

Article

Estudo Morfoanatômico e Atividade Antimicrobiana das Folhas de *Miconia ferruginata* DC

Heleno Dias Ferreira ¹ , Lucas Augusto Rocha Lima ² , Maria Helena Rezende ³ , José Realino de Paula ^{4*} ,
Virgínia Farias Alves ⁵ , Luiza Toubas Chaul ⁶ , Tatiana de Sousa Fiuza ⁷ 

¹ Doutor (Universidade Federal de Goiás). ORCID: 0000-0001-7763-734X. E-mail: hdiasicb@gmail.com

² Discente (Universidade Federal de Goiás). E-mail: lucask1ll@hotmail.com

³ Doutora (Universidade de São Paulo). ORCID: 0000-0001-7873-3595. E-mail: mhrezende@uol.com.br

⁴ Doutor (Universidade Federal de Goiás). ORCID: 0000-0002-4424-7692. E-mail: pjrpaula@gmail.com

⁵ Doutora (Universidade Federal de Goiás). ORCID: 0000-0002-5556-3711. E-mail: valves.ufg@gmail.com

⁶ Mestre (Universidade Federal de Goiás). ORCID: 0000-0002-1538-7522. E-mail: luizachaul@hotmail.com

⁷ Doutora (Universidade Federal de Goiás). ORCID: 0000-0003-0135-177X. E-mail: tatianaanatomia@gmail.com

* Correspondence: pjrpaula@gmail.com

RESUMO

Miconia ferruginata DC. (Melastomataceae) é usada popularmente para tratamento de doenças de pele. Objetivou-se realizar o estudo morfoanatômico, triagem fitoquímica e avaliar a atividade antimicrobiana de *M. ferruginata*. As folhas foram coletadas em Pirenópolis, Goiás, mensalmente por 12 meses. Uma exsicata foi depositada no Herbário da UFG. A morfoanatomia e a triagem fitoquímica do pó das folhas foram realizadas de acordo com as técnicas convencionais. A atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das folhas foi feita pelo método de microdiluição em caldo. *M. ferruginata* é uma pequena árvore, com tronco suberoso, folhas simples e oposta; inflorescência em monocásio terminal, flores diclamídeas e com frutos maduros carnosos e arroxeados. Anatomicamente as folhas são hipoestomática, epiderme revestida por cutícula espessa com flanges cuticulares e criptas na face abaxial. Observaram-se a presença de heterosídeos flavonoides, saponinas, cumarinas, triterpenos e taninos no pó das folhas. O extrato das folhas apresentou atividade contra *Micrococcus luteus* (125 µg/mL), *M. luteus* (250 µg/mL) e *Bacillus cereus* (250 µg/mL). A análise anatômica das folhas e caule jovem forneceu parâmetros para a correta identificação botânica desta espécie, dados ainda não relatados na literatura.

Palavras-chave: melastomataceae; atividade antibacteriana; CIM.

ABSTRACT

Miconia ferruginata DC. (Melastomataceae) is popularly used for treatment of skin diseases. The aim of this study was to perform morphoanatomy, phytochemical screening and antimicrobial activity. The leaves were collected in Pirenópolis, Goiás, monthly for 12 months. The voucher was deposited in the Herbarium of UFG. Morphoanatomy and phytochemical screening were performed according



Submissão: 21/12/2018



Aceite: 06/06/2022



Publicação: 02/08/2022



to conventional techniques. The antimicrobial activity of the crude ethanol extract of the leaves was performed by broth microdilution method. *M. ferruginata* is a small tree, with suberous trunk, simple and opposite leaves; inflorescence in terminal monocase, diclamid flowers and with fleshy and purplish ripe fruits. Anatomically the leaves are hypostomatic, epidermis covered by thick cuticle with cuticular flanges and crypts on the abaxial face. It was observed flavonoid, saponins, coumarins, triterpenes and tannins in leaf powder. Leaf extract showed antimicrobial activity against *Micrococcus luteus* (125 µg / ml), *M. luteus* (250 µg / ml) and *Bacillus cereus* (250 µg / ml). The anatomical analysis of the leaves and young stem provided parameters for the correct botanical identification of this species, data not yet reported in the literature.

Keywords: melastomataceae; antibacterial activity; MIC.

1. Introdução

Melastomataceae possui cerca de 188 gêneros e 4960 espécies, dividida em duas subfamílias: Melastomatoideae Seringe (cerca de 14 tribos) e Olisbeoideae Burnett (APG IV 2017). A família está amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais (70% no Novo Mundo). No Brasil, algumas espécies de Melastomataceae são encontradas em todo o território brasileiro, sendo comuns nos domínios da Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica. Em áreas de cerrados, ocorrem vários gêneros com frutos capsulares como *Cambessedesia*, *Chaetostoma*, *Desmoscelis*, *Fritzschia*, *Lavoisiera*, *Lithobium*, *Macairea*, *Marctia*, *Microlepis*, *Microlicia*, *Potheranthera*, *Stenodon*, *Svitramiae*, *Trembleya* e com frutos carnosos como *Clidemia*, *Leandra*, *Miconia* e *Ossaia* (Goldenberg et al. 2009).

A designação do nome da família tem sua origem no grego melastoma (melas = preto e stoma = boca), dando origem à expressão boca preta (Campos 2005).

A família Melastomataceae caracteriza-se pelas folhas simples, opostas cruzadas, sem estípulas padrão de inervação curvinérveas ou acródomas, frequentemente revestidas por variados tipos de tricomas; inflorescências terminais ou axilares; flores usualmente bissexuais, sépalas geralmente 3-5, pétalas 3-5; estames geralmente 6-10, às vezes dimórficas. Carpelos usualmente 6-10, ovário súpero a ínfero, óvulos usualmente números por lóculos. Frutos em cápsulas loculicidas ou bagas. Sementes geralmente numerosas (Judd et al. 1999). O gênero *Miconia* com cerca de 1000 espécies pertence à família Melastomataceae, subfamília Melastomatoideae e tribo Miconieae.

Miconia ferruginata DC. é uma espécie conhecida como pixirica-do-campo e babatenão, utilizada popularmente em infusão e banhos para tratamento de doenças da pele (Almeida & Bandeira 2010). Seus frutos são comestíveis ao natural, de sabor “água com açúcar”. É indicada para recuperação de áreas degradadas e apresenta potencial ornamental pela arquitetura rústica (Kuhlmann 2012). Tem habitat predominantemente savânico, campestre e florestal, ocorrendo em Cerrado *stricto sensu*, Campo sujo e Cerradão (Kuhlmann 2012, Santos 2003). Ocorre na Bolívia e, no Brasil, nos estados do Pará, Tocantins, Bahia, Sergipe, Mato grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais e São Paulo (Goldenberg 2000; Goldenberg 2009). É uma espécie de porte arbustivo ou arbóreo, atingindo até 4 m de altura, tronco cilíndrico, suberosos, com ramos muito robustos, rugosos, com estrias evidentes. Folhas discolores, geralmente grandes 7-32,5 cm comprimento, 2,5-13 cm largura. Inflorescências determinadas, escorpioides, 14-38,5 cm comprimento e com indumento ferrugíneo; flores bissexuais. Fruto imaturo verde-oliva e enegrecido quando maduro e carnosos. Sementes numerosas, 50 por frutos (Rezende 2012).

Estudos científicos verificaram como compostos majoritários das partes aéreas de *M. ferruginata* o cariofileno (56,2%) e -humuleno (7,3%), o 8-heptadeceno (16,8%) e o álcool 1-octen-3-ol (9,5%) (Barroso et al. 2017). Cunha et al. (2017) relataram efeito inseticida do extrato etanólico das folhas de *M. ferruginata* sobre as lagartas de *Spodoptera frugiperda*. Barroso et al. (2021) observaram alta citotoxicidade do extrato etanólico das folhas/flores e caules de *M. ferruginata* contra células tumorais ($p < 0,001$) de 4T1, A549 e MDA MB 231, associada à baixa toxicidade celular contra fibroblastos.

O trabalho teve por objetivo caracterizar morfológicamente *M. ferruginata* e realizar estudo anatômico de suas folhas, triagem fitoquímica, determinar o teor de água e análise antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto das folhas.



2. Metodologia

2.1. Material botânico

A amostra constituída por folhas foi coletada em Pirenópolis, Goiás (latitude 15° 48' 15,0" sul, longitude 48° 52' 48,8" oeste, altitude 1295m). O material foi identificado pelo professor Doutor Helena Dias Ferreira e uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás (n° 47922). As folhas frescas foram utilizadas para o estudo anatômico

Para a triagem fitoquímica as folhas foram secas em estufa com circulação de ar (Fabbe—Primar) a uma temperatura de 30°C e pulverizadas em triturador comercial (Skymesen, LS-08MB-N). Para as análises anatômicas, triagem fitoquímica, teor de água e atividade antimicrobiana foram coletadas folhas de 11 indivíduos diferentes.

2.2. Análise morfológica

A caracterização macroscópica da espécie vegetal foi realizada à vista desarmada e com auxílio de microscópio estereoscópico Olympus SZ-ST. O desenvolvimento dos indivíduos adultos no seu habitat natural foi acompanhado, mensalmente, durante 12 meses. As imagens foram registradas com máquina fotográfica digital (Canon EOS T4i).

2.3. Descrição anatômica

Para a realização das análises anatômicas das folhas de *M. ferruginata* foram utilizados fragmentos de aproximadamente um centímetro (segmentos de pecíolo, nervura principal, região da internervura e bordo). Os cortes histológicos foram realizados à mão livre a partir de material botânico fresco. Para preparação das lâminas os cortes histológicos foram clarificados com hipoclorito de sódio a 30%, lavados posteriormente com água destilada e ácido acético 5%, sendo submetidos ao processo de dupla coloração azul de Alcian/safranina 9:1 (Kraus & Arduin 1997).

O registro fotográfico das estruturas anatômicas foi realizado em fotomicroscópio (Zeiss-Axiostarplus) com máquina fotográfica digital acoplada (Canon Power Shot G10) utilizando o programa Axion Vision 4.8.

2.4. Triagem fitoquímica

Para a triagem fitoquímica foram pesquisados: heterosídeos antraquinônicos (formação de fenatos de amônio), cumarinas (hidrólise alcalina e observação em luz ultra-violeta), esteroides e triterpenos (reações de Liebermann-Burchard e Salkowski); heterosídeos digitálicos (reações de Liebermann-Burchard, Kedde e Keller-Kiliani); amido (lugol); alcaloides (reativos de Mayer, Dragendorff, Bouchardat, Bertrand, Hager, ácido tânico a 1%); heterosídeos flavonoides (reação de Shinoda; oxalo-bórica; com H₂SO₄ conc.; com hidróxidos alcalinos; cloreto de alumínio e cloreto férrico); heterosídeos saponínicos (índice de espuma); taninos (reações com gelatina, sulfato de quinina 1%, acetato de cobre 4%, cloreto férrico 2% e hidróxido de sódio a 20%) e metilxantinas (reação de murexida) (Costa 2001, Cunha 2005).

2.5. Preparação do extrato bruto

Foram adicionados em um recipiente 100g de pó das folhas de *M. ferruginata*, 2 litros de álcool etílico 96°GL e a mistura submetida à agitação mecânica à uma frequência de 250 RPM durante 5 horas por três dias. A mistura foi filtrada amostra e submetida à rotaevaporação a uma temperatura ≤ 40°C, obtendo-se assim o extrato etanólico bruto. O processo foi repetido 3 vezes até esgotar os metabólitos contidos na mistura.

2.6. Avaliação da atividade antimicrobiana

Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato bruto das folhas utilizou-se o método de microdiluição em caldo, como recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2012). Os experimentos foram realizados em triplicata.



Os microrganismos utilizados foram cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC), cedidos pelo Laboratório de Microbiologia de Medicamentos e Alimentos (LAMIMA) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (FF/UFG) (Tabela 1).

Tabela 1. Microrganismos utilizados nos ensaios de microdiluição em caldo.

Bactérias Gram-positivas	Bactérias Gram-negativas
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>Enterobacter cloacae</i> (isolado clínico) HMA: FTA 502
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
<i>M. luteus</i> ATCC 10240	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> serovar Typhi ATCC 10749
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> sorotipo Abony NCT 6017
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar Typhi (CT) ATCC 19430
	<i>S. enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar Choleraesuis ATCC 10708
	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756

Inicialmente as bactérias foram cultivadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI, Oxoid, England) por 24 horas a 35°C, seguidas de cultivo em agar *Casoy* (Kavsi, Itália) suplementado com 0,6% de extrato de levedura (*Becton, Dickinson and Company*, Brasil) por 24 horas a 35°C.

As amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) e posteriormente diluídas em caldo *Mueller Hinton* (MH) (Himedia, Índia) para obter a concentração de 2000 µg/mL.

Para determinação da CIM frente às bactérias foram utilizadas microplacas estéreis com 96 poços com fundo em U, preenchidas com 100 µL de caldo MH. Em seguida, adicionaram-se alíquotas de 200 µL da amostra e dos controles a serem avaliados. Realizaram-se diluições seriadas até a obtenção de uma concentração de 1,95 µg/mL da mesma. Os inóculos bacterianos foram preparados diluindo-se as culturas provenientes de ágar *Casoy* em solução de cloreto de sódio 0,85% (p/v), com ajuste da concentração bacteriana para a escala 0,5 de *MacFarland*, no intervalo de transmitância de 79,4% a 83,2% (espectrofotômetro UV/VIS Marca Hinotek, Modelo SP-2000UV). Em seguida realizou-se diluição seriada em solução de cloreto de sódio 0,85% para obtenção de 10⁷UFC/mL. Posteriormente, 5 µL das suspensões bacterianas foram acrescentadas a cada orifício da placa, obtendo-se concentração final de 5 x 10⁵ UFC/mL. Foram feitos controles negativos com DMSO 10% (v/v). Como controle positivo foi utilizado ciprofloxacina (200µg/mL) (Sigma-Aldrich). Após as inoculações, as placas foram incubadas a 35°C por 18-24h. A leitura foi realizada após adição de 30 µL de cloreto de trifêniltetrazólio (TTC) a 0,5% (p/v), seguido de nova incubação por 30 minutos. O aparecimento de coloração avermelhada foi indicativo de crescimento bacteriano.

A CIM foi definida como a menor concentração da amostra (em µg/mL) capaz de inibir de forma visível o crescimento bacteriano. A classificação proposta por Holetz et al. (2002) foi utilizada para interpretar os resultados dos testes de atividade antimicrobiana. De acordo com esta classificação, CIM abaixo de 100 µg/mL indica boa atividade inibitória; CIM entre 100 e 500 µg/mL indica moderada atividade inibitória; CIM entre 500 e 1000 µg/mL indica fraca atividade inibitória; acima de 1000 µg/mL indica ausência de atividade antimicrobiana.

3. Resultados

A triagem fitoquímica revelou a presença de heterosídeos flavonoides, saponinas, cumarinas, triterpenos e taninos no pó das folhas. O teor de umidade residual foi de 7,11% com desvio padrão de 0,314.



3.1. Análise morfológica

Miconia ferruginata é uma espécie de porte arbustivo a arbóreo 1-3,5 m de altura (Figura 1A), tronco lenhoso, suberoso, fissurado longitudinalmente e com crista, ramos jovens revestidos por tricomas ferruginosos. Folhas pecioladas, pecíolos robustos, cilíndricos, ferruginosos; lâmina foliar de folhas jovens ferruginosas em ambas as faces, folhas adultas glabras e verdes escuras na face adaxial e tomentosas na face abaxial, revestidas por tricomas estrelados. Inflorescência determinada, em cimeira do tipo monocásio, terminal, 20-25cm comprimento (Figura 1B), os ramos da inflorescência são robustos e densamente ferrugíneo-tomentosos. Flores brancas, cálice com 5 sépalas, ferruginosos externamente, corola com 5 pétalas brancas, livres; androceu com 10 estames, esbranquiçados, inseridos no hipanto; ovário súpero, 1 estilete terminal, 1 estigma. Fruto carnososo, revestido por tricomas (Figura 1C). Sementes numerosas, cerca de 25 por fruto, forma de cunha, cerca de 2 mm de comprimento e 2 mm de largura ao nível da extremidade superior.

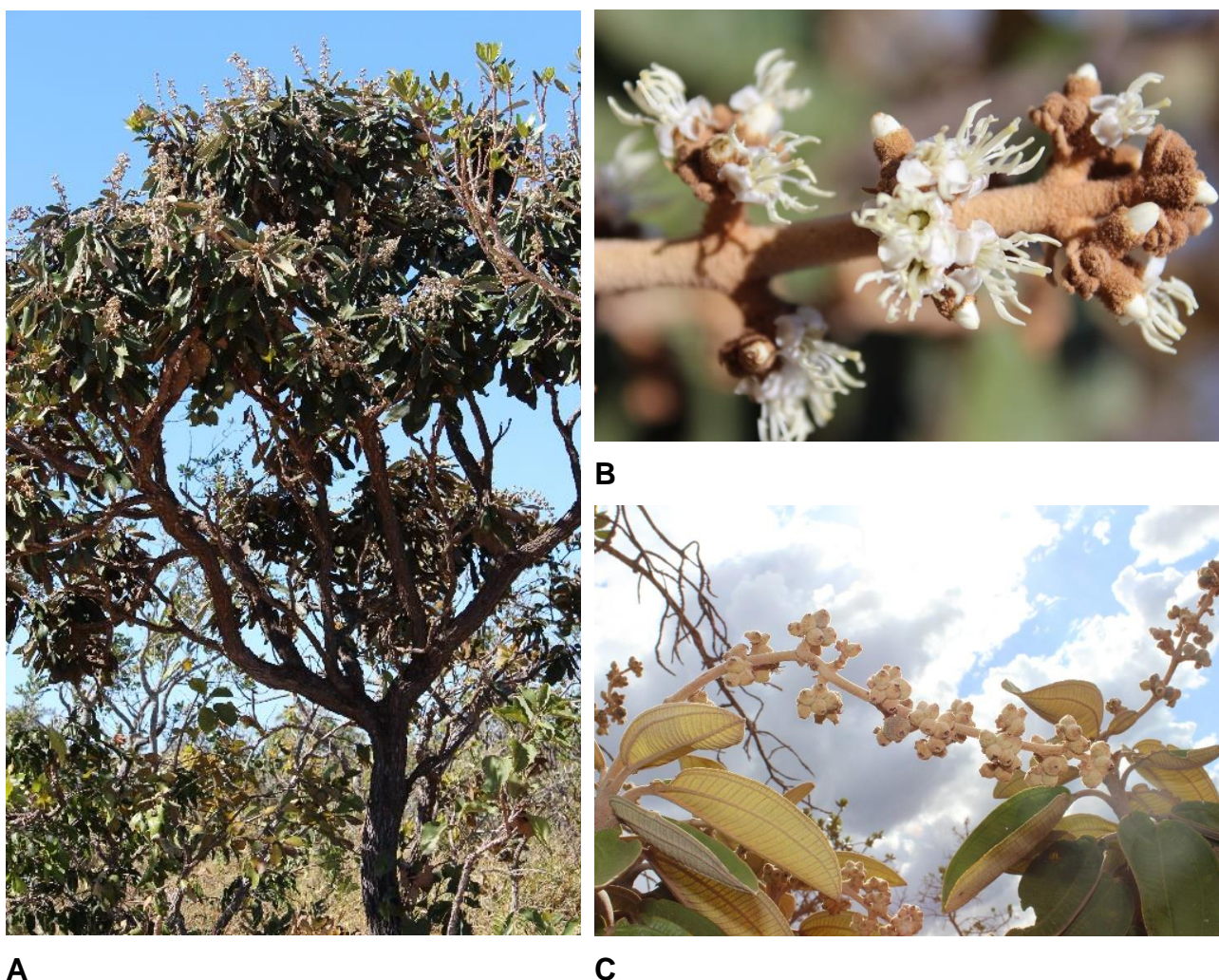


Figura 1. *Miconia ferruginata*. A- Aspecto geral da árvore. B-Inflorescência com botões florais. C- Aspecto geral dos frutos. Fonte: próprio autor.

M. ferruginata é uma espécie muito comum nos cerrados no alto da Serra dos Pirineus. Verificou-se que o pico de sua floração ocorre de julho a setembro e o período de frutificação começa em agosto e termina em novembro. Cada indivíduo produz 125 a 160 flores por inflorescência e grande quantidade de frutos, disponíveis principalmente para a avifauna do Cerrado. Os frutos maduros são carnosos, suculentos e roxo-escuros.

Nos meses de janeiro a junho a maioria dos espécimes apresenta-se no estado vegetativo e nos primeiros meses do ano, devido ao período chuvoso na região, os indivíduos contêm muitas folhas e brotos novos. No período de seca, entre julho a setembro, algumas



folhas caem durante a floração. As folhas jovens possuem tomento e ferruginoso em ambas as faces e à medida que vão ficando adultas, elas tornam-se glabrescentes e verde-escuras na face superior.

3.2. Descrição anatômica

A folha é hipoestomática. Em secção transversal, a epiderme é uni-estratificada e o mesofilo é dorsiventral (Figura 2A). As células epidérmicas da face adaxial possuem paredes retas e a epiderme da face abaxial possui criptas intercaladas por nervuras de porte médio (Figura 2C), com grande quantidade de tricomas do tipo estrelado estipitado (Figuras 2A, 2B e 2D). As células epidérmicas da face adaxial são maiores que as da face abaxial e suas paredes periclinais são revestidas por cutícula espessa enquanto que as células epidérmicas da face abaxial possuem cutícula delgada (Figura 2D). Nas criptas, junto à epiderme verificam-se feixes vasculares de pequeno porte sem extensão de bainha.

As nervuras de porte médio apresentam contorno arredondado e epiderme uni-estratificada, revestida por uma cutícula, presença de numerosos tricomas estrelados estipitados e dendríticos. Sob a epiderme ocorre um colênquima angular com até 4 camadas células e um parênquima cortical com até 6 camadas de células. No parênquima cortical verificam-se células esclerenquimáticas e idioblastos com drusas. Presença de feixes vasculares bicolaterais em arco fechado e em arco aberto (Figuras 2A e 2B).

No mesofilo o parênquima paliçádico é constituído por 2 camadas de células, abrangendo 2/3 do mesofilo (Figura 2D). O parênquima lacunoso possui 2-4 camadas de células com presença de idioblastos contendo drusas.

O bordo foliar possui epiderme uni-estratificada revestida por cutícula espessa com formação de flanges cuticulares. No parênquima lacunoso (Figura 2E), verifica-se a ocorrência de idioblastos com drusas e o parênquima paliçádico (Figura 2E) é formado por duas camadas de células. Observam-se criptas, tricomas estrelados (Figura 2E) e as células da epiderme adaxial são maiores que as da epiderme abaxial (Figura 2F).

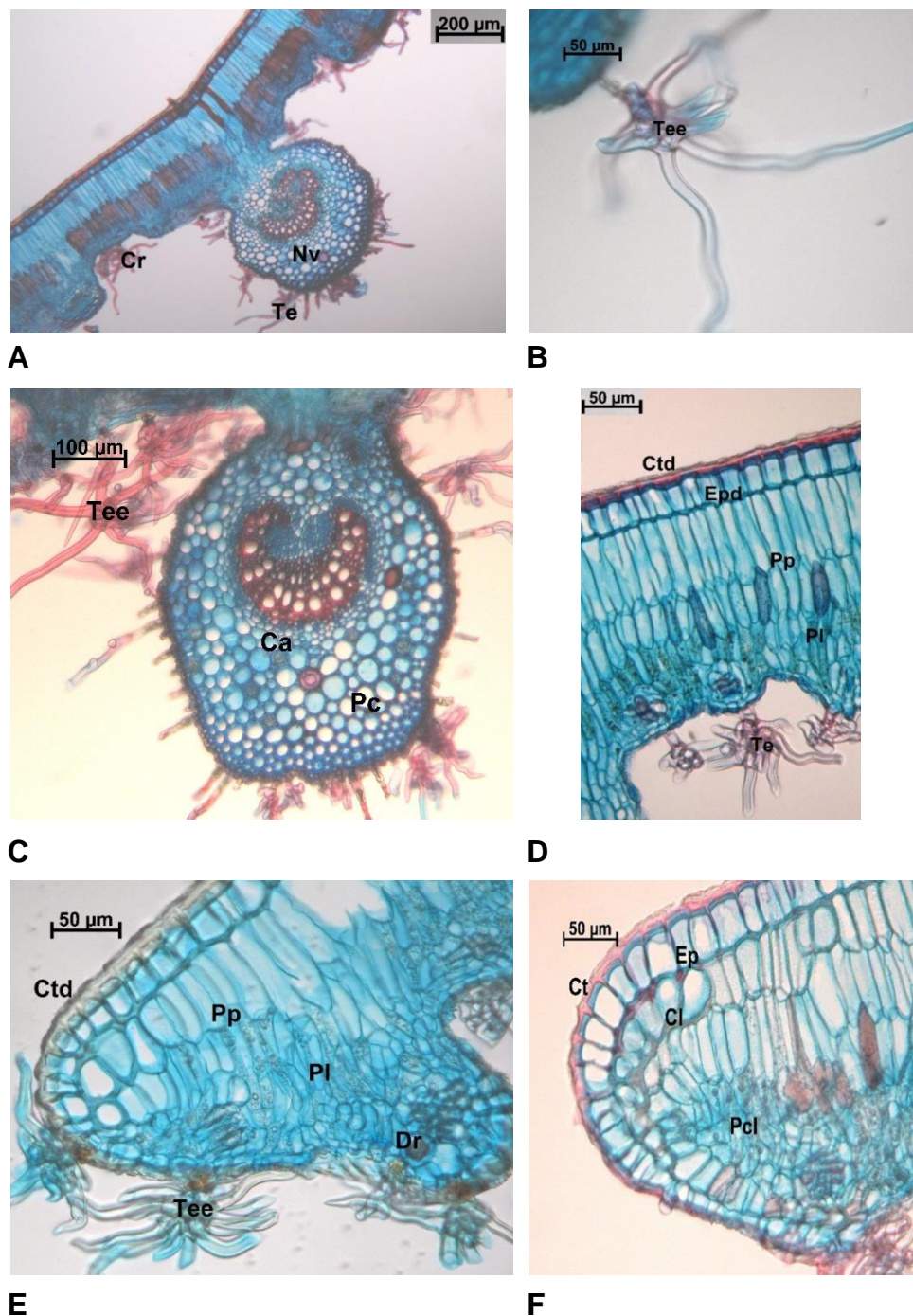


Figura 2. *M. ferruginata*. Secções transversais da região da internervura e bordo das folhas coradas com Azul de Alcian/Safranina. A – Visão geral evidenciando nervura de médio porte com feixe vascular em arco aberto. B – Detalhe do tricoma estrelado estipitado. C- Detalhe da nervura de porte médio. D -- Visão geral do mesofilo evidenciando bicamada de parênquima paliçádico, cutícula espessa na face adaxial, criptas e tricomas estrelado estipitado na face abaxial. E –Bordo evidenciando tricomas estrelados. F – Bordo evidenciando cutícula espessa e colênquima angular e parênquima clorofiliano. Ca – Colênquima angular; Cl – Colênquima; Cr – Criptas; Ctd – Cutícula face adaxial; Dr – Drusas; Nv – Nervura; Pc – Parênquima cortical; Epd – Epiderme face adaxial; Pcl – Parênquima clorofiliano; Pp – Parênquima paliçádico; Pl– Parênquima lacunoso. Te – Tricoma estrelado; Tee– Tricoma estrelado estipitado; Fonte: próprio autor.

A nervura central possui contorno convexo (Figura 3A). A epiderme uni-estratificada possui uma cutícula espessa com muitos tricomas ramificados. Sob a epiderme ocorre colênquima angular com cerca de 5 camadas de células, parênquima cortical com 8-10 camadas de células de diferentes diâmetros, entremeadas por células esclerenquimáticas e idioblastos com drusas (Figura 3C, 3D, 3E).



Possui feixe vascular maior em arco aberto, com extremidades revolutas, biclaterais, floema externo e interno ao xilema e de feixes vasculares pequenos internamente (Figura 3A, 3B). Presença de drusas nos feixes vasculares e parênquima medular.

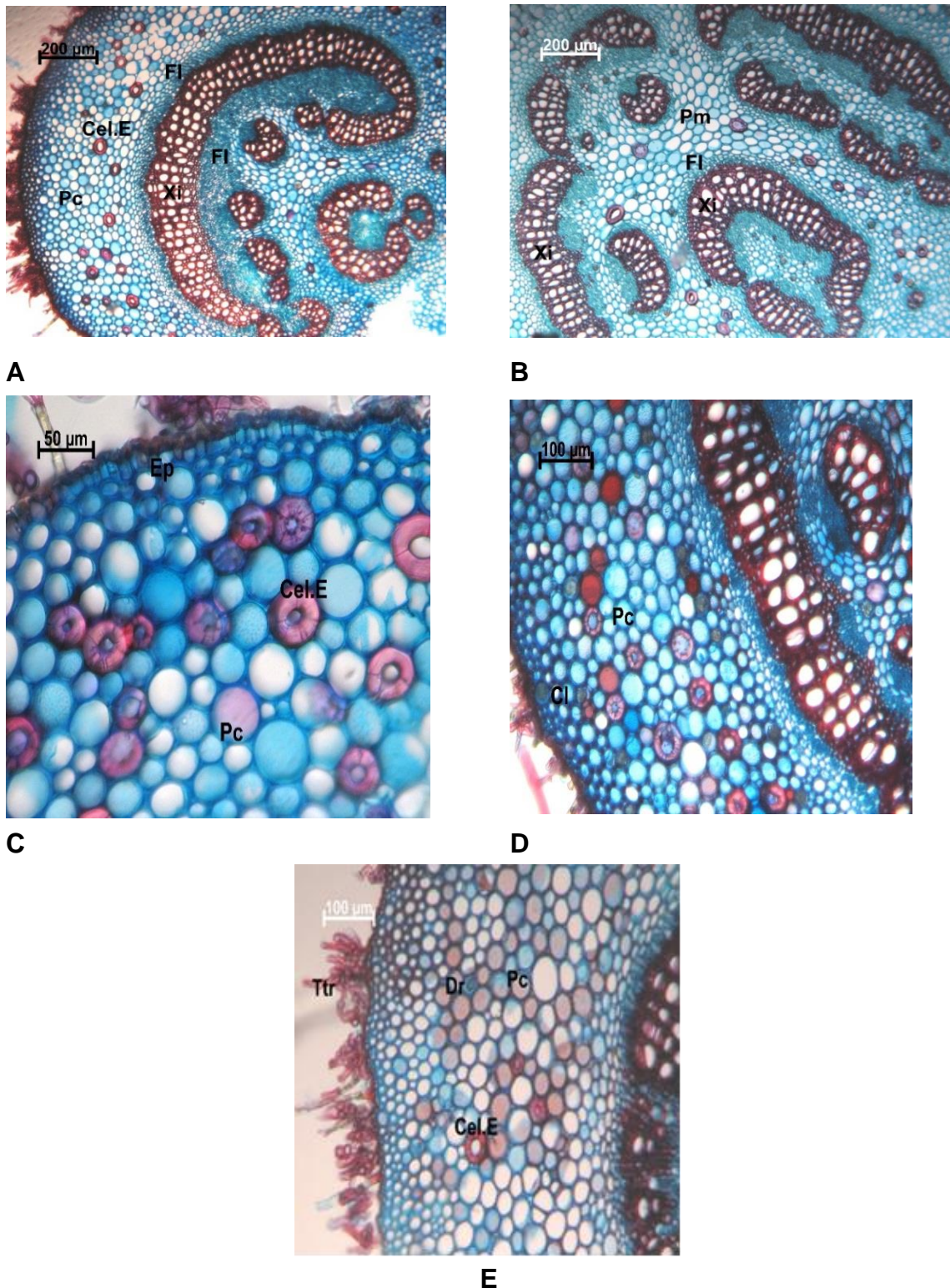


Figura 3. *M. ferruginata*. Secções transversais da nervura central da folha coradas com azul de Alcian/safranina. **A** – Visão geral evidenciando feixe vascular arco (em ferradura). **B** – Cilindro central apresentando vários feixes vasculares. **C** – Parênquima cortical da nervura principal com células esclerenquimáticas.

D – Visão região cortical apresentando colênquima externamente ao parênquima. **E** – Tricomas tectores ramificados externamente à epiderme. **Pc** – Parênquima cortical; **Cel.E** – Célula esclerenquimática; **Fl** – Floema; **Xi** – Xilema; **Pm** – Parênquima medular; **Ep** – Epiderme; **Cl** – Colênquima; **Dr** – Drusa;

Ttr – Tricoma tector ramificado. **Fonte:** próprio autor.



O pecíolo, em secção transversal, tem epiderme uni-estratificada revestida por uma cutícula. Externamente à epiderme verifica-se a presença de grande quantidade de tricomas estrelados estipitados (Figura 4A e 4B). Sob a epiderme observa-se colênquima angular formado por 3-5 camadas de células (Figura 4B). O parênquima cortical é formado por várias camadas de células entremeadas por células esclerificadas (Figura 4A e 4B) e o parênquima medular possui células de tamanhos variados com presença de células esclerificadas (Figura 4E) e numerosos idioblastos com drusas. O feixe vascular principal é em arco aberto com extremidades revolutas e com feixes menores no seu interior dos tipos bicolateral e anfrivascular (Figura 4D).

3.3. Atividade antimicrobiana

O extrato etanólico bruto (EEB) de folhas de *M. ferruginata* apresentou atividade antimicrobiana moderada frente *Bacillus cereus* ATCC 14579 (CIM= 250 µg/mL), *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (CIM= 250 µg/mL) e *M. luteus* ATCC 10240 (CIM= 125 µg/mL). A atividade antimicrobiana demonstrou-se fraca contra *B. subtilis* ATCC 6633 (CIM= 1000 µg/mL), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (CIM= 1000 µg/mL), *S. aureus* ATCC 25923 (CIM= 500 µg/mL) e *S. epidermidis* ATCC 12228 (CIM= 500 µg/mL). Para os patógenos Gram-negativos o extrato etanólico testado apresentou-se inativo (Tabela 2).

Tabela 2- Concentração Inibitória Mínima (CIM em µg/mL) do extrato etanólico bruto de *Miconia ferruginata* frente a diferentes microrganismos.

Microrganismos testados	EEB
Bactérias Gram-positivas	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	250 µg/mL
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	1000 µg/mL
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	250 µg/mL
<i>M. luteus</i> ATCC 10240	125 µg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	500 µg/mL
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1000 µg/mL
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	500 µg/mL
Bactérias Gram-negativas	
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	IN
<i>E. cloacae</i> HMA: FTA 502	IN
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	IN
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70063	IN
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 10749	IN
<i>S. enterica</i> (CT) ATCC 19430	IN
<i>S. enterica</i> ATCC 10708	IN
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	IN
<i>S. enterica subsp enterica</i> sorotipo Abony NCT 6017	IN

Nota: EEB - extrato etanólico bruto ; IN: Inativo, com concentração inibitória mínima superior a 1000 µg/mL

4. Discussão

Segundo Romero e Martins (2002), espécies de Melastomataceae possuem grande variedade de hábito, desde ervas até árvores. No presente estudo verificou-se que os indivíduos de *Miconia ferruginata* são pequenas árvores com até 3,5 m de altura e ocorrem tanto em cerrado rupestre com solo arenoso/pedregoso como em cerrado *sensu stricto* com solo do tipo latossolo. *M. ferruginata* é uma espécie com ocorrência comum na Serra dos Pireneus e com alta produção de frutos.



Constatou-se que *M. ferruginata* apresenta tronco lenhoso suberoso, casca fissurada longitudinalmente com presença de cristas, ramificado com ramos tortuosos suberosos, ramos jovens ferruginosos apresentando folhas simples opostas. As folhas adultas tornam-se glabras na face superior revestidas por indumento estrelado tomentoso. As folhas de indivíduos pertencentes a família Melastomataceae são simples, opostas cruzadas, frequentemente revestidas por tricomas, normalmente apresentam uma nervação tipicamente curvinérvea, com duas ou mais nervuras secundárias, distinguindo-se da base e percorrendo a periferia do limbo foliar até unirem-se à nervura central no ápice (Campos 2005).

Verificou-se em *M. ferruginata* inflorescência cimeira do tipo monocásio com tamanho aproximado de 20 a 25 cm apresentando até 160 flores. Os ramos da inflorescência são ferruginosos e densamente tortuosos. Em seu estudo, Martins (1989) destacou que as flores da família Melastomataceae são actinomorfas, diclamídeas, hermafroditas, tetrâmeras ou pentâmeras, reunidas em inflorescências paniculadas, racemosas ou mesmo unifloras. Os frutos de *M. ferruginata* são tomentosos apresentando entre 9 e 10 mm de diâmetro, arroxeados, carnosos, tipo baga, trilocular, com várias sementes. Magalhães (2013) em seu estudo classifica o ovário de indivíduos de *M. ferruginata* como tricarpelar, com numerosos óvulos.

Constatou-se que *M. ferruginata* apresenta início do período de floração no mês de julho acentuando-se nos meses de agosto e setembro diferentemente dos resultados obtidos por Montoro e Santos (2003), onde afirmou que o período de floração de espécies de *M. ferruginata* estende-se de fevereiro a julho. Já o período de frutificação inicia-se em agosto encerrando em novembro. Nesse período há frutos maduros de cor roxa disponíveis para a fauna silvestre, como o sabiá do campo (*Mimus saturninus*), guaracavas (*Elaenia* spp.), a cigarra do campo (*Neothraupis fasciata*), sabiás (*Turdus* spp.), primatas como o mico-estrela (*Callithrix penicillata*), possibilitando a dispersão dessa espécie de forma endozoocórica (Kuhlmann 2012). Montoro e Santos (2003) afirmaram que o período de frutificação ocorre entre maio e outubro. Tal diferença nos resultados obtidos possivelmente está relacionada a quantidade de chuvas ocorridas no ano de realização do estudo.

Verificou-se que a folha de *M. ferruginata* é hipoestomática, a epiderme é uniestratificada revestida por espessa cutícula espessa presente na face adaxial e com menor espessura na face abaxial, assim como nas espécies de *Lavoisier abergii*, Cogn, *Maicaireia radula* DC e *Trembleya parviflora* Cogn, também pertencentes à família Melastomataceae (Somavilla & Ribeiro 2011). Oliveira (2007) também relatou em seu estudo similar característica presente no gênero *Miconia* Ruiz et Pav. Costa (1977) ao estudar *Miconia theaezans* observou que esta espécie também apresenta epiderme adaxial uniestratificada. Os membros da família Melastomataceae apresentam como uma característica foliar a presença de tricomas estrelados que permitem uma proteção mecânica contra ataque de herbívoros (Haberlandt 1928), assim como contra a ovoposição de larvas (Esau 1977). Nos indivíduos de *M. ferruginata* observou-se grande quantidade de tricomas estrelados estipitados na face abaxial, externamente à epiderme, com concentração nas criptas. Este é o primeiro relato sobre a descrição anatômica da *M. ferruginata* na literatura.

No presente estudo, verificou-se que o EEB das folhas de *M. ferruginata* apresentou atividade antimicrobiana moderada frente às cepas de *B. cereus*, *M. luteus* e fraca contra *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* e *S. epidermidis*. Barroso (2015) verificou fraca atividade antimicrobiana inibitória do extrato etanólico bruto de folhas e flores de *M. ferruginata* frente a *B. cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus* sp., *Protens mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* (CIM >500 µg/mL). Cunha et al. (2020) observaram que a mistura isomérica dos ácidos ursólico e oleanólico obtida do extrato etanólico das folhas foi ativa contra *S. aureus* (CIM = 250 µg/ mL), *E. coli*, *B. subtilis* e *P. aeruginosa* (CIM = 500 µg/ mL).

Verificou-se no pó das folhas de *M. ferruginata* a presença de flavonoides, saponinas, cumarinas, triterpenos e taninos. Cunha et al. (2017) isolaram e identificaram no extrato etanólico das folhas de *M. ferruginata* os flavonoides 5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxi-6,8-dimetilflavona, 5-hidroxi-7,4'-dimetoxi-8-metilflavona, os triterpenos ácido ursólico e ácido oleanólico e identificaram a mistura dos esteróides β-sitosterol e estigmasterol. Barroso et al. (2021) relataram a presença de compostos fenólicos (flavona, flavonol e flavonóides derivados da quercetina), ácido quinínico e compostos monocateoilquinícos no extrato etanólico das folhas/flores e catequinas e flavonol no extrato etanólico do caule de *M. ferruginata*. Bomfim et al. (2022) também verificaram a presença de flavonoides, taninos, terpenos em outras espécies do gênero: *Miconia albicans* (SW.) Triana, *Miconia ciliata* (Rich.) DC., *Miconia fallax* DC., *Miconia amoena*



Triana e *Miconia alborufescens* Naudin. As saponinas interagem com as membranas celulares, aumentando a permeabilidade e produzindo danos celulares (Francis et al. 2002) podendo estar envolvidas nas propriedades antimicrobianas. Já os flavonoides são uma classe ampla de compostos fenólicos, conhecida por possuir atividade antimicrobiana, essencialmente, por inibição da enzima de DNA-girase (Cushnie & Lamb 2005). O teor de umidade residual foi de 7,11%, o que está dentro do estipulado pelas Farmacopeias que pode variar entre 8 a 14%. O excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, podendo acarretar a degradação de constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos, insetos e bactérias (Lapa et al. 2004).

5. Conclusão

Os resultados obtidos são um ponto de partida para a caracterização das folhas de *Miconia ferruginata* e controle de qualidade da matéria prima vegetal. A triagem fitoquímica indicou a presença de cumarinas, triterpenos, saponinas, taninos e flavonoides. O estudo permitiu evidenciar o período de frutificação entre os meses de agosto e novembro. Anatomicamente as folhas são hipoestomática, epiderme revestida por cutícula espessa com flanges cuticulares e criptas na face abaxial. Verificou-se atividade antimicrobiana moderada do extrato etanólico bruto das folhas contra *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*. O estudo morfoanatômico das folhas e caules jovens forneceu parâmetros para a correta identificação botânica desta espécie, dados ainda não relatados na literatura. Os resultados encontrados podem direcionar futuros estudos para atividades biológicas de *M. ferruginata*.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG). Este estudo foi financiado em parte pela CAPES, Código de Finanças 001.

Referências

- Almeida VS, Bandeira FPSF 2010. O significado cultural do uso de plantas da caatinga pelos quilombolas do Raso da Catarina, município de Jeremoabo, Bahia, Brasil. *Rodriguésia* 61(2): 195-209.
- APG IV 2017. Angiosperm Phylogeny Website. [serial on the Internet]. Disponível em < >. Acesso em: 14 julho, 2017.
- Barroso PR 2015. *Fitoquímica e Atividades Biológicas de Miconia ferruginata* DC. (Melastomataceae), Diamantina, MG. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM/ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. 255p. Dissertação: Mestrado em Ciências Farmacêuticas, UFVJM.
- Barroso PR, Otoni TJO, Mendes JPG, Machado ELM, Martins HR, Gregorio LE 2017. Analysis of volatiles from aerial parts of *Miconia ferruginata* by HS-SPME and GC-MS. *Chem Nat Comp* 53(1): 167-168.
- Barroso PB, Gregório LE, Kato KC, Campos FF, Gustavo F, Melo EBA, Oliveira F, Leite EA, Martins HR 2021. Biological activity and chemical composition of the ethanolic extracts of *Miconia ferruginata* DC. *Braz J Develop* 7(4): 37798-37819.
- Bomfim EMS, Coelho AAOP, Silva MC, Marques EJ, Vale VLC 2022. Phytochemical composition and biological activities of extracts from ten species of the family Melastomataceae Juss. *Braz J Biol* 82: 1-6.
- Campos BC 2005. *A família Melastomataceae nos campos rupestres e cerrados de altitude do Parque Estadual do Ibitipoca, Lima Duarte, MG, Brasil*. Rio de Janeiro: Programa de Pós- Graduação em Botânica, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico Rio de Janeiro, 157pp. Dissertação: Mestrado.
- Costa GC 1977. *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cog. (Melastomataceae) – Considerações anatômicas. *Rodriguésia* 29(43): 7-92.
- Costa AF 2001. *Farmacognosia*. Calouste Gulbenkian, Lisboa, 992 pp.
- CLSI/ NCCLS 2012. *National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. Approved standard, document M07-A8.
- Cunha AP 2005. *Farmacognosia e fitoquímica*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 670pp.
- Cunha GOS, Matos AP, Bernardo AR, Menezes ACS, Burger MCM, Vieira PC, Forim MR, Fernandes JB, Silva MFGF 2017. Constituintes químicos e atividade inseticida de *Miconia ferruginata*. *Quim Nova* 40(10): 1158-1163.



- Cunha GOS, Terezan AP, Matos AP, Burger MCM, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF, Menezes ACS 2020. Antimicrobial activity of isolated compounds and semisynthetic derivatives from *Miconia ferruginata*. *Acta Brasiliensis* 4(1): 49-52.
- Cushnie TPT, Lamb AJ 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 26(5): 343-56.
- Esau K 1977. *Anatomy of seed plants*. 2ed. John Wiley & Sons, New York, 550 pp.
- Francis G, Kerem Z, Makkar HPS, Becker K 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Brit J Nutr* 88(6): 587-605.
- Goldenberg R 2000. *O gênero Miconia Ruiz & Pav. (Melastomataceae). I. listagens analíticas, II. Revisão taxonômica da seção Hypoxanthus (Rich. ex DC.) Hook. F*, Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 249p.
- Golderberg R 2009. Melastomataceae: *Miconia* Ruitz & Pav. In SE Martins, MGL Wanderley, GJ Sheperd, AM Giulietti, TS Melthem, *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. v.6. Instituto de Botânica, FAPESP, São Paulo/SP, p. 73-103.
- Haberlandt G 1928. *Physiological Plant Anatomy*. 4 ed. Macmillian & Co, LTDA, London, 511 p.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DA, Nakamura CV, Filho BP 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 1027-1031.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF 1999. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*. Sinauer Associates, Inc., Sanderland, MA, USA, 464p.
- Kraus JE, Arduin M 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Ed. Universidade Rural, Rio de Janeiro, 198 pp.
- Kuhlmann M 2012. *Frutos e sementes do Cerrado atrativos para fauna: guia de campo*, Ed. Rede de sementes do Cerrado, 360pp.
- Magalhães CR, Ribeiro RC, Oliveira DMT 2013. Ontogênese de fruto e semente de *Miconia ferruginata* DC. (Melastomataceae). 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte.
- Martins AB 1989. Revisão taxonômica do gênero *Marvetia*. Campinas, 288p.— Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Estadual de Campinas. Tese de Doutorado.
- Montoro GR, Santos ML 2003. Fenologia da floração e frutificação de cinco espécies de Melastomataceae no Parque Estadual da Serra dos Pireneus, Pirenópolis, GO. 54º Congresso Nacional de Botânica, PA.
- Oliveira JBS 2007. *Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de Miconia Ruiz et Pav. (Melastomataceae) em Pernambuco*. Brasil, Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRP. Mestrado: área de concentração Taxonomia e Florística de Angiospermas.
- Rezende AR 2012. *Sistemática e conservação de Miconia seção Miconia DC. (Melastomataceae) no estado de Minas Gerais, Brasil*. Uberlândia, Universidade Federal de Uberlândia, UFU. Mestrado: Biologia Vegetal. 96pp.
- Romero R, Martins AB 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Rev Bras Bot* 25(1): 19-24.
- Santos ML 2003. *Florística e biologia reprodutiva de espécies de Melastomataceae no Parque da Serra de Caldas Novas e Parque Estadual dos Pireneus, Goiás*. Universidade de Brasília, UnB. Tese de Doutorado.
- Somavilla NS, Ribeiro DG 2011. Análise Comparativa da anatomia foliar de Melastomataceae em ambiente de vereda e cerrado *sensu stricto*. *Acta Bot Bras* 25(4): 764-775.