenólico	Epiderme, idioblastos e células parenquimáticas	Ausente
Conteúdo protéico	Células parenquimáticas (nervura central)	Ausente
Conteúdo amilífero	Grãos esféricos e poliédricos, nervura central	Ausente

Pecíolo

O pecíolo é ligeiramente côncavo na face adaxial dos indivíduos de *S. aff. syphilitica* e *S. syphilitica*, porém algumas amostras do AM desta espécie possuem inúmeras reentrâncias em sua estrutura (Figuras 8A-D). A epiderme é uniestratificada, revestida por cutícula espessa e em flanges, nos indivíduos de *S. syphilitica* (Figura 9A). Em *S. aff. syphilitica*, a cutícula é delgada e não forma flanges (Figura 9B). Células epidérmicas e parenquimáticas possuem conteúdo fenólico nos indivíduos do AM de *S. syphilitica* e de *S. aff. syphilitica* (Figuras 9C-D). O córtex é constituído pelo colênquima angular nas amostras do ES e em *S. aff. Syphilitica* (Figuras 9E-F) e ausente nas do AM. Observou-se conteúdo protéico em células epidérmicas e parenquimáticas de espécimes do AM de *S. syphilitica*, além de grãos de amido restritos à região do cilindro vascular (Figuras 9G-H). Grandes quantidades de cristais prismáticos e ráfides ocorrem no interior das células corticais e da região central do pecíolo, nas amostras do ES e em *S. aff. syphilitica* (Figuras 9E-F). O cilindro vascular apresenta feixes colaterais envoltos por células lignificadas distribuídos de maneira aleatória em *S. syphilitica* (Figuras 8A-B). Já em *S. aff. Syphilitica* não há células lignificadas ao redor dos feixes e esses estão dispostos em um único cilindro (Figura 8D). As células parenquimáticas variam em grau de lignificação, tendo os indivíduos do AM de *S. syphilitica* apresentado as células mais espessadas (Figura 8B). A tabela 2 resume as características distintas peciolas das espécies estudadas.

Figura 8 - Secções transversais de pecíolos. A. *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, proveniente do Espírito Santo. B-C. *S. syphilitica* proveniente do Amazonas. D. *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland. Barras = 100 μm

Figura 9 - Secções transversais de pecíolos. A, C, G. *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, provenientes do Amazonas com reação positiva ao Sudan IV, cloreto férrico e aniline blue black, respectivamente. C, H. *S. syphilitica* proveniente do Espírito Santo com reação positiva ao vermelho de rutênio e cloreto de zinco iodado. B, D, F. *S. aff. syphilitica*

Humboldt & Bonpland ex Willdenow com reação positiva ao Sudan IV, cloreto férrico e vermelho de rutênio, respectivamente. Barras = 100 µm

Tabela 2 - Resumo dos caracteres peciolares distintos de *S. syphilitica* e *S. aff. syphilitica*

Caracteres	<i>S. syphilitica</i>	<i>S. aff. syphilitica</i>
Cutícula	Espessa; forma flanges	Delgada; não forma flanges
Distribuição dos feixes vasculares	Aleatória	Não-aleatória
Conteúdo protéico	Epiderme e parênquima	Ausente
Grãos de amido	Presentes	Ausentes
Células lignificadas ao redor dos feixes	Presentes	Ausentes

4.2 Anatomia do caule não espessado

A ocorrência de espinhos é comum nos nós e entrenós de *S. syphilitica* e exclusiva dos entrenós de *S. aff. syphilitica* (Figuras 10A-C).

Nas três regiões do entrenó analisadas (Figuras 11A-F), a epiderme é unisseriada, provida de estômatos e recoberta por cutícula espessa. Em indivíduos de *S. syphilitica*, a epiderme apresenta células com conteúdo fenólico e protéico (Figuras 12A-B). Subjacente à epiderme, observa-se a hipoderme com diferentes graus de esclerificação também contendo substâncias fenólicas e protéicas (Figuras 12A-B). Este tecido não foi observado em indivíduos que se desenvolvem enrolados nos troncos de árvores – hábito característico de lianas, mas somente nos que se encontram na forma de pequenos arbustos. No terceiro entrenó das duas espécies há entre três e cinco camadas de parênquima clorofiliano e um anel esclerenquimático contínuo envolvendo

o cilindro vascular (Figuras 11A-B). No córtex de *S. syphilitica*, idioblastos fenólicos e protéicos são frequentes. Já os grãos de amido esféricos e poliédricos são observados no parênquima fundamental e nos espinhos (Figura 12D). A presença de idioblastos contendo ráfides é restrita ao córtex de ambas as espécies.

Em ambas as espécies, o cilindro vascular é um atactostele, com feixes colaterais distribuídos aleatoriamente e envoltos por células esclerificadas, cuja lignificação aumenta em direção à porção subterrânea (Figura 11A-F). A presença de feixes periféricos é comum por toda a estrutura caular.

Figura 10 - A-C. Espinhos caulinares de *Smilax syphilitica* Humboldt Bonpland ex Willdenow. B-C. Secções longitudinais evidenciando a vascularização em B. Barras = 100 μ m

Figura 11 - A-C. Secções transversais caulinares *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, no terceiro entrenó, no entrenó próximo ao solo e no entrenó subterrâneo, respectivamente. D-F. Secções transversais caulinares *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, no terceiro entrenó, no entrenó próximo ao solo e no entrenó subterrâneo, respectivamente. Barras = 100 μm

Figura 12 - A-C. Secções transversais caulinares de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow com reação positiva ao cloreto férrico, aniline blue black e cloreto de zinco iodado, respectivamente. D. Secção transversal caulinar de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow com reação positiva ao cloreto de zinco iodado. Barras: A-D = 100 μ m; E = 50 μ m

4.3 Sistema subterrâneo

Rizóforo

A estrutura dos rizóforos analisados apresenta variações com relação às espécies e aos locais de coleta (Figura 13A-E), mas tem em comum a rigidez, o intumescimento, a formação de raízes adventícias e a presença de gemas axilares (Figura 13F). Nos indivíduos de *S. syphilitica* do ES nota-se um estágio avançado de desenvolvimento, com muitos nós e entrenós conspícuos e intumescidos (Figura 13A-B). Estes entrenós são portadores de raízes adventícias longas, de cor marrom ou preta

e diâmetro aproximado de um milímetro (Figuras 13A-D). A coloração é composta por tons que variam entre branco, vermelho e marrom. Nos indivíduos de *S. syphilitica* do AM os rizóforos são menos desenvolvidos, com entrenós pouco visíveis e raízes adventícias com o maior diâmetro observado (por volta de três milímetros) (Figura 13E). Em *S. aff. syphilitica* os rizóforos também são menos desenvolvidos, com um número relativamente menor de entrenós e raízes adventícias de menor diâmetro. A coloração é exclusivamente branca (Figura 13C-D).

Em secção transversal do rizóforo (Figuras 14A-E), a cutícula com flanges recobre a epiderme unisseriada (Figura 14A) provida de estômatos. No córtex há cerca de sete camadas de células parenquimáticas entre as quais ocorre grande quantidade de idioblastos contendo ráfides, principalmente nas regiões de saída de raiz adventícia e nos catafilos que protegem as gemas axilares (Figura 15A-B). A presença de feixes vasculares periféricos também é comum nesta região (Figura 14B). Em alguns casos, foi possível observá-los envoltos por células cujo espessamento se assemelha ao encontrado em células endodérmicas (Figura 14B). Nos exemplares analisados, a endoderme apresenta algumas células espessadas em “U” delimitando o cilindro vascular (Figuras 14A, C-D). Esta camada apresenta continuidade com a endoderme das raízes adventícias (Figura 14C). O cilindro vascular é um atactostele. O periciclo apresenta várias camadas de células que acumulam grãos de amido entre as quais se observam feixes colaterais de menor calibre (Figura 14A). Os feixes maiores estão distribuídos no parênquima (Figura 14D) com grande quantidade de grãos de amido esféricos e poliédricos (Figura 14E).

O intumescimento do rizóforo resulta da atividade da gema axilar (Figuras 15A-B). Não foi possível verificar a instalação do meristema de espessamento primário, mas há proliferação de células do periciclo (Figura 15B).

Figura 13 - A-B. Rizóforo de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, proveniente do Espírito Santo. C-D. Rizóforo de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. E. Rizóforo de *S. syphilitica* proveniente do Amazonas. F. Gema axilar do rizóforo. Barras: A, C, D = 3 cm; B, E = 2 cm; F = 0,5 cm

Figura 15 - A-E. Secções transversais do rizóforo de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. As setas em A a D indicam células da endoderme com espessamentos parietais. Em A, os feixes vasculares menores entre as células do periciclo (círculos). Em E, grãos de amido sob luz polarizada. Barras: A-B,E =100 μ m; C =200 μ m; D =600 μ m

Figura 15 - Secções longitudinais das áreas intumescidas do rizóforo de *S. aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. Pr = cordões procambiais. Barras = 200 μ m

Raízes adventícias

As raízes inicialmente possuem cor branca e diâmetro maior. Tais raízes foram analisadas apenas nos indivíduos de *S. syphilitica* do ES. Todas as amostras de raízes dessa espécie coletadas no Amazonas e de *S. aff. syphilitica* eram marrons. As raízes brancas em corte transversal (Figura 16A) são revestidas pela epiderme e possuem exoderme com células altas e paredes providas de estrias de Caspary (Figura 16B). Ainda nas primeiras camadas do córtex observa-se a presença de fungos e de idioblastos fenólicos e com ráfides (Figura 16C). O restante do córtex é constituído por várias camadas de células parenquimáticas isodiamétricas. Ainda nesta fase, as células da camada cortical adjacente à endoderme apresentam espessamento diferenciado em suas paredes periclinais internas e a endoderme possui a maior parte das células espessadas em “U” (Figura 16E).

Na medida em que as raízes envelhecem, tornam-se marrons e seu diâmetro diminui, pois há eliminação da epiderme e do parênquima cortical (Figura 17A). A função de revestimento passa a ser exercida somente pelas paredes periclinais internas das células da última camada do parênquima cortical e pela endoderme. As paredes destas células exibem coloração marrom, devido ao acúmulo de compostos fenólicos (Figuras 17A-B) sendo que, em *S. aff. syphilitica*, foi possível identificar conteúdo fenólico nas células endodérmicas (Figura 17B). O periciclo é pluriestratificado e suas células possuem paredes que se tornam progressivamente mais espessadas (Figura 17A). O cilindro vascular é poliarco, com medula constituída de células parenquimáticas contendo grãos de amido esféricos e poliédricos (Figura 17C) foi observado somente nas amostras de *S. syphilitica* das duas procedências.

Figura 16 - A-C. Secções transversais da raiz branca de *S. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. cp = cristais prismáticos; fe = infecção por fungo endomicorrízico; if = idioblasto fenólico; ra = ráfides. A seta indica o espessamento da parede periclinal interna da penúltima camada cortical. Barras = 100 μ m

Figura 17 - A-C. Secções transversais da raiz marrom de *S. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow. C. detalhe dos grãos de amido esféricos e polédricos, sob luz polarizada. cf = conteúdo fenólico evidenciado por reação positiva com cloreto férrico. Barras = 100 μ m

4.4 Perfil cromatográfico

Os rendimentos obtidos a partir dos extratos metanólicos evaporados indicam quais órgãos apresentam maior concentração de substâncias. Assim, verificou-se que os rizóforos (6,6%) e raízes (4,5%) de *S. syphilitica* e os rizóforos (13,2%) e raízes (4,8) de *S. aff. syphilitica* foram os órgãos que apresentaram maior e menor rendimento, respectivamente. Ainda, rizóforos de *S. aff. syphilitica* apresentaram maior rendimento com relação à *S. syphilitica*. Entretanto, em termos de complexidade química - obtida através do número de picos observados no cromatograma (Figuras 18, 19), as amostras de *S. syphilitica* foram mais complexas, ou seja, apresentaram maior número de grupos de substâncias químicas.

De acordo com os espectros na região do ultravioleta dos picos numerados (Tabelas 3 e 4) e comparação com padrões disponíveis, verifica-se a presença de derivados fenólicos pertencentes à classe dos ácidos fenólicos, flavonóides e taninos.

Figura 18 - Perfil cromatográfico dos extratos de *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow, proveniente do Espírito Santo (C18 250 x 4,6 mm d.i. x 5 μ m; Solvente A: H₂O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 5-20 % de B em A em 15 min, 20-40% de B em A em 45 min, 40-100% de B em A em 50 min e 100% de B até 60 min; vazão 1,0 mL/min, λ 310nm. Azul = rizóforo, Preto = raiz

Figura 19 - Perfil cromatográfico dos extratos de *Smilax aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow (C18 250 x 4,6 mm d.i. x 5 μ m; Solvente A: H₂O + 0,05% TFA; Solvente B: ACN + 0,05% TFA. Gradiente de 5-20 % de B em A em 15 min, 20-40% de B em A em 45 min, 40-100% de B em A em 50 min e 100% de B até 60 min; vazão 1,0 mL/min, λ 310nm. Azul = rizóforo, Preto = raiz

Tabela 3 - Espectros de UV representativos dos picos indicados nos cromatogramas para *Smilax syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow

Picos	Espectro de UV	Picos	Espectro de UV
1, 2, 12		10, 17, 27	
3, 7, 16		11, 21, 22, 26, 32, 33	
4, 5		13, 14, 15, 23, 25	
6, 8, 9, 31		18, 19, 20, 24, 28-30	

Tabela 4 - Espectros de UV representativos dos picos indicados nos cromatogramas para *Smilax aff. syphilitica* Humboldt & Bonpland ex Willdenow

Picos	Espectro de UV	Picos	Espectro de UV
1, 5, 6, 16-19		7, 8, 9, 11 12, 15	
2, 10		14	
3, 4, 13			

5 DISCUSSÃO

Primeiramente, atenção especial deve ser dirigida ao fato de que pouquíssimos indivíduos, das duas espécies em questão, foram localizados em campo. Os motivos para este tipo de distribuição são incertos, entretanto, como colocado por Ricklefs (2003), uma população pequena, de indivíduos dispersos está mais exposta ao perigo da extinção.

Os caracteres morfoanatômicos observados comprovam uma vez mais que análises são plenamente capazes de assegurar a classificação de diferentes espécies de *Smilax*, como já comentado por Andreatta (1995) e por Martins e Appezzato-da-Glória (2006).

A morfologia foliar não variou entre as espécies ou entre suas áreas de ocorrência e, embora diferenças tenham sido observadas quanto ao comprimento e largura das lâminas foliares, os padrões de formato e venação foram os mesmos. Guaglianone e Gattuso (1991) observaram diferenças quanto ao formato da folha de *S. campestris* Grisebach, de acordo com sua distribuição, reconhecendo-o então, como um caráter sujeito às variações fenotípicas da espécie.

Segundo Jenks e Ashworth (1998), variações no padrão de deposição de ceras epicuticulares podem conferir diferentes respostas aos diferentes fatores de estresses, nos diferentes estágios de desenvolvimento de uma planta. Estes mesmos autores afirmaram que o espessamento da cutícula, aliado à quantidade e estrutura da cera epicuticular estão diretamente relacionados, entre outros fatores, à resistência das plantas aos agentes patogênicos.

Outra função da cutícula é a de fotoproteção (WANG et al., 2008). Porém, este fator isolado não explica a diferença em espessura encontrada entre as cutículas de *S. syphilitica* e *S. aff. syphilitica*, uma vez que ambas ocorrem no mesmo ambiente (Floresta Amazônica) e, portanto, sob mesma incidência de radiação solar. Laakso et al. (2000) verificaram aumento no espessamento parietal secundário da epiderme foliar de *Pinus* L., submetidos às altas incidências de radiação UV-B. Então, a espessura pronunciada das paredes periclinais das células epidérmicas de *S. aff. syphilitica*

poderia contrapor a menor espessura da cutícula, quando nos referimos à fotoproteção e por que não também, à vulnerabilidade a fixação de organismos epifíticos.

O processo de espessamento parietal é dependente de vários níveis de regulação gênica (CAÑO-DELGADO et al., 2000; KIM et al., 2002), e as variações em espessura e composição são parte integral dos fenômenos de diferenciação celular e comunicação com células vizinhas (ROBERTS, 2001). Isto fica mais claro quando observamos o DNA de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, no qual aproximadamente mil genes estão envolvidos no processo de formação de parede celular (ROBERTS, 2001). Este mecanismo, portanto, parece estar mais relacionado às características genotípicas dos indivíduos analisados que às influências externas e pode constituir, então, um caráter de valor taxonômico.

A sinuosidade das paredes anticlinais de células epidérmicas foi primeiramente sugerida como caráter de diferenciação taxonômica por Cutler (1969), sendo adotada oficialmente, pela primeira vez, por Vaara e Valanne (1973 apud Wagner et al., 1999). Entretanto, este tópico ainda está sujeito a questionamentos, que podem ser ilustrados pelos trabalhos de Ceolin et al. (2009), Jordan et al. (2010) e Wagner (1999) - os dois primeiros defensores da aplicação taxonômica do caráter em questão, e o terceiro, em oposição, correlacionando sinuosidade parietal à intensidades luminosas e duração de fotoperíodos. Indivíduos do AM de *S. syphilitica* e de *S. aff. syphilitica* apresentam muita semelhança entre os padrões sinuosos das paredes anticlinais epidérmicas, contrastando com a pouca sinuosidade observada nos indivíduos do ES.

A ocorrência e a classificação dos estômatos em *Smilax* podem ser utilizadas como caracteres taxonômicos (MARTINS, 2009). No presente estudo, folhas de *S. syphilitica* e *S. aff. syphilitica* divergiram quanto à classificação, compondo portanto, mais uma característica de valor taxonômico.

A presença de idioblastos com paredes espessas e contendo ráfides no bordo foliar parece ser uma característica comum do gênero (YATES; DUNCAN, 1970; GUAGLIANONE; GATTUSO, 1991; MARQUETE; PONTES, 1994; MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; MARTINS, 2009; SOARES, 2010). Os cristais de areia, registrados em *S. aff. syphilitica*, são diminutos cristais que, juntamente com os cristais prismáticos, estilóides, ráfides e drusas, compõem as cinco principais formas de

cristais de oxalato de cálcio (METCALFE; CHALK, 1950; ESAU, 1977; CUTTER, 1978; FAHN, 1982 apud DOAIGEY, 1991). Em *Chenopodium ambrosioides* (Chenopodiaceae), estes cristais de areia foram comprovados como caráter útil para identificação de espécies (COSTA; TAVARES, 2006).

A análise do tipo de mesofilo, dos tipos de esclereides, dos tipos de feixes vasculares e o compartilhamento de bainha esclerenquimática na nervura central são de uso comum para a separação das espécies do gênero (YATES; DUNCAN, 1970; GUAGLIANONE; GATTUSO, 1991; MARQUETE; PONTES, 1994; GATTUSO, 1995; MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; GUIMARÃES, 2009; MARTINS, 2009). Aqui, a diferença foi observada com relação à ausência de astroesclereides e o não compartilhamento de bainha esclerenquimática pelos feixes vasculares em *S. aff. syphilitica*.

O formato do cilindro vascular e a presença de bainha esclerenquimática ao redor dos feixes vasculares peciolares são considerados características de valor taxonômico em Rubiaceae (KOCSIS et al., 2004). A observação da divergência destes caracteres nas espécies do presente estudo nos leva à mesma proposição.

Bussoiti et al. (1998) observaram acúmulo compostos fenólicos no interior de células epidérmicas e paliçádicas de folhas de *Fagus sylvatica* L. (Fagaceae) desenvolvidas em ambiente com fina camada de substrato, ventos fortes e alta insolação, concluindo que a escleromorfia e a síntese de compostos fenólicos são respostas ativas de plantas sujeitas à estresse ambiental. A relação planta-patógeno também confere grande importância aos compostos fenólicos, que podem atuar como inibidores digestivos (CORRÊA et al., 2008), inativadores de enzimas de agentes patológicos, barreiras físicas e mensageiros ativadores de genes de defesa (HAMMERSCHMIDT, 2005). No presente estudo, o registro de substâncias fenólicas nas lâminas foliares e nos pecíolos de indivíduos de *S. syphilitica* e *S. aff. syphilitica* fornece poucas evidências sobre os fatores que podem estar favorecendo a produção e o acúmulo.

Segundo Martins (2006), estruturas espiniformes são comuns nos caules de espécies do gênero - ocorrendo tanto em região de nó como de entrenó (MARTINS, 2006) – e atendem a esta terminologia por não se enquadrarem na classificação de

espinhos (visto que não são vascularizadas) e nem de acúleos (por não serem anexos epidérmicos e por apresentarem células parenquimáticas) (MARTINS, 2006). No presente estudo, estas estruturas são vascularizadas e são comuns nos nós e entrenós das duas espécies.

O formato do lume celular foi registrado como em forma de “U”, na epiderme dos caules de *S. goyazana* A. De Candolle (Smilacaceae) e quadrangular em *S. campestris* Grisebach (Smilacaceae) e *S. oblongifolia* Pohl ex Grisebach (Smilacaceae) (BOMBO, 2009). No presente estudo foram observadas variações intra e interespecíficas deste aspecto, o que justifica a atribuição de baixo valor taxonômico.

Sugere-se que a presença ou ausência da hipoderme em indivíduos do ES pode ser explicada pelo hábito dos indivíduos coletados, ou seja, ausência nos epifíticos e presença nos arbustivos. Isto porque nos indivíduos do AM (todos arbustivos), a observação da hipoderme se assemelha ao descrito em *Licopordiella cernua* (L.) Pic. Serm (Lycopodiaceae), uma liana que mantém este tecido até a altura de aproximadamente um metro, quando passa a necessitar de apoio mecânico das plantas ao redor e desenvolver o hábito epifítico (ROWE et al., 2004). A presença da hipoderme é considerada uma característica de auxílio na diferenciação entre espécies indianas de palmeiras (Arecaceae) (MATHEW; BHAT, 2008). Da mesma forma, estudos em paleobotânica utilizam este tecido como objeto de diferenciação taxonômica entre espécies extintas de lianas (LI; TAYLOR, 1998; DUNN et al., 2002). Aqui, a variação entre presença e ausência de hipoderme, com relação à espécie, ao ambiente de origem, ao hábito e à porção caulinar justificam uma grande ressalva quanto ao uso deste caráter para a diferenciação entre os grupos.

A adoção do termo “rizóforo” tem se tornado prática comum nos estudos do gênero *Smilax* (ANDREATA, 1997; ANDREATA; MENEZES, 1999; MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; SOARES, 2010). Isto porque a estrutura segue com fidelidade a descrição de Menezes et al. (1979), que a define como um órgão portador de dois sistemas caulinares – um aéreo e um subterrâneo, sendo que do segundo, partem todas as raízes adventícias. Esta definição é a correta para as espécies do presente estudo.

O revestimento da estrutura nas duas espécies é realizado exclusivamente pela epiderme, que porta estômatos, cuja presença sugere a origem por derivação de estruturas aéreas (ANDREATA; MENEZES, 1999, APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2003). Este padrão já foi registrado em outras espécies do gênero por Palhares e Silveira (2005), Andreata e Menezes (1999) e Guimarães (2010), embora Caponetti e Quimby (1956) tenham observado periderme e Martins e Appezzato-da-Glória (2006), epiderme e córtex como tecidos de revestimento.

Segundo Soares (2010), o processo de intumescimento do rizóforo em *S. fluminensis* é resultado da atividade meristemática da região de gema axilar, nas proximidades da qual estaria localizado o meristema de espessamento primário (MEP). Já Martins e Appezzato-da-Glória (2006) descrevem uma faixa meristemática, formadora de células corticais e feixes vasculares, em *Smilax polyantha*, embora não tenham obtido sucesso na identificação da endoderme em rizóforos ou caules.

Neste estudo, foi possível identificar a endoderme como sendo uma camada com espessamento parietal em “U”. Além disso, o processo de intumescimento é similar ao verificado em *S. fluminensis*, exceto pelo fato de que não se verifica uma área meristemática definida, mas sim divisões das células pericíclicas nas proximidades das gemas axilares em atividade.

A continuidade da endoderme dos rizóforos e das raízes adventícias, observada nas saídas destas, corrobora as afirmações de Menezes et al. (2005) de que a endoderme é um tecido contínuo presente em raízes, caules e folhas.

A grande quantidade de idioblastos contendo ráfides no córtex dos rizóforos analisados sugere investimento em estratégia anti herbivoria, como observado no parênquima de raízes tuberosas de *Asphodelus aestivus* (Asparagales) (SAWIDIS et al., 2005 apud MARTINS, 2009).

Alguns feixes vasculares periféricos estão envoltos por células cujo espessamento parietal se assemelha ao da endoderme, no córtex das duas espécies. Este padrão é semelhante ao observado por Soares (2010). Palhares e Silveira (2005) afirmaram que a endoderme está presente ao redor de todos os feixes vasculares do rizóforo de *S. goyazana*, entretanto, o mesmo não pode ser assumido para as espécies do presente estudo.

Sendo o rizóforo um órgão capaz de ampliar a rizosfera, conferir resistência e propagação vegetativa (ANDREATA; MENEZES, 1999), é compreensível que se acumulem grandes quantidades de amido na forma de grãos, como os encontrados regularmente por todo o cilindro vascular da estrutura.

Raízes adventícias brancas e marrons no sistema radicular são comuns no gênero, tendo sido observadas em *S. polyantha* (MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006), *S. subsessifolia* (GUIMARÃES et al., 2010), e em *S. brasiliensis*, *S. campestris* e *S. cissoides* (MARTINS, 2009). A ocorrência de grãos de amido na medula da raiz marrom também é comum às espécies do gênero, podendo-se utilizar da presença e da classificação destes como uma ferramenta de auxílio à separação das espécies.

As classes das substâncias químicas identificadas nos picos dos cromatogramas nas regiões do espectro ultravioleta também foram observadas em outras espécies do gênero (GUO et al., 2004; OOI et al., 2004; DU et al., 2005; XU et al., 2005; MARTINS, 2009; BOMBO, 2009; SOARES, 2010).

Compostos fenólicos são comprovadamente eficientes no combate a infecções por agentes bacterianos (FALCÃO et al., 2002). Quando oxidadas, estas substâncias induzem à formação de quinonas e radicais livres que são capazes de inativar enzimas e interromper o desenvolvimento de patógenos (HAMMERSCHMIDT, 2005). Sendo a sífilis uma patogenia causada pela bactéria *Treponema pallidum pallidum* (KAYSER et al., 2004), sugere-se que a ação farmacológica atribuída a *S. syphilitica* tenha sua base na atividade dos compostos fenólicos encontrados nas duas espécies analisadas neste estudo.

As diferenças em complexidade e quantidade de substâncias observadas nos perfis cromatográficos sugerem análises mais aprofundadas. Tais substâncias são produtos do metabolismo secundário e sua produção está sujeita ao controle genético e aos fatores de estresses bióticos e abióticos (MITHÖFER et al., 2004). Isto dificulta o uso destes perfis para a separação das espécies. Embora os mesmos compostos observados tenham sido encontrados em outras espécies do gênero, a sinergia entre substâncias derivadas específicas é um fator responsável por respostas fisiológicas diversas à ação de patógenos (FALCÃO et al., 2002). Isto explicaria a eficácia de diferentes espécies de *Smilax* para diferentes tratamentos médicos.

No presente estudo, não foram obtidas informações sobre o uso medicinal de *S. aff. syphilitica*, até mesmo porque este é o primeiro registro documentado desta espécie. Assim, deve-se usar de grande cautela ao assumir que esta planta pode ser consumida para os mesmos fins medicinais de *S. syphilitica*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises morfoanatômicas foram capazes de fornecer argumentos sólidos para a separação taxonômica das duas espécies do estudo. Os resultados aqui registrados complementam aqueles já levantados em pesquisas anteriores com o gênero, confirmando mais uma vez a importância deste tipo de pesquisa para o conhecimento das espécies da flora brasileira. A análise dos perfis cromatográficos apontou diferenças na composição e na quantidade de metabólitos secundários, identificados principalmente como ácidos fenólicos, flavonóides e taninos. Estes compostos fenólicos são reconhecidamente eficazes no tratamento de infecções e possivelmente são os responsáveis pelas propriedades medicinais de *S. syphilitica*. Entretanto, por ser esta a primeira documentação da espécie *S. aff. syphilitica*, não se tem conhecimento do seu uso em tratamentos medicinais, o que evidencia a necessidade de novas e aprofundadas investigações.

REFERÊNCIAS

ANDREATA, R.H.P. *Smilax* L. (Smilacaceae). Ensaio para uma revisão taxonômica das espécies brasileiras. **Arquivo do Jardim Botânico**, Rio de Janeiro, v. 24, p. 179-301, 1980.

_____. **Revisão das espécies brasileiras do gênero *Smilax* Linnaeus (Smilacaceae)**. 1995. 397 p. Tese (Doutorado em Botânica)- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

_____. Revisão das espécies brasileiras do gênero *Smilax* Linnaeus (Smilacaceae). **Pesquisas-Botânica**, Rio de Janeiro, v. 47, p. 7-244, 1997

BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C.; CUTLER, D.; DITSCH, F.; MEUSEL, I.; THEISEN, I.; WILHELMI, H. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Kew Richmond, v. 126, p. 237-260, 1998.

BERNARDO, R.R.; PINTO, A.V.; PARENTE, J.P. Steroidal saponins from *Smilax officinalis*. **Phytochemistry**, Maryland Heighs, v. 43, p. 465-469, 1996.

BOMBO, A.B.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, M.A. Caracteres Morfoanatômicos diagnósticos entre cinco espécies de salsaparrilha ocorrentes no Brasil (Gênero *Smilax* - Smilacaceae). In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 9., 2009, São Paulo. **Anais...** São Paulo: IBT, 2009. 1 CD-ROM.

BURGER, L.M.; RICHTER, H.G. **Anatomia da madeira**. São Paulo: Nobel, 1991. 154 p.

CAÑO-DELGADO, A.I.; METZLAFF, K.; BEVAN, M.W. The eli1 mutation reveals a link between cell expansion and secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*. **Development**, Cambridge, v. 127, n. 15, p. 3395-3405, 2000.

CEOLIN, G.B.; ROSITO, J.M.; CANTO-DOROW, T.S. Leaf surface characters applied to Lauraceae taxonomy in a Seasonal Forest of Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, p. 1453-1460, 2009.

CHEN, T.; LI, J.; CAO, J.; XU, Q.; KOMATSU, K.; NAMBA, T. A new flavonone isolated from rhizome *Smilax glabra* and structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. **Planta Medica**, New York, v. 65, p. 56-59, 1999.

CHHABRA, S.C.; UISO, F.C. A survey of the medicinal plants of eastern Tanzania for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins, **Biochemical Systematics and Ecology**, Surrey, v. 4, p. 307-316, 1990.

CORRÊA, P.G.; PIMENTEL, R.M.M.; CORTEZ, J.S.A.; XAVIER, H.S. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais brasileiras. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 60, p. 54-57, 2008.

COSTA, M.V.L.; TAVARES, E.S. Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) – erva-de-Santa Maria. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 63-71, 2006.

CUTLER, D.F. Cuticular markings and other epidermical features in *Aloe* leaves. **Notes Jodre Laboratories**, Jodre, v. 4, p. 21-27, 1969.

DE CANDOLLE. A.L.P.P. **Smilacaceae**. Paris: Ed. G. Masson, 1878. 217 p. (Monographiae Phanerogamarum, 1).

DOAIGEY, A.R. Occurrence, type and location of calcium oxalate crystals in leaves and stems of 16 species of poisonous plants. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 78, n. 12, p. 1608-1616, 1991.

DUNN, M.T.; KRINGS, M.; MAPES, G.; ROTHWELL, G.W.; MAPES, R.H.; KEQIN, S. *Medullosa steinii* sp. nov., a seed fern vine from the Upper Mississippian. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 124, n. 3/4, p. 307-324, 2003.

DOP, P.; GAUTIÉ, A. **Manuel de technique botanique**. Paris: Lamarre, 1928. 594 p.

FALCÃO, E.; SILVA, N.; GUSMÃO, N.; HONDA, N.; PEREIRA, E. Atividade Antimicrobiana de compostos fenólicos do líquen *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt*. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 21, n. 1, p. 181-190, 1995.

FISHER, D.B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemistry and Cell Biology**, Würzburg, v. 16, p. 92-96, 1968.

FISHER, J.B.; FRENCH, J.C. The occurrence of intercalary and uninterrupted meristems of internodes of tropical monocotyledons. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 63, n.5, p. 510-525, 1976.

GATTUSO, S. Exomorfologia y anatomia de *Smilax campestris* Griseb. (Smilacaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 14, n. 3, p. 181-190, 1995.

GOUJON, T.; MINIC, Z.; EL-AMRANI, A.; LEROUXEL, O.; ALETTI, E.; LAPIERRE, C.; JOSELEAU, J.P.; JOUANIN, L. AtBXL1, a novel higher plant (*Arabidopsis thaliana*) putative beta-xylosidase gene, is involved in secondary cell wall metabolism and plant development. **The Plant Journal**, Michigan, v. 33, n. 4, p. 677-690, 2003.

GRISEBACH, H.A. Smilacaceae. In: MARTIUS, C.F.P.; EICHLER, A.G. **Flora brasiliensis**, Leipzig, v. 3, n.1, p. 1-24, 1842.

GUAGLIANONE, E.S.; GATTUSO, S. Estudios taxonomicos sobre el genero *Smilax* (Smilacaceae): 1. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, Cordoba, v. 27, n. 1-2, p. 105-129, 1991.

GUIMARÃES, A.R.; COSTA, C.G.; ANDREATA, R.H.P. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smilax subsessiliflora* (Smilacaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 62, n. 2, p. 181-194, 2010.

GUO, M.; KOIKE, K.; LI, W.; GUO, D.; NIKAIDO, T. Matol glucosides from the tuber of *Smilax bockii*. **Phytochemistry**, Maryland Heights, v. 65, p. 481-484, 2004.

HAMMERSCHMIDT, R. Phenols and plant-pathogen interactions: The saga continues. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Michigan, v. 66, n. 3, p. 77-78, 2005.

HORRIDGE, G.A.; TAMM, S.L. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science**, Washington, v. 163, p. 817-818, 1969.

HUGHES, J.; MCCULLY, M.E. The use of an optical brightener in the study of plant structure. **Stain Technology**, St. Louis, v. 50, p. 319-452, 1975.

HURST, F. The stem endodermis of the genus *Smilax* in central Texas. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 37, n. 8, p. 659-684, 1950.

JENKS, M.; ASHWORTH, E. Plant epicuticular waxes: function, production and genetics. In: **Horticultural reviews**. New Jersey: Ed. John Wiley, 1998. p. 384.

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry**: principles and practice. San Francisco: W. H. Freeman, 1962. 408 p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 528 p.

JORDAN, G.J.; BANNISTER, J.M.; MILDENHALL, D.C.; ZETTER, R.; LEE, D.E. Fossil Ericaceae from New Zealand: deconstructing the use of fossil evidence in historical biogeography. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 97, n. 1, p. 59-70, 2010.

JU, Y.; JIA, Z. Steroidal saponins from rhizomes of *Smilax menispermoides*. **Phytochemistry**, Maryland Heights, v. 31, p. 1349-1351, 1992.

KAYSER, F.; BIENZ, K.; ECKERT, J.; ZINKERNAGEL, R. **Medical microbiology**. Stuttgart: Ed. Thieme, 2004. 698 p.

KANDIL, F.E.; GRACE, M.H.; SEIGLER, D.S.; CHEESEMAN, J.M. Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence. **Trees**, Vancouver, v. 18, p. 518-528, 2004.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137-138, 1965.

KIM, G.; SHODA, K.; TSUGE, T.; CHO, K.; UCHIMIA, H.; YOKOYAMA, R.; NISHITANI, K.; TSUKAYA, H. The ANGUSTIFOLIA gene of Arabidopsis, a plant CtBP gene, regulates leaf-cell expansion, the arrangement of cortical microtubules in leaf cells and expression of a gene involved in cell-wall formation. **The EMBO Journal**, Heidelberg, v. 21, n. 6, p. 1267-1279, 2002.

KOCSIS, M.; DARÓK, J.; BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. **Plant Systematics and Evolution**, Jena, v. 248, n. 1, p. 205-218, 2004.

KOYAMA, T. Materials toward a monograph of the genus *Smilax*. **Quarterly Journal of the Taiwan Museum**, v. 13, n. 1-2, p. 1-61, 1960.

LAAKSO, K.; SULLIVAN, J.H.; HUTTUNEN, S. The effects of UV-B radiation on epidermal anatomy in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). **Plant, Cell and Environment**, Logan, v. 23, p. 461-472, 2000.

LI, H.; TAYLOR, D.W. *Aculeovinea yunguiensis* Gen. et Sp. Nov. (Gigantopteridales), a New Taxon of Gigantopterid Stem from the Upper Permian of Guizhou Province, China. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 159, n. 6, p. 1023-1033, 1998.

MARQUETE, O.; PONTES, R.G. Estudo anatômico foliar comparativo de *Smilax spicata* Vell., *Smilax rufescens* Griseb. e *Smilax fluminensis* Steudel. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 54, p. 413-426, 1994.

MARTINS, A.R. **Morfoanatomia dos Órgãos Vegetativos e Perfil Químico de Espécies do Gênero Smilax L. (Smilacaceae)**. 2009. 158 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

MARTINS, A.R.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Smilax polyantha* Griseb. (Smilacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, p. 555-567, 2006.

MATHEW, A.; BHAT, K.M. Anatomical diversity of Indian rattan palms (Calamoideae) in relation to biogeography and systematics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Kew Richmond, v. 125, n. 1, p. 71-86, 1997.

MENEZES, N.L.D.; SILVA, D.C.; ARRUDA, R.C.O.; MELO-DE-PINHA, G.F.; CARDOSO, V.A.; CASTRO, N.M.; SCATENA, V.L.; SCREMIN-DIAS, E. Meristematic activity of the Endodermis and the Pericycle in the primary thickening in monocotyledons: considerations on the "PTM". **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 77, p. 259-274, 2005.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Ed. Clarendon Press, 1979. 2v.

PECKOLT, O. Sobre a planta produtora da Japecanga. **Revista da Flora Medicinal**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 9, p. 513-517, 1936.

RICHLEFFS, R.E. **A Economia da Natureza**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 542 p.

ROBERTS, K. How the cell wall acquired a cellular context. **Plant Physiology**, Urbana, v. 125, n. 1, p. 127-130, 2001.

ROWE, N.; ISNARD, S.; SPECK, T. Diversity of mechanical architectures in climbing plants: an evolutionary perspective. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 23, n. 2, p. 108-128, 2004.

SAKAI, W.S. Simple Method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue. **Stain Technology**, Baltimore, v. 48, p. 247-248, 1973.

SHU, X.S.; GAO, Z.H.; YANG, X.L. Supercritical fluid extraction of saponins from tubers of *Smilax china*. **Fitoterapia**, Maryland Heights, v.75, p. 656-661, 2004.

SILVA, A.C.O.; DE ALBUQUERQUE, U.P. 2005. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 19, p. 17-26, 2005.

SOARES, A.N. **Morfoanatomia, perfil químico e propagação de Smilax fluminensis Steud. (Smilacaceae)**. 2010. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

STRASBURGER, E. **Handbook of practical botany**. London: George Allen & Company, 1913. 527 p.

VANDERCOLME, E. História botânica e terapêutica das salsaparrilhas. **Revista da Flora Medicinal**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 11, p. 316-524, 1947

WAGNER, F.; SEPPO, N.; KÜRSCHNER, W.M.; VISSCHER, H. The influence of hybridization on epidermal properties of birch species and the consequences for palaeoclimatic interpretations. **Plant Ecology**, Perth, v. 148, n. 1, p. 61-69, 2000.

WANG, X.; ARORA, R. Structural adaptations in overwintering leaves of thermonastic and nonthermonastic *Rhododendron* Species. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 133, n. 6, p. 768-776, 2008.

WILLDENOW, C.L. *Smilax*. In: LINNÉ, CAROLI. **Species plantarum**. Berlin: Ed. Beroline, v. 4, n. 2, 1806. p. 773-786.

XU, J.; LI, X.; ZHANG, P.; LI, Z.; WANG, Y. Antiinflammatory constituents from the roots of *Smilax bockii* Warb. **Archives of Pharmacal Research**, Seoul, v. 28, p. 395-399, 2005.

YATES, I.E.; DUNCAN, W.H. Comparative studies of Smilax, section Smilax, of the southeastern United States. **Rhodora**, Petersham, v. 72, p. 289-312, 1970.