UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Estruturas secretoras em órgãos vegetativos de espécies de Barbatimão
(*Dimorphandra mollis* Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.)
Coville - Leguminosae)

Thais Cury de Barros

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área: Biologia Comparada.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2011

THAIS CURY DE BARROS

**Estruturas secretoras em órgãos vegetativos de espécies de Barbatimão (*Dimorphandra mollis*
Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville - Leguminosae)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área: Biologia Comparada.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Simone de Pádua Teixeira

RIBEIRÃO PRETO - SP

2011

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na Publicação

Serviço de Documentação

Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Barros, Thais Cury de

Estruturas secretoras em órgãos vegetativos de espécies de Barbatimão (*Dimorphandra mollis* Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville - Leguminosae. Ribeirão Preto, 2011. 90p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Teixeira, Simone de Pádua.

1. Estruturas secretoras 2. Leguminosae 3. Taninos. 4. Coléter. 5. Ultraestrutura.

**Estruturas secretoras em órgãos vegetativos de espécies de Barbatimão (*Dimorphandra mollis*
Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville - Leguminosae)**

Thais Cury de Barros

Ribeirão Preto,.....de 2011.

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

AGRADECIMENTOS

À Profa. Simone de Pádua Teixeira, pela receptividade com que me acolheu desde o primeiro contato, por ser uma referência de competência, comprometimento e ética científica, pela confiança depositada em mim, e acima de tudo pelas inúmeras oportunidades de crescimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, que por meio dos processos no. 2008/07392-3 (bolsa) e 2008/55434-7 (projeto temático), concedeu financiamento a este projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada da FFCLRP, pelo suporte durante a minha formação no mestrado.

À FCFRP, por conceder o espaço e a infra-estrutura utilizados durante o desenvolvimento do projeto.

Aos professores Milton Groppo Júnior, Leonardo Gobbo Neto e Elenice Mouro Varanda pela participação no exame de qualificação e enriquecimento do trabalho, e ao Prof. Emerson Ricardo Pansarin, pelas sugestões como assessor do trabalho.

Ao Prof. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira, pela concessão de equipamentos, e aos técnicos Paulo Donato Frighetto (Laboratório de Bioengenharia da FMRP/USP), Maria Dolores Seabra Ferreira e José Augusto Maulin José Augusto (Laboratório de Microscopia Eletrônica da FMRP/USP) pelo processamento dos materiais e apoio técnico.

À Dewey Litwiller (University of Saskatchewan, Canada), pela revisão dos abstracts.

Ao Edimárcio da Silva Campos, técnico do laboratório de Botânica, pelo apoio técnico, amizade e companheirismo.

À grande família que encontrei no laboratório de Botânica: Ana Paula Caetano, Camila Devicaro, Cristina Marinho, Giseli Pedersoli, João Paulo Alves, Juliana Milani, Juliana Paulino, Liana Capucho, Marina Bortolin, Priscila Cortez, Raquel Costa e Viviane Leite, por me acolherem como

parte dessa grande família, pelo apoio nos momentos importantes, pelos sorrisos nos momentos de descontração, pelo carinho e pelo grande aprendizado. Tenho orgulho de fazer parte desse time.

À Su, pela eterna amizade e pelo acolhimento, sempre que necessário.

Ao Edson, pelo amor, palavra que representa tudo aquilo que compartilhamos e sentimos.

Aos meus pais, José e Wania e meus irmãos Bruna e Fabio, pelo apoio e amor incondicionais, pela doação, pelo eterno aprendizado, por acreditarem sempre em mim.

ÍNDICE

RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
CAPÍTULO 1: IDIOBLASTOS E TRICOMAS TANINÍFEROS EM <i>DIMORPHANDRA MOLLIS</i> BENTH. E <i>STRYPHNODENDRON ADSTRINGENS</i> (MART.) COVILLE (LEGUMINOSAE).....	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
- Coleta de material	21
- Distribuição e classificação das estruturas produtoras de taninos.....	21
- Produção e acúmulo de taninos.....	21
3. RESULTADOS.....	23
- Idioblastos taniníferos.....	24
- Produção e acúmulo de taninos.....	30
<i>Dimorphandra mollis</i>	30
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	34
- Tricomas taniníferos.....	39
- Produção e acúmulo de taninos.....	39
4. DISCUSSÃO	43
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
CAPÍTULO 2: COLÉTERES EM <i>DIMORPHANDRA MOLLIS</i> BENTH. (CAESALPINIOIDEAE)	56
RESUMO	57
ABSTRACT	58
1. INTRODUÇÃO.....	59
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
Espécie estudada	63

Coleta de material	64
Caracterização morfológica.....	64
3. RESULTADOS.....	66
Distribuição.....	66
Morfologia	66
Conteúdo secretor.....	67
4. DISCUSSÃO	75
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

RESUMO

Duas espécies de Barbatimão, da família Leguminosae, foram utilizadas como modelo neste trabalho para elucidar as vias ontogenéticas de produção de taninos: *Dimorphandra mollis* Benth. (Caesalpinioideae) e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosoideae). Apesar de inseridas em grupos distantes de Leguminosae, as duas espécies são grandes produtoras de taninos, geralmente concentrados na casca, o que confere a elas uma grande procura para uso na medicina popular. Partes vegetativas de indivíduos jovens e adultos foram processadas para observações em microscopia de luz e eletrônica (varredura e transmissão). Dois tipos de estruturas secretoras são responsáveis pela produção e acúmulo de taninos: idioblastos, encontrados já em indivíduos jovens de ambas espécies; e tricomas secretores, encontrados em gemas vegetativas de indivíduos adultos de *S. adstringens*. O processo de produção de taninos nas duas espécies é semelhante, com alguma diferença nas etapas de acúmulo. Plastídios e RER parecem ser as organelas associadas à produção de taninos nessas espécies. Destaca-se ainda o relato inédito da ocorrência de coléteres de origem protodérmica em *D. mollis*. Considerando a problemática referente à classificação de estruturas secretoras, pretende-se utilizar os resultados obtidos para reflexão sobre o tema.

ABSTRACT

In this study, two species of Leguminosae, popularly known as Barbatimão, were used as a model to elucidate the ontogenetic process of tannin production: *Dimorphandra mollis* Benth. (Caesalpinioideae) and *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosoideae). Although inserted in non-related groups of Leguminosae, the two species are largely known as tannin producers, a metabolite often concentrated in the bark, which makes them highly sought after for use in folk medicine. Vegetative parts of young and adult plants were processed for observation using light and electron microscopy (scanning and transmission). Two types of secretory structures are responsible for tannin production and accumulation: idioblasts, found even in young plants of both species, and secretory trichomes, observed in vegetative buds of mature plants of *S.adstringens*. Tannin production is similar in both species, although some differences in the stages of accumulation occur. Plastids and RER organelles appear to be associated with the production of tannins in these species. This study also provides the first report of colleters in *D. mollis*, which originate from protodermal cells. Considering the controversies regarding the classification and nomenclature of secretory structures, our results can be used to help clarify some issues regarding secretory structures, especially colleters.

INTRODUÇÃO GERAL

As plantas são fonte de uma ampla variedade de metabólitos especiais (Picherky & Gang, 2000). Dentre os compostos mais conhecidos e amplamente empregados na indústria, ressalta-se os taninos, acumulados em muitos representantes de Leguminosae, a terceira maior família dentre as Angiospermas (Lewis, 2005). *Dimorphandra mollis* Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, popularmente denominadas Barbatimão (Corrêa, 1978), são muito utilizadas na medicina popular por suas propriedades cicatrizantes (Santos & Mello, 2007), atribuídas à alta concentração de taninos na casca (Santos *et al.*, 2002).

Os taninos são associados a um esforço das plantas para conter a herbivoria (Haslam, 2007). Mas, a propriedade dos taninos em complexar proteínas fez com que plantas de *D. mollis* e *S. adstringens* fossem muito visadas economicamente, sendo utilizadas pelas indústrias de calçados e farmacêutica. A grande demanda diminuiu suas populações naturais, em especial de *S. adstringens* (Borges Filho & Felfili 2003), bem como contribui para a degradação crescente de seu ambiente natural, o Cerrado que, nos últimos 35 anos, perdeu mais de 50% de sua área original (Klink & Machado, 2005).

A elucidação da natureza taninífera dos compostos produzidos por *D. mollis* e *S. adstringens* (Palazzo de Mello, 1997; Santos *et al.*, 2002), bem como a informação de que os taninos se encontram em concentração elevada em certos órgãos vegetativos (Santos *et al.*, 2002), tornam tais espécies boas candidatas a um estudo mais completo sobre as estruturas secretoras responsáveis pela produção desse composto, ainda não verificadas para essas espécies.

Ainda, é preciso considerar que há poucos estudos sobre plantas potencialmente medicinais que visem ao extrativismo sustentável (Toledo *et al.* 2003). O conhecimento sobre a localização de taninos na planta, bem como de seus mecanismos subcelulares de produção e

armazenamento, fornece subsídios para sua extração química, determinando os métodos mais adequados e menos drásticos para a espécie.

Nosso trabalho revelou a ocorrência de três tipos de estruturas secretoras: duas responsáveis pela produção e acúmulo de taninos em *D. mollis* e *S. adstringens*, a outra responsável pela produção de um conteúdo de natureza mista em *D. mollis*. É provável que essas estruturas estejam exercendo diferentes funções para a planta e, portanto, optou-se por dividir esse trabalho em dois capítulos: o primeiro intitulado “Idioblastos e tricomas taniníferos **em *Dimorphandra mollis* Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae)**” trata da biologia das estruturas secretoras responsáveis pela produção e acúmulo de taninos nessas espécies; já o segundo intitulado “Coléteres em *Dimorphandra mollis* Benth. (Caesalpinioideae)”, trata da ocorrência de apêndices epidérmicos secretores encontrados em *D. mollis* exercendo a função de coléteres, relato inédito para o gênero *Dimorphandra*..

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Borges Filho, H. C. & Felfili, J. M. 2003. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. *Revista Árvore*, 7(5):735-745.

Corrêa, M. P. 1978. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. 6. ed. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro. Vol. B 1. 590 p.

Haslam, E. 2007. Vegetable tannins – lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68: 2713–2721.

Klink, C.A. & Machado, R.B. 2005. Conservation of the brazilian Cerrado. *Conservation Biology*. 19(3): 707-713.

Lewis, G.; Schrire B.; Mackinder, B. & Lock, M. 2005. Legumes of the World. Royal Botanic Gardens, Kew.

Palazzo de Mello, J. C. 1997. Taninos de *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville – (Mimosaceae) – Barbatimão. Caderno de Farmácia, 13 (2): 105-109.

Pichersky, E. & Gang, D. R. 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. Trends in plant science perspectives, 5 (10): 439-445.

Santos, S.C.; Costa, W.F.; Ribeiro, J. P.; Guimarães, D.O.; Ferri, P.H.; Ferreira, H.D.F.;

Seraphin, J.C. 2002. Tannin composition of barbatimão species. Fitoterapia, 73: 292-299.

Santos, S. da C. & Mello, J. C. P. de. 2007. Taninos In: Simões, C. M.O.; Schenkel, E.P; Gosmann,G.; Mello, J.C.P de.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento – 6ª ed.- Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC.

Toledo, A. C. O.; Hirata, L.L.; Buffon, M. da C. M.; Miguel, M. D.; Miguel,O. G. 2003. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. Revista Lecta, Bragança Paulista, 21 (1/2): 7-13.

**CAPÍTULO 1: IDIOBLASTOS E TRICOMAS TANINÍFEROS EM *DIMORPHANDRA MOLLIS* BENTH. E
STRYPHNODENDRON ADSTRINGENS (MART.) COVILLE (LEGUMINOSAE)**

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo identificar as estruturas responsáveis pela produção e acúmulo de taninos, bem como compreender as vias ontogenéticas da produção deste metabólito em duas espécies de Barbatimão (*Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens* - Leguminosae), amplamente conhecidas como taniníferas. Para tal, porções de órgãos vegetativos de plântulas e indivíduos adultos foram fixadas e preparadas para observações em microscopias fotônica e eletrônica. A localização *in situ* de taninos foi feita pelo teste da vanilina clorídrica. As principais estruturas secretoras responsáveis pela produção e acúmulo de taninos nos órgãos vegetativos de *D. mollis* e *S. adstringens* são idioblastos, presentes desde cedo em plântulas dessas espécies. Além de ocorrerem de maneira esparsa, os idioblastos podem se agrupar, formando um tecido, como ocorre na epiderme de *Stryphnodendron adstringens*. A produção e o acúmulo de taninos são iniciados em tecidos mais externos, como a epiderme e camada subepidérmica, e no parênquima perivascular, de maneira mais esparsa. O processo de produção de taninos é semelhante para as duas espécies, com alguma diferença nas etapas de acúmulo. Plastídios e retículo endoplasmático rugoso parecem ser as organelas associadas à produção de taninos nessas espécies. Tricomas produtores de taninos também foram encontrados nas gemas vegetativas de *S. adstringens*. A localização e a fase do ciclo de vida das espécies em que os idioblastos e tricomas são formados indicam que eles estão relacionados com a defesa dos indivíduos, principalmente jovens, contra patógenos e herbívoros.

ABSTRACT

The goal of this study was to identify the structures responsible for production and accumulation of tannins, as well as understand the ontogenetic ways by which this metabolite is produced in *Dimorphandra mollis* and *Stryphnodendron adstringens*, two Leguminosae species widely known as tanniniferous plants. Portions of the vegetative organs of young and adult plants were fixed and prepared for light and electronic microscopy. Vanillin chloride was utilized to locate tannins *in situ*. The secretory structures responsible for the production and accumulation of tannins in vegetative organs of *D. mollis* and *S. adstringens* are idioblasts, which are present early in young plants of these species. The idioblasts can be grouped to form a tissue, as occurs in the epidermis of *Stryphnodendron adstringens*. The production and accumulation of tannins begin in the outer tissues, such as epidermis and subepidermal layer, and sparsely in the perivascular parenchyma. The tannin production process is similar for both species, with some differences in the stages of tannin accumulation. Plastids and rough endoplasmic reticulum appear to be associated with tannin production. Tannin-producing trichomes were also found in vegetative buds of *S. adstringens*. The location and stage of the life cycle of the species in which the idioblasts and trichomes are formed indicate that they are related to the plant's defenses against pathogens and herbivores, particularly in young plants.

1. INTRODUÇÃO

Metabólitos secundários ou especiais estão presentes em todas as angiospermas, apresentando grande diversidade estrutural (Wink, 2003). A habilidade de sintetizar tais substâncias tem sido selecionada em diferentes linhagens de plantas para funções específicas em interações ambientais (Picherky & Gang, 2000), principalmente mecanismos de defesa (herbivoria, ataques de microorganismos, vírus) e sinalização (atração de polinizadores e dispersão de sementes) (Wink, 2003).

Estes metabólitos são geralmente divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides (Bourgaud *et al.*, 2001). Os taninos são compostos fenólicos solúveis em água, com peso molecular entre 500 e 3000 Dalton, o que possibilita a formação de complexos insolúveis, em água, com proteínas, gelatinas e alcalóides (Santos & Mello, 2007). A ligação entre taninos e proteínas ocorre, provavelmente, por pontes de hidrogênio entre os grupos fenólicos dos taninos e sítios das proteínas, conferindo grande estabilidade a estas substâncias (Monteiro *et al.*, 2005). Quando em altas concentrações, compostos fenólicos, principalmente taninos, tornam frutos, folhas, sementes ou demais órgãos jovens impalatáveis aos fitófagos (Smith, 1976). Taninos também foram encontrados nos vacúolos de células motoras em pulvinos e, provavelmente, estão relacionados com a movimentação das folhas em algumas espécies de Leguminosae (Toriyama, 1967; Moyssset & Simón 1991; Machado & Rodrigues, 2004).

Muitos representantes da família Leguminosae acumulam taninos. Estes podem estar presentes na casca de caules e raízes (Roux & Mahis, 1960; Murko & Hasanovic, 1985; Rama Devi & Prasad, 1991; Ma *et al.*, 1997; Gonçalves & Lelis, 2001; Mathisen *et al.*, 2002), nas folhas (Toriyama, 1967; Marshall *et al.*, 1979; Read *et al.*, 2001; Guimarães-Beelen, 2006; Jacobson *et al.*, 2005; Oliveira & Figueiredo, 2007), no ovário e no fruto (Johansson & Walles, 1993; Avallone *et*

al, 1997; Martins & Oliveira, 2001; Colpas & Oliveira, 2002). Dentre os táxons de Leguminosae, *Dimorphandra* (subfamília Caesalpinoideae) e *Stryphnodendron* (subfamília Mimosoideae) têm sido muito estudados sob enfoques químico (Palazzo de Mello, 1997; Panegassi *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2002; Bizerril *et al.*, 2005; Oliveira & Figueiredo, 2007), ecológico (Felfili *et al.*, 1999; Hermansen *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2001; Andrade *et al.*, 2002; Borges Filho & Felfili, 2003; Barreiro *et al.*, 2005; Jacobson *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2007) e medicinal (Panizza *et al.*, 1988; Bezerra *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2002; Herzog-Soares *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2007 a; Souza *et al.*, 2007 b). Espécies destes gêneros, em especial *Dimorphandra mollis* Benth. e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville são popularmente denominadas barbatimão (Corrêa, 1978), sendo muito utilizadas na medicina popular por suas propriedades contra diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (Santos & Mello, 2007).

Stryphnodendron adstringens contém 22,6% de tanino apenas na casca, sendo considerada uma das maiores fontes natural deste composto (Primo, 1945). *D. mollis* e *S. adstringens* apresentam taninos com composição química diferente (Santos *et al.*, 2002), provavelmente, relacionadas a diferentes atividades biológicas (Santos *et al.*, 2002) e ecológicas (Guimarães-Beelen, 2006). Tais diferenças químicas devem apresentar valor taxonômico para estes grupos. Filogenias baseadas em dados moleculares, recentemente produzidas para Leguminosae, indicam que Caesalpinoideae não constitui um grupo natural e sua circunscrição não está resolvida (Lewis *et al.*, 2005). Desta forma, o estudo de caracteres estruturais, sejam morfológicos ou químicos, em especial de estruturas secretoras (Bentham, 1859; Solereder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950; Turner, 1986; Lersten & Curtis, 1993; 1994; 1995; 1996; Ascensão *et al.*, 1999; Teixeira *et al.*, 2000; Teixeira & Gabrielli, 2000) podem ser de grande ajuda para a Sistemática da família. Ainda, não constam na literatura estudos sobre a produção, em nível subcelular, de taninos para

Dimorphandra e *Stryphnodendron*, que poderia ou não refletir as variações químicas encontradas por Santos *et al.* (2002).

Os taninos podem ser acumulados nos vacúolos de células vegetais individualizadas (Salisbury & Ross, 1991), denominadas idioblastos secretores (Zobel, 1986; Vovides, 1991; Lersten & Curtis 1994, 1996), ou agrupadas em estruturas pluricelulares como os tricomas (Corsi & Bottega, 1999; Werysko-Chmielewska & Chernetskyy, 2005; Marquiefável *et al.* 2007), os canais e as cavidades secretores (Fahn, 1979). O mecanismo de produção de taninos é pouco estudado e os trabalhos nessa área são raros. Hipóteses sobre a síntese de taninos incluem a atividade de organelas como os plastídeos e complexos de Golgi. No entanto, alguns autores indicam uma estreita relação entre taninos e retículo endoplasmático, em especial, o retículo endoplasmático rugoso (Parham & Kaustinen, 1977).

A presença de taninos foi confirmada nas folhas e no caule de *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens* (Palazzo de Mello, 1997; Oliveira & Figueiredo, 2007; Gonçalves, & Lelis, 2001; Santos *et al.*, 2002; Souza *et al.* 2007), embora *S. adstringens* apresente concentrações maiores de taninos nesses órgãos comparado às de *D. mollis* (Santos *et al.*, 2002). Apesar disso, as estruturas responsáveis pela produção desse composto, bem como os mecanismos subcelulares da produção de taninos, não foram elucidados para essas espécies. A elucidação da natureza taninífera da secreção de *D. mollis* e *S. adstringens* (Palazzo de Mello, 1997; Oliveira & Figueiredo, 2007; Gonçalves, & Lelis, 2001; Santos *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2007), bem como a informação de que os taninos se encontram em concentração elevada em certos órgãos vegetativos (Santos *et al.*, 2002), tornam tais espécies boas candidatas a um estudo mais completo sobre as estruturas secretoras responsáveis pela produção desse composto.

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi localizar e caracterizar as células e tecidos responsáveis pela produção e pelo acúmulo de taninos, bem como compreender as vias

ontogenéticas da produção deste metabólito em *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

- Espécies estudadas

Neste trabalho são estudadas duas espécies: *Dimorphandra mollis* (FIG. 1A) e *Stryphnodendron adstringens* (FIG. 1C, 1D). Ramos férteis foram depositados como material testemunha no herbário da FFCLRP/USP sob os números SP Teixeira 40, TC Barros (SPFR 12640) e SP Teixeira 41, TC Barros (SPFR 12641) para *D. mollis*; SP Teixeira 42, TC Barros (SPFR 12629) e SP Teixeira 43, TC Barros (SPFR 12630) para *S. adstringens*.

Representantes de *Dimorphandra mollis* são conhecidos popularmente como faveira (o), barbatimão-de-folha-miúda ou falso-barbatimão, apresentam porte arbóreo, com 5 a 8 m de altura, copa densa, casca que se fragmenta em pedaços pequenos e irregulares, folhas bipinadas, com tricomas curtos nas duas faces, legumes carnosos e achatados, e sementes avermelhadas e numerosas. Ocorrem nos Estados do Pará, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (Lorenzi, 1998).

Stryphnodendron adstringens é uma espécie típica do cerrado brasileiro, cujos representantes apresentam porte arbóreo, casca grossa e rugosa (Lorenzi, 1998), folhas bipinadas, nectários extraflorais presentes no pecíolo, ápice dos ramos geralmente ferrugíneos, flores pentâmeras, fruto do tipo legume nucóide ou folículo, septado, sementes com endosperma abundante e não aladas (Scalon, 2007).

- Coleta de material

Primórdios foliares, folíolos completamente expandidos, caule em início de estrutura secundária e fragmentos da casca foram coletados de dois indivíduos por espécie, e imediatamente submetidos à fixação em solução de Karnovsky em tampão fosfato 0,075 M (pH 7,2-7,4) por 24 h (Karnovsky, 1965).

Além disto, sementes de ambas as espécies foram coletadas e colocadas para germinar para a obtenção de indivíduos jovens (FIG. 1B, 1E). As sementes foram germinadas no substrato vermiculita e em seguida transferidas para sacos plásticos próprios para mudas. Plantas jovens com um mês e com cinco meses foram escolhidas para o estudo, por apresentarem o início da produção de taninos e o começo do crescimento secundário, respectivamente. Porções dos órgãos vegetativos destes indivíduos jovens também foram fixadas em solução de Karnovsky em tampão fosfato 0,075 M (pH 7,2-7,4) por 24 h (Karnovsky, 1965).

- Distribuição e classificação das estruturas produtoras de taninos

A localização *in situ* de taninos e a caracterização anatômica das estruturas que os produzem foram realizadas em seções transversais dos materiais (item anterior) efetuadas à mão, submetidas à reação com Vanilina Clorídrica (Mace & Howell, 1974) e montadas em gelatina glicerizada. As ilustrações foram obtidas em um Fotomicroscópio Leica DM 4500 B acoplado a uma câmera digital Leica DFC 320 e as escalas nas mesmas condições ópticas. A terminologia para a classificação das estruturas foi baseada em Fahn (1979).

- Produção e acúmulo de taninos

Observações sobre o início da produção e do acúmulo de taninos foram realizadas nas gemas vegetativas apicais, por meio de estudos estruturais e ultra-estruturais.

As organelas provavelmente envolvidas na produção e os mecanismos subcelulares de acúmulo de taninos foram estudados por meio da ultra-estrutura do desenvolvimento das células taniníferas previamente localizadas nos estudos histológicos (item anterior).

Para tal, pequenas porções dos materiais fixados foram desidratadas gradualmente em série etanólica, incluídas em Araldite e seccionadas com auxílio de um ultramicrotomo Leica ultracut S Reichert para a obtenção de cortes semifinos (0,5 μm) e ultra-finos (60 a 70 nm). Os cortes semifinos foram corados com Azul de Toluidina 0,05% (O'Brien *et al.* 1964) e observados em microscopia fotônica. Os cortes ultrafinos foram coletados em grade de malha fina, contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 2% por 15 min (Watson 1958) e citrato de chumbo por 15 min (Reynolds 1963).

Figura 1: A-B. *Dimorphandra mollis*. A. Aparência da árvore. B. Indivíduos obtidos por germinação de sementes. C-E. *Stryphnodendron adstringens*. C. Aparência da árvore. D. Injúrias sofridas pela retirada da casca para obtenção de taninos. E. Indivíduos obtidos por germinação de sementes.

3. RESULTADOS

As principais estruturas responsáveis pela produção e acúmulo de taninos em órgãos vegetativos de *D. mollis* e *S. adstringens* são idioblastos secretores, formados durante o primeiro mês de vida dos indivíduos.

Além dos idioblastos, *S. adstringens* também apresenta uma grande quantidade de tricomas secretores taniníferos, localizados nas gemas vegetativas dos indivíduos adultos. Tricomas secretores não foram encontrados nas gemas vegetativas de *D. mollis*.

- *Idioblastos taniníferos*

Nas gemas vegetativas de indivíduos adultos de ambas as espécies foram encontrados idioblastos taniníferos na protoderme e no meristema fundamental distribuídos de maneira semelhante (Figuras 2A e 2B, detalhe). Já a distribuição dos idioblastos taniníferos nos órgãos vegetativos de indivíduos jovens não é similar para as espécies e é descrita a seguir.

Dimorphandra mollis: indivíduos com um mês apresentam idioblastos taniníferos na epiderme e na camada subepidérmica do epicótilo (Figuras 3C, 3D). A raiz (Figuras 3A, 3B) e os folíolos (Figura 5H) não apresentam idioblastos taniníferos.

Indivíduos com cinco meses apresentam poucos idioblastos no córtex da raiz em estrutura primária (Figura 3E), e entre as células parenquimáticas do xilema secundário da raiz em estrutura secundária (Figura 3F). O caule, no entanto, apresenta numerosos idioblastos taniníferos, distribuídos principalmente pelo súber na periderme e pelo parênquima cortical (Figura 3G). Alguns idioblastos também são visualizados entremeados às células parenquimáticas do xilema secundário (Figura 3H).

Figura 2: Seções transversais (ML) das gemas vegetativas de indivíduos adultos de *Dimorphandra mollis* em A e *Stryphnodendron adstringens* em B, indicando as regiões de formação de idioblastos taniníferos. Protoderme e meristema fundamental em detalhe (janelas).

Stryphnodendron adstringens: Indivíduos com um mês apresentam idioblastos taniníferos no córtex e na epiderme da raiz em estrutura primária (Figuras 4A e 4B); no córtex, na epiderme e no parênquima cortical da raiz em início de estrutura secundária (Figuras 4C e 4D); e na epiderme, no córtex e na medula do epicótilo (Figuras 4E e 4F). Os idioblastos são mais numerosos na epiderme.

Indivíduos com cinco meses apresentam idioblastos taniníferos na epiderme, no córtex e no periciclo da raiz em estrutura primária (Figuras 5A e 5B); no súber, no parênquima cortical e no parênquima do xilema secundário da raiz em estrutura secundária (Figuras 5C e 5D); no súber, no parênquima cortical, nos parênquimas do floema e xilemas secundários e na medula do caule em estrutura secundária (Figuras 5E e 5F); na epiderme, no parênquima paliçádico e no parênquima da face adaxial da nervura central dos folíolos (Figura 5H). Os idioblastos são mais numerosos no caule.

Figura 3: Seções transversais (ML) de indivíduos jovens de *Dimorphandra mollis*. A – D. Indivíduos jovens com um mês. A. Raiz em estrutura primária. B. Raiz em início de estrutura secundária. C. Epicótilo. D. Detalhe da epiderme iniciando produção de taninos (seta). E – H. Indivíduos jovens com cinco meses. E. Raiz em estrutura primária com idioblastos taniníferos no córtex (seta). F. Raiz em estrutura secundária. G. Caule em início de estrutura secundária. H. Detalhe dos idioblastos taniníferos no caule em início de estrutura secundária. Escalas: A – C, F-G (100µm); H (50µm); D-E (30µm).

Figura 4: Seções transversais (ML) de indivíduos de um mês de *Stryphnodendron adstringens*. A. Raiz em estrutura primária. B. Detalhe - acúmulo de taninos nos idioblastos da raiz em estrutura primária (seta). C. Raiz em início de estrutura secundária. D. Detalhe dos idioblastos e da epiderme da raiz em início de estrutura secundária. E. Epicótilo. F. Detalhe dos idioblastos do epicótilo. Escalas: A,C,E (100µm); D (5µm); B,F (30µm).

Figura 5. A – F, H. Seções transversais (ML) de indivíduos de cinco meses de *Stryphnodendron adstringens*. A. Raiz em estrutura primária. B. Detalhe dos idioblastos do periciclo. C. Raiz em estrutura secundária. D. Detalhe dos idioblastos nas células parenquimáticas do xilema secundário. E. Caule em início de estrutura secundária. F. Detalhe dos idioblastos no caule em início de estrutura secundária. G. Seção transversal do folíolo de *D. mollis*. H. Seção transversal do folíolo de *S. adstringens*. Escalas: B,C (100µm); A,E,G,H (50µm); D,F (30µm).

- Produção e acúmulo de taninos

A morfologia das células meristemáticas que se diferenciarão em idioblastos taniníferos e o processo de acúmulo de taninos (formação de pequenos vacúolos) nas etapas iniciais são semelhantes em *D. mollis* e *S. adstringens*, mas as etapas posteriores apresentam algumas diferenças.

Dimorphandra mollis: nos estádios iniciais, as células meristemáticas (Figura 6A, 6B, fase I) apresentam poucos e diminutos vacúolos (Figura 6B, fase II; Figura 7A), tamanho reduzido, paredes pecto-celulósicas delgadas, citoplasma denso, núcleo central e arredondado, e nucléolo grande e conspicuo (Figura 7 A). Em estágio posterior (Figura 6B, fase III; Figura 7B), os vacúolos se tornam maiores e mais numerosos, o núcleo permanece em posição central, mas assume forma lobada; o nucléolo apresenta-se grande e conspicuo, e já se observam plastídeos no citoplasma (Figura 7 B). Os pequenos vacúolos formados nos estádios iniciais coalescem, formando um (raro dois) vacúolo grande que ocupa grande parte da célula (Figura 6B, fase I a IV).

Após a formação de um grande vacúolo, inicia-se o acúmulo de taninos (Figura 6B, fase IV; 7C), que coincide com o aumento em volume da célula e sua alteração para a forma alongada (Figura 7C). O núcleo é lobado, com nucléolo conspicuo. Há aumento na população de plastídeos (Figura 7 C), caracterizados por grande volume e tilacóides bem visíveis; alguns apresentam inclusões (Figura 8 C), provavelmente grãos de amido, ou também podem englobar partes do citoplasma (Figura 8 D). Outras organelas frequentemente encontradas neste estágio são retículo endoplasmático rugoso, localizado no espaço citoplasmático entre a parede celular e os vacúolos com aglomerados de taninos (Figura 7 D e 7 E); mitocôndrias, ocorrendo próximas ao retículo endoplasmático rugoso ou aos plastídeos (Figura 8 A e 8 B), além de dictiossomos com cisternas dilatadas (Figura 8 F). Muitos plasmodesmos também são observados (Figura 8 E). Os taninos são acumulados gradualmente da periferia para o centro nos vacúolos (Detalhe figuras 7 C e 7 D), até os preencherem quase que completamente (Figura 6B, fase V a VII).

Figura 6: Seção transversal (ML) da gema vegetativa de *Dimorphandra mollis*. A. Visão geral da gema apical mostrando região ampliada em B (retângulo). B. Detalhe da formação dos idioblastos no meristema. I – VII: Formação de pequenos vacúolos que coalescem culminando em um grande vacúolo, seguido de deposição de taninos em seu interior. Escalas: A (250 µm); B (20 µm).

Figura 7: Seções ultrafinas (MET) dos idioblastos de *Dimorphandra mollis* em várias fases de acúmulo de taninos. A. Célula meristemática em etapa inicial exibindo núcleo central arredondado e vacúolos pequenos. B. Célula meristemática em etapa posterior exibindo núcleo lobado, vários vacúolos pequenos e plastídeos. C. Célula com um vacúolo grande onde se inicia o acúmulo de taninos (Ta, ver detalhe na janela). D. Tanino acumulado na periferia do vacúolo com retículo endoplasmático rugoso (RER) próximo. E. Detalhe do retículo endoplasmático rugoso (RER) localizado entre o vacúolo e a parede celular. N (núcleo); Nu (nucléolo); P (plastídio); PC (parede celular); Va (vacúolo).

Figura 8: Seções ultrafinas (MET) dos idioblastos taniníferos (Figura 6B, fase IV) de *Dimorphandra mollis* em detalhes. A. Detalhe da mitocôndria (Mi) próxima ao RER. B. Arranjo das organelas, Mi próximas aos plastídios (P). C - D. Detalhe dos plastídios; com inclusão (Pi), morfologia típica (P) e englobando parte do citoplasma (Pct). E. Detalhe dos plasmodesmos (Pl). F. Detalhe do Complexo de Golgi (G) com cisternas dilatadas.

Stryphnodendron adstringens: as células do meristema (Figura 9A; 9B, fase I) apresentam tamanho reduzido, poucos e diminutos vacúolos (Figura 9B, fase I e II), núcleo central e arredondado, com nucléolo conspícuo (Figura 10 A).

O início do acúmulo de taninos, evidenciado pela presença de pequenos aglomerados eletrondensos (Figura 9B, fase III; 10 B), ocorre já nos pequenos vacúolos (Figura 10 B). As células aumentam em volume, contendo agora vacúolos numerosos repletos de taninos (Figura 9 B, fase IV; Figura 10 C). A população de plastídios, caracterizados por tamanho grande e tilacóides bem evidentes (Figura 10 C), também aumenta consideravelmente, ocorrendo próximos às mitocôndrias (Figura 10 C). Retículo endoplasmático rugoso ocupa grande parte do citoplasma celular, em especial as regiões parietais (Figura 11 B).

Os pequenos vacúolos taniníferos formados anteriormente coalescem formando um grande vacúolo repleto de taninos (Figura 9 B, fase V e VI). O final do processo resulta em uma célula muito volumosa, com um vacúolo grande, que ocupa quase todo o volume celular, e repleto de taninos (Figura 9 B, fase IV; Figura 11 C). Os plastídios, que permanecem até o final do processo, localizam-se entre a parede celular e o grande vacúolo taninífero (Figura 11 C); podem conter inclusões, provavelmente grãos de amido (Figura 11 D). Não há alteração na forma dos plastídeos no decorrer do processo de acúmulo de taninos (Figuras 10 C, 11A, 11C, 11D). Os taninos apresentam aspecto sólido, o que parece distender a membrana plasmática e a parede celular (Figura 11 C).

A forma das células meristemáticas que se diferenciam em idioblastos taniníferos não se altera em *D. mollis* (Figura 6 B, fase I a VI) e altera de isodiamétrica para lobada em *S. adstringens* (Figura 9 B, fase I a VI).

Células em diferentes estádios de produção e acumulação de taninos foram observadas (Figura 6 B e 9 B) em ambas as espécies, indicando uma assincronia no processo.

As células epidérmicas e subepidérmicas do epicótilo das duas espécies exibem processo de formação de taninos semelhante ao encontrado nas gemas de *S. adstringens*, com a formação de pequenos vacúolos já repletos de taninos. Porém, não há alteração na forma das células epidérmicas.

Figura 9: Seção transversal (ML) da gema vegetativa de *Stryphnodendron adstringens*. A. Visão geral da gema apical mostrando região ampliada em B (retângulo). B. Detalhe da formação dos idioblastos no meristema. I – VI: Formação de pequenos vacúolos com conteúdo taninífero que coalescem formando um grande vacúolo com taninos. Escalas: A (250 μ m); B (20 μ m).

Figura 10: Seções ultrafinas (MET) dos idioblastos de *Stryphnodendron adstringens* em várias fases de acúmulo de taninos. A. Célula meristemática em etapa inicial exibindo núcleo central arredondado e vacúolos pequenos. B. Célula meristemática em etapa posterior exibindo vários vacúolos pequenos (Va) com pequenos aglomerados de taninos. C. Célula com vacúolos contendo aglomerados grandes de taninos (Ta) e numerosos plastídios (P). Mitocôndria (Mi); Núcleo (N); Nucleólo (Nu).

Figura 11: Seções ultrafinas (MET) dos idioblastos de *Stryphnodendron adstringens* durante o acúmulo de taninos (Figura 9 b, fase IV a VI). A. Detalhe do plastídio (P) no início da produção de taninos. B. Detalhe do retículo endoplasmático rugoso (RER). C. Vacúolo repleto de taninos (Ta) com plastídios na região parietal da célula. Note o aspecto rígido do tanino no interior do vacúolo. D. Detalhe do plastídio com inclusões (Pi). E. Detalhe das mitocôndrias (Mi) associadas ao retículo endoplasmático rugoso. Parede celular (PC).

- *Tricomas taniníferos*

Tricomas secretores revestem toda a gema vegetativa de *Stryphnodendron adstringens*, principalmente na região oposta à dos folíolos em desenvolvimento (Figuras 12 A).

São originados de uma célula protodérmica que, por meio de sucessivas divisões periclinais, origina uma estrutura alongada e unisseriada (Figura 12 C, fases I, II e III). As células da região apical do tricoma, então, sofrem divisões anticlinais, formando a cabeça multicelular (Figura 12 C, fases III e IV). O resultado é uma estrutura formada por um pedúnculo e uma cabeça (Figuras 12 D a F). O pedúnculo é unisseriado, com número variável de células secretoras com paredes delgadas, destituídas de cutina ou suberina (Figuras 13 A, B), sendo que as paredes periclinais apresentam plamodesmos (Figuras 13 C, D); a cabeça é pluricelular esférica, constituída de células secretoras (Figuras 12 B, 12 D a F) com cutícula fina e paredes delgadas (Figuras 12 E, 13 A).

- *Produção e acúmulo de taninos*

O acúmulo de taninos em pequenos vacúolos inicia-se já no tricoma em início de desenvolvimento (Figura 12 C, fases I e II). As células da cabeça e do pedúnculo, neste período, exibem núcleo central e arredondado com nucléolo evidente (Figura 12 C, fases I e II). Posteriormente, os vacúolos pequenos coalescem formando dois grandes vacúolos, um repleto e outro sem taninos, localizados um em cada lado do núcleo central (Figuras 13 A a C). Plastídeos grandes (Figura 13 C), próximos aos vacúolos, e mitocôndrias arredondadas (Figura 13 D) são observados no citoplasma. Os estádios finais são

caracterizados pela união dos dois vacúolos grandes, formando um vacúolo repleto de taninos, que ocupa quase todo o volume celular (Figuras 12 E a F; 13 B, F). Plastídeos são observados na periferia da célula, próximo ao vacúolo (Figura 13 F).

No pedúnculo, as células apicais são mais repletas que as basais e há alternância quanto ao acúmulo de taninos no vacúolo: uma célula é repleta de taninos enquanto a adjacente não acumula este metabólito (Figuras 13 A, B). Na cabeça, tais diferenças não são observadas, sendo que todas as células são repletas de taninos (Figuras 13 A, B).

As células secretoras do tricoma e da epiderme apresentam muitas semelhanças morfológicas, em especial, em relação à população de organelas (Figura 13 E).

Figura 12: Tricomas taniníferos de *Stryphnodendron adstringens*. A. Visão geral da distribuição dos tricomas na gema vegetativa (MEV). B. Detalhe do tricoma (MEV). C. Ontogenia do tricoma secretor; fase I: célula protodérmica sofre primeira divisão periclinal; fase II e III: sucessivas divisões periclinais dão origem a uma estrutura alongada; fase IV: formação da cabeça multicelular por divisões anticlinais (ML). D – F. Diferentes visões do tricoma secretor: lateral, frontal e lateral, respectivamente (ML).

Figura 13: Seções ultrafinas (MET) do tricoma de *Stryphnodendron adstringens* durante o processo de acúmulo de taninos. A-B. Aspectos gerais dos tricomas (Tri 1 e Tri 2), mostrando as células com núcleo central e dois vacúolos (Va) laterais. Note que as células do pedúnculo se alternam quanto ao acúmulo de taninos. C-D. Detalhes de uma célula secretora do pedúnculo, mostrando núcleo central (N) com nucléolo (Nu) evidente, dois vacúolos laterais (Va), sendo um repleto de taninos (Ta) em C; mitocôndrias (Mi) e plasmodesmos (PI) na parede periclinal são vistos em D. E. Visão geral das células epidérmicas indicando semelhança com as células do tricoma secretor; em detalhe um plastídio (P) (janela no canto superior direito). F. Detalhe de uma célula da cabeça do tricoma, mostrando vacúolos repletos de taninos (Ta) e um plastídio. Epiderme (Epi); parede celular (PC).

4. DISCUSSÃO

Dimorphandra mollis e *Stryphnodendron adstringens*, embora muito conhecidas pela alta produção de taninos (Primo, 1945; Santos *et al.*, 2002), não exibem a mesma distribuição e concentração deste metabólito pelo corpo das plantas e, mesmo, os mecanismos subcelulares que culminam em sua produção apresentam diferenças. Tal fato deve refletir o distanciamento filogenético entre as duas espécies, inseridas em subfamílias diferentes (Lewis *et al.*, 2005). Além disto, *D. mollis* e *S. adstringens* produzem taninos condensados (Santos *et al.*, 2002) com composição química diferente. As diferenças encontradas na estrutura química dos taninos devem estar relacionada às diferenças ultra-estruturais encontradas nas células secretoras de ambas espécies, durante a produção de taninos.

A ocorrência de idioblastos taniníferos, como em *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens*, não é rara em plantas, com registros em diversas famílias como Crassulaceae, Ericaceae, Myrtaceae, Rosaceae e Vitaceae (Evert, 2006). Leguminosae, em especial, é uma família muito conhecida pela presença de taninos (Evert, 2006). No entanto, poucos trabalhos na família utilizam testes de histolocalização específicos para taninos, descrevendo-os como compostos fenólicos, mas inferindo funções associadas aos taninos. Registros de idioblastos fenólicos foram encontrados no limbo eofilar de *Bauhinia forficata*, *Hymenaea stilbocarpa*, *Peltophorum dubium*, *Pterogyne nitens* e *Senna multijuga* (Moreira-Coneglian & Oliveira, 2006); no pulvino de *Pterodon pubescens* (Rodrigues & Machado, 2004) e de *Mimosa pudica* (Toriyama, 1967),

e na folha e no caule de espécies de *Indigofera* (Marquiefável et al. 2007). Já os relatos de tricomas taniníferos são raros para a família, devido em grande parte, ao fato destes tricomas serem citados apenas na composição do “indumento” do meristema apical, sem estudos detalhados de seu conteúdo.

A diferença verificada na distribuição de idioblastos taniníferos em *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens*, principalmente em indivíduos muito jovens se deve ao desenvolvimento mais tardio dos idioblastos em *D. mollis*. Essa diferença pode estar relacionada ao tamanho dos indivíduos, uma vez que indivíduos jovens de *D. mollis* são mais robustos, e podem requerer mais energia para a diferenciação dos seus tecidos, prorrogando a produção de taninos para estádios ontogenéticos mais tardios. Considerando os órgãos vegetativos, os idioblastos são mais numerosos no caule de indivíduos de *S. adstringens* que de *D. mollis*, o que corrobora a informação de Santos et al. (2002) em que *S. adstringens* possui maior concentração de taninos em órgãos vegetativos quando comparado à de *D. mollis*. Os tricomas secretores encontrados nas gemas vegetativas de *S. adstringens* são repletos de taninos, o que parecem refletir a predisposição da produção deste composto por esta espécie (Palazzo de Mello, 1997; Oliveira & Figueiredo, 2007; Gonçalves, & Lelis, 2001; Santos et al, 2002; Souza et al 2007).

Os taninos são associados à proteção contra patógenos, herbivoria e raios UV (Beckman, 2000; Evert, 2006; Haslam, 2007), o que parece ser o caso de *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens*. Nessas espécies, as células secretoras foram encontradas isoladamente ou agrupadas, preferencialmente na epiderme ou camadas subepidérmicas dos órgãos vegetativos, tecidos mais externos no corpo vegetal. Tais

tecidos são os primeiros a entrar em contato com os possíveis agentes danificadores, como os herbívoros e os raios UV, evitando que tecidos mais internos sejam afetados. Já os idioblastos encontrados na medula da raiz e do epicótilo podem estar associados à proteção do sistema vascular contra patógenos, já que o xilema constitui um veículo para entrada de patógenos no corpo da planta (Bekman, 2000). A ocorrência de idioblastos de conteúdo fenólico ao redor do câmbio vascular funcionaria como um dispositivo de sinalização, despertando o mecanismo para produção de mais taninos caso algum patógeno transponha as células do xilema, evitando a contaminação de outros tecidos no corpo vegetal (Bekman, 2000).

Em Leguminosae a presença de taninos tem sido associada a um esforço da planta para conter a herbivoria (Fahn, 1979; Evert, 2006; Haslam, 2007). No entanto, relatos de outras funções interessantes foram feitos para *Pterodon pubescens* (Machado & Rodrigues, 2004) e *Mimosa pudica* (Toriyama, 1967), nos quais os taninos acumulados nos vacúolos das células motoras dos pulvinos parecem ter um papel importante na regulação iônica durante o processo de movimentação.

Nossos dados indicam que há uma relação entre a produção de taninos e o processo de vacuolização das células, tanto nos idioblastos de *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens* quanto nos tricomas de *S. adstringens*. De acordo com Parham & Kaustinen (1977) e Evert (2006), é provável que os pequenos vacúolos com taninos descritos para *D. mollis* e *S. adstringens* sejam produzidos no retículo endoplasmático rugoso; ocorreria, então, fusão com o tonoplasto e liberação do conteúdo taninífero no interior do vacúolo (Mueller & Beckman, 1974; Parham & Kaustinen, 1977;

Evert, 2006). Parece também haver relação entre os plastídeos e a produção de compostos fenólicos (Wardrop & Cronshaw, 1962), mas não há registro na literatura de plastídeos com morfologia atípica e que permanecem até o final do processo como relatado para *D. mollis* e *S. adstringens*. Os taninos são acumulados em vacúolos, onde parecem ser estocado da periferia para em direção ao centro do vacúolo, característica semelhante foi encontrada em células fenólicas da raiz de banana (*Musa accuminata* L. cv. “Valery”) (Mueller & Beckman, 1974). Neste mesmo trabalho, os dictiossomos foram encontrados com frequência, organela somente observada para as células de *D. mollis*.

Estudos detalhados de idioblastos não são comuns na literatura, dada a dificuldade de localização nos tecidos, por se tratarem de células isoladas. Essa falta de informações, quanto à caracterização e à determinação da natureza do conteúdo, prejudica especialmente os estudos sobre ontogenia deste tipo de célula e seus mecanismos de produção e acúmulo de substâncias. Assim, este trabalho é pioneiro no estudo do mecanismo de produção e acúmulo de taninos em idioblastos.

Já tricomas secretores são objetos mais frequentes de estudos, principalmente com relação à ontogenia. Segundo Beckman *et al.*, 1972, os tricomas são uma ótima ferramenta para o estudo da síntese e estocagem de substâncias fenólicas. Muitas espécies possuem tricomas que acumulam substâncias fenólicas, geralmente na cabeça dos tricomas (Beckman *et al.*, 1972). Mas apesar da grande ocorrência de taninos em Leguminosae, não foram encontradas referências sobre a ontogenia de tricomas inteiramente taniníferos, onde todas as células do tricoma – pedúnculo e cabeça – produzem e estocam taninos, sendo esse estudo pioneiro também neste sentido.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, C. M. S.; Valentim, J. F.; Carneiro, J. C. 2002.** Árvores de Baginha (*Stryphnodendron guianense* (Aubl.) Benth.) em Ecossistemas de Pastagens Cultivadas na Amazônia. Revista Brasileira de Zootecnia, 31(2): 574-582.
- Ascensão L., Mota L. & Castro M. M. 1999.** Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. Annals of Botany, 84: 437-447.
- Avallone, R.; Plessi, M.; Baraldi, M. ; Monzani, A. 1997.** Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, fat, carbohydrates, and tannins. Journal of food composition and analysis, 10(2):166-172.
- Barreiro, A. P.; Delachiave, M. E. A.; Souza, F.S. 2005.** Efeito alelopático de extratos de parte aérea de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] na germinação e desenvolvimento da plântula de pepino. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 8(1): 4-8.
- Beckman, C. H. 2000.** Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? Physiological and Molecular Plant Pathology, 57: 101-110.
- Beckman, C. H.; Mueller, W. C.; McHardy, W.E. 1972.** The localization of stored phenols in plant hairs. Physiological Plant Pathology, 2: 69-74.
- Bentham G. 1859.** Leguminosae 1. In Flora Brasiliensis (CF von Martius, S. Endlicher & I Urban, eds.). Frid. Fleischer. Monachii, Lipsiae, v. 15.

- Bezerra, J. C. B.; Silva, I. A.; Ferreira, H. D.; Ferri, P. H.; and Santos, S. C. 2002.** Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapia*, 73 (5):428-430.
- Bizerril, M. X. A; Rodrigues, F.H.; Hass, A. 2005.** Fruit consumption and seed dispersal of *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae) by the lowland tapir in the cerrado of central Brazil. *Brazilian Journal Biology*, 65(3): 407-413.
- Borges Filho, H. C. & Felfili, J. M. 2003.** Avaliação dos níveis de extrativismo da casca do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. *Revista Árvore*, 7(5):735-745.
- Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi S.; Gontier E. 2001.** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161:839–851.
- Colpas, F. T. & Oliveira, D. M. T. O. 2002.** Structure and ontogeny of *Swartzia langsdorffii* (Leguminosae) pericarp. *Nordic Journal of Botany*, 22(3):313-323.
- Corrêa, M. P. 1978.** Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. 6. ed. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro. Vol. B 1. 590 p.
- Corsi, G. & Bottega, S. 1999.** Glandular hairs of *Salvia officinalis*: New data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany*, 84: 657 - 664.
- Costa, T. E.M. M.; Dias, A. P. M.; Capriles, P. V. S. Z.; Oliveira, M.B.N.; Amorim, E.L.C.; Lima, C. S. A.; Bernardo-Filho, M. 2002.** Effect of barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] infusion on the labling of blood elements with technetium-99m. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 12, suplemento: 07 – 09.

- Evert, R. F. 2006.** Esau's Plant Anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function, and development. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Fahn A. 1979.** Secretory Tissues in Plants. Academic Press, New York
- Felfili, J. M.; Silva Junior, M. C. da.; Dias, B. J. 1999.** Estudo fenológico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville no cerrado *sensu stricto* da Fazenda Água Limpa no Distrito Federal, Brasil. Revista Brasileira de Botânica, 22(1): 83 - 90.
- Ferreira, R. A.; Botelho, S. A.; Davide, A. C.; Malava, M. M. 2001.** Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. - faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). Revista Brasileira de Botânica, 24(3): 303-309.
- Gonçalves, C. A. & Lelis, R. C. C. 2001.** Teores de taninos da casca e da madeira de cinco leguminosas arbóreas. Floresta e Ambiente, 8(1): 167 – 173.
- Guimarães-Beelen, P. M.; Berchielli, T.T.; Buddington, R.; Beelen, R. 2006.** Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1 Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, 58(5): 910 – 917.
- Haslam, E. 2007.** Vegetable tannins – lessons of a phytochemical lifetime. Phytochemistry, 68: 2713–2721.
- Hermansen, L. A.; Duryea, M.L.; West, S.H.; White, T. L.; Malavasi, M.M. 2000.** Pretreatments to overcome seed coat dormancy in *Dimorphandra mollis*. Seed science and technology, 28 (30): 581-595.
- Herzog-Soares, J. D'A.; Alves, R. K.; Isac, E.; Bezerra, J. C. B.; Gomes, M. H.; Santos, S. C.; Ferri, P.H. 2002.** Atividade tripanocida *in vivo* de *Stryphnodendron adstringens*

(barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliensis* (pequi). Rev. Bras. Farmacogn., 12, supl.: 02-04.

Jacobson, T. K. B.; Garcia, J.; Santos, S. da C.; Duarte, J. B.; Farias, J. G. e Kliemann H. J.

2005. Influência de fatores edáficos na produção de fenóis totais de duas espécies de barbatimão (*Stryphnodendron* sp.). Pesquisa Agropecuária Tropical, 35 (3): 163-169.

Johansson, M. & Walles, B. 1993. Functional anatomy of the ovule in broad bean (*Vicia faba* L.) Histogenesis prior to and after pollination. Int. J. Plant Sci., 154 (1) : 80-89.

Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology, 27: 137A-138A.

Lersten, N. R. & Curtis, J. D. 1993. Subepidermal idioblasts in leaflets of *Caesalpinia pulcherrima* and *Parkinsonia aculeata* (Leguminosae, Caesalpinoideae). – Bulletin of the Torrey Botanical Club, 120: 319-326.

Lersten, N. R. & Curtis, J. D. 1994. Leaf anatomy in *Caesalpinia* and *Hoffmannseggia* (Leguminosae, Caesalpinoideae) with emphasis on secretory structures. Plant Systematics and Evolution, 192: 231-255.

Lersten, N. R. & Curtis, J. D. 1995. Two foliar idioblasts of taxonomic significance in *Cercidium* and *Parkinsonia* (Leguminosae, Caesalpinoideae). American Journal of Botany, 82: 565-570.

Lersten, N. R. & Curtis, J. D. 1996. Survey of leaf anatomy, especially secretory structures of the tribe Caesalpinieae (Leguminosae, Caesalpinoideae). Plant Systematics and Evolution, 200: 21-39.

- Lewis, G.; Schrire B.; Mackinder, B. & Lock, M. 2005.** Legumes of the World. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Lorenzi, H. 1998.** Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa/SP: Ed. Plantarum.
- Ma, Y. T.; Hsiao, H. C.; Chen H. F.; Hsu, F. L. 1997.** Tannins from *Albizia*. Phytochemistry, 46 (8): 1451-1452.
- Mace M. E., Howell C. R. 1974.** Histochemistry and identification of condensed tannin precursors in roots of cotton seedlings. Canadian Journal of Botany 52: 2423-2426.
- Machado, S. R. & Rodrigues, T.M. 2004.** Anatomia e ultra-estrutura do pulvino primário de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae – Faboideae) Revista Brasileira de Botânica, 27(1): 135-147.
- Marquiefável, F.S.; Canavaci, G.M.C. & Teixeira, S. P. 2007.** Idioblastos secretores em espécies brasileiras de *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae). Revista Brasileira de Biociências, 5: 354-356.
- Marshall, D. R.; Broue', P.; Mundg, J. 1979.** Tannins in pasture legumes. Australian journal of experimental agriculture and animal husbandry, 19: 192-197.
- Martins, M. A. G. & Oliveira, D.M.T. 2001.** Morfo-anatomia e ontogênese do fruto e da semente de *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (Fabaceae: Faboideae). Revista Brasileira de Botânica, 24(1): 109-121.
- Mathisen, E.; Diallo, D.; Andersen, O. M.; and Malterud, K.E. 2002.** Antioxidants from the Bark of *Burkea africana*, an African Medicinal Plant. Phytotherapy Research, 16: 148–153 .

- Monteiro, J. M; Albuquerque, U. P. de; Araújo, E. de L.; Amorim, E. L. C. de. 2005.** Tannis: from chemistry to ecology. *Química Nova*, 28 (5): 892-896.
- Moreira-Coneglian, M. & Oliveira, D. M. T. O. 2006.** Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 29 (2): 193-207.
- Moyssset, L & Simón, E.. 1991.** Secondary pulvinus of *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae): structural and ultrastructural features. *American Journal of Botany*, 78: 1467-1486.
- Mueller, W. C. & Beckman, C. H. 1974.** Ultrastructure of the phenol-storing cells in the roots of banana. *Physiological Plant Pathology*, 4 : 187-190.
- Murko, D.; Hasanovic, J. 1985.** Investigation of tannin materials in leaves, fruits and bark of Judas tree (*Cercis siliquastrum* L.). *Plant physiology and biochemistry*, 4-6: 125-129.
- O'Brien, T. P., Feder, N. & McCully, M. E., 1964.** Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. *Protoplasma*, 59 : 368-373.
- Oliveira, A. L. S.; Elias, S. R. de M. e Figueiredo, A. D. L. 2007.** Anatomia foliar em plantas adultas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosaceae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5(supl.1): 321-323.
- Oliveira, A. L. S. & Figueiredo, A. D. L. 2007.** Prospecção Fitoquímica das Folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae) *Revista Brasileira de Biociências*, 5(supl.2): 384-386.

- Palazzo de Mello, J. C. 1997.** Taninos de *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville – (Mimosaceae) – Barbatimão. Caderno de Farmácia, 13 (2): 105-109.
- Panegassi, V.R.; Serra, G.E.; Buckeridge, M.S. 2000.** Potencial Tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. Ciência e Tecnologia de Alimentos., 20 (3).
- Panizza, S.; Rocha, A. B.; Gecchi, R.; Souza e Silva, R. A. P. 1988.** *Stryphnodendron barbardetiman* (Vellozo) Martius: Tannin content and cicatrisant properties of its bark. Revista de Ciências Farmacêuticas 10: 101-106.
- Parham, R. A and Kaustinen, H. M. 1977.** On the Site of Tannin Synthesis in Plant Cells Botanical Gazette, 138 (4): 465-467.
- Pichersky, E. & Gang, D. R. 2000.** Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. Trends in plant science perspectives, 5 (10): 439-445.
- Primo, B.L. 1945.** Riqueza tanífera de alguns produtos vegetais brasileiros. An. Associação Química do Brasil. 4(2): 117-120.
- Rama Devi, S. & Prasad, M. N. V. 1991.** Tannins and related polyphenols from ten common *Acacia* species of Índia. Bioresource technology , 36 (2): 189-192.
- Readel, K.; Seigler, D.; Hwang, U. O.; Keesy, J.; Seilheimer, S. 2001.** Tannins from mimosoid legumes of Texas and Mexico. Economic botany, 55 (2): 212-222.
- Reynolds, E.S. 1963.** The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electronmicroscopy. Journal of Cell Biology, 17: 208-213.

- Salisbury, F. B. & Ross, C. W. 1991.** Plant physiology. 4.ed. Belmont, Wadsworth Publishing Company, 1991. 682p.
- Santos, S.C.; Costa, W.F.; Ribeiro, J. P.; Guimarães, D.O.; Ferri, P.H.; Ferreira, H.D.F.; Seraphin, J.C. 2002.** Tannin composition of barbatimão species. *Fitoterapia*, 73: 292-299.
- Santos, S. da C. & Mello, J. C. P. de. 2007.** Taninos In: Simões, C. M.O.; Schenkel, E.P; Gosmann,G.; Mello, J.C.P de.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento – 6ª ed.-* Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC.
- Scalon, V. R. 2007.** Revisão taxonômica do gênero *Stryphnodendron* Mart. (Leguminosae-Mimosoideae). Tese (Doutorado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica, 264 p.
- Smith, P. M. 1976.** The Chemotaxonomy of Plants, Edward Arnold (Publishers) Limited; England.
- Solereder, H. 1908.** Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press.
- Souza, T. M.; Moreira, R. R.D.; Pietro, R. C.L.R.; Isaac, V. L.B. 2007 a.** Antiseptic activity evaluation of the dry extract from *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville and cosmetic preparation. *Revista. Brasileira de Farmacognosia*, 17 (1): 71-75.
- Souza, T.M.; Severi, J.A.; Silva, V.Y.A.; Santos, E.; Pietro, R.C.L.R. 2007 b.** Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 28 (2): 221-226.

- Teixeira S. P., Castro M. M. & Tozzi A. M. G. A. 2000.** Secretory cavities and pellucid dots in leaflets of *Lonchocarpus* (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). *Plant Systematics and Evolution*, 221: 61-68.
- Teixeira S. P., Gabrielli A.C. 2000.** Anatomia comparativa do eixo vegetativo em *Dahlstedtia pinnata* e *D. pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoideae). *Revista Brasileira de Botânica*, 23: 1-11.
- Toriyama, H. 1967.** Distribution of tannin vacuoles in the main pulvinus of *Mimosa pudica* L. *Proceedings of the Japan Academy*, 43: 384-388.
- Turner G. W. 1986.** Comparative development of secretory cavities in the tribes Amorphaeae and Psoraleeae (Leguminosae: Papilionoideae). *American Journal of Botany*, 73: 1178-1192.
- Vovides, A. 1991.** Cone idioblasts of eleven cycad genera: morphology, distribution, and significance. *Botanical Gazette*, 152 (1): 91-99.
- Watson, M. L. 1958.** Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *Journal Biophysical and Biochemical Cytology*, 4 (4): 475-478.
- Wardrop, A. B. & Cronshaw, T. 1962.** Formation of phenolic substances in the ray parenchyma of Angiosperms. *Nature*, 193: 90 – 92.
- Werysko-Chmielewska, E. & Chernetsky, M. 2005.** Structure of trichomes from surface of leaves of some species of *Kalanchoë adans.* *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47 (2): 15–22.
- Wink, M. 2003.** Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64: 3–19.

Zobel, A. M. 1986. Localization of phenolic compounds in **tannin**-secreting cells from *Sambucus racemosa* L. shoots. *Annals of Botany*, 57: 801-810.

CAPÍTULO 2: COLÉTERES EM *DIMORPHANDRA MOLLIS* BENTH. (CAESALPINIOIDEAE)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a morfologia e a natureza do conteúdo dos apêndices epidérmicos secretores encontrados nas gemas vegetativas de *Dimorphandra mollis*, espécie conhecida pelo acúmulo de taninos, a fim de inferir suas possíveis funções para a planta. Para isso, foram empregadas técnicas de anatomia e histolocalização de compostos, com observação em microscopia fotônica e eletrônica. O apêndice epidérmico secretor é multicelular e apresenta conteúdo de natureza mista. O pedúnculo, mais curto, é constituído por células com taninos; as células da cabeça apresentam vacúolos repletos de substâncias de natureza polissacarídica e lipofílica. O conteúdo de natureza mista (lipofílica e hidrofílica), juntamente com a posição que os apêndices ocupam na planta e o fato de serem estruturas caducas, sugerem tratar-se de coléteres. Os coléteres geralmente estão associados à proteção contra dessecação e lubrificação de tecidos meristemáticos, mas sua variação estrutural nas famílias botânicas em que são registrados gera controvérsias quanto à terminologia adotada. Este trabalho traz o primeiro registro de coléteres para o gênero *Dimorphandra* (Leguminosae).

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the morphology and the secretory content of secretory epidermal appendices found in vegetative buds of *Dimorphandra mollis*, a species known for its accumulation of tannins, in order to infer their possible functions for the plant. For this, techniques in anatomy and histolocalization compounds were employed along with observation in light and electron microscopy. The secretory trichomes are multicellular and presents hydrophilic and lipophilic content. The peduncle, shorter, is composed of cells with tannins; head cells have vacuoles filled with polysaccharide and lipophilic substances. The mucilage content, along with the position they occupy in the plant and the fact that they are deciduous, is suggestive of colleters. The colleters are usually associated with protection against drying and lubrication of meristematic tissues, but the structural variation in plant families where they are reported generates controversy regarding the terminology used. This is the first report of colleters in *Dimorphandra*.

1. INTRODUÇÃO

Estruturas secretoras são responsáveis pela produção, armazenamento e liberação dos compostos especiais nas plantas (Fahn, 1979), tais como compostos fenólicos, alcalóides, e terpenos (Bourgaud *et al.*, 2001). Existe uma grande variedade destas estruturas, atestada pela ocorrência de tipos diversos, tais como tricomas, idioblastos, canais e cavidades secretores, laticíferos, osmóforos, nectários e coléteres (Fahn, 1979). Esta classificação pode ser baseada em diferentes critérios, como por exemplo, origem, localização no corpo vegetal, tipo de composto produzido, morfologia e função (Fahn, 1979; Castro & Machado, 2006).

Ao se utilizar estudos ontogenéticos para determinar a origem de uma estrutura secretora, é possível saber quais tecidos meristemáticos estão envolvidos na sua formação e, então, distinguir, de acordo com a terminologia usual, estruturas como tricomas (formados a partir de células protodérmicas) de emergências (formadas a partir de células da protoderme e do meristema fundamental) (Fahn, 1990).

No entanto, é justamente na classificação que reside um paradoxo: um único critério não é suficiente para classificar uma estrutura secretora; por outro lado, a mesma estrutura pode corresponder a mais de uma categoria. Essa dualidade origina uma série de controvérsias e sobreposições na classificação, o que a torna um dos principais desafios nessa área de estudo.

Casos, por exemplo, em que o nectário estruturado foi substituído por outras estruturas que desempenham a mesma função são encontrados na literatura, sendo

objetos de estudo de Vogel (1997), que atribuiu a eles o termo “substitutive nectaries”. Que procedimento adotar com estruturas secretoras que não apresentam a morfologia padrão descrita na literatura, ou quando outras estruturas assumem funções exclusivas de nectários, por exemplo? Quais critérios devem ser usados para a classificação destas estruturas? Morfologia, origem, função ou a combinação de vários critérios?

Apesar das controvérsias, um consenso entre os autores parece ser o papel importante desempenhado pelas estruturas secretoras para a planta, como a atração de polinizadores, proteção contra herbivoria, patógenos, dessecação e lubrificação de tecidos jovens (Fahn, 1979, 1990, 2002; Lüttge, 1971). Proteção contra dessecação e lubrificação de tecidos jovens são geralmente associadas a estruturas denominadas coléteres (Thomas, 1991; Paiva, 2009).

A palavra coléter vem do grego *colla*, e refere-se à natureza “pegajosa” do composto produzido por essas estruturas. Coléteres também são descritos na literatura como “squamellae”, tricomas glandulares (Thomas, 1991) e pelos pegajosos (Solereder, 1908).

Os coléteres apresentam diversas definições, considerando sua estrutura, origem ou função. São descritos como emergências, formadas a partir de células da protoderme e meristema fundamental, que produzem e liberam substâncias mucilaginosas ou resinosas, insolúveis em água (Evert, 2006). Outros autores caracterizam coléteres como tricomas secretores, compostos de uma cabeça multicelular e um pedúnculo (às vezes ausente), produtores de uma substância pegajosa (Fahn, 1979; Payne, 1978). Considerando as

diversas definições encontradas na literatura, o conteúdo de aparência pegajosa parece ser a característica fundamental associada a essas estruturas.

A maioria dos trabalhos relata coléteres como estruturas que correspondem ontogenicamente a emergências; no entanto, muitas estruturas com origem protodérmica vêm sendo descritas na literatura como coléteres (Thomas, 1991; Renobales *et al.*, 2001; Leitão & Cortelazzo, 2008), o que tem gerado muitas controvérsias.

A aparência pegajosa dos compostos produzidos pelos coléteres pode ser evidenciada por testes de histolocalização como o PAS (McManus, 1946) e o Vermelho de Rutênio (Johansen, 1940). No entanto, vários autores relatam natureza mista para o conteúdo secretor, que pode ser composto por substâncias hidrofílicas e lipofílicas (Fahn, 1979; Thomas, 1991; Paiva, 2009). Além disso, proteínas e compostos fenólicos também podem estar presentes, inferindo outras e diferentes funções para a planta. A presença de proteínas no exudato produzido pelos coléteres de *Simira glaziovii* (Rubiaceae), por exemplo, foi associada a mecanismos de defesa contra microrganismos (Klein, 2004), enquanto a deposição de compostos fenólicos parece associada ao final do processo de secreção nessas estruturas (Paiva, 2009).

As muitas controvérsias a respeito dos coléteres devem ser geradas pela escassez de estudos, concentrados em poucas famílias, como Apocynaceae (Lersten, 1974; Thomas & Dave, 1989; Thomas *et al.*, 1989; Thomas & Dave, 1991; Thomas & Dave, 1990a; Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000; Simões *et al.*, 2006) e Rubiaceae (Miller *et al.*, 1983; Thomas & Dave, 1990; Castro Miguel *et al.*, 2006). Há poucos registros de coléteres para Aquifoliaceae (González & Tarragó, 2009), Caryocaraceae (Paiva & Machado, 2006),

Erythroxylaceae (Thiebaut & Hoffmann, 2005), Gentianaceae (Renobales *et al.*, 2000), Leguminosae (De Paula & Oliveira, 2007; Mansano & Teixeira, 2008; Paiva, 2003; Paiva, 2009; Rutishauser & Dickison, 1989; Solereder, 1908), Orchidaceae (Leitão e Cortelazzo, 2008), Orobanchaceae (Reddy & Rao, 1980), Polyganaceae (Schnepf, 1968), Rhizophoraceae (Lersten & Curtis, 1974) e Turneraceae (González, 1998).

De acordo com Solereder (1908), em Leguminosae, os coléteres estariam restritos às subfamílias Mimosoideae e Papilionoideae. No entanto, trabalhos recentes revelaram a presença de coléteres em gêneros de Caesalpinioideae (De Paula & Oliveira, 2007; Paiva, 2003). Apesar dos novos relatos, os trabalhos que abordam esse tipo de estrutura para Leguminosae ainda são poucos e estão restritos a espécies dos gêneros *Chamaecrista* (De Paula & Oliveira, 2007), *Hymenaeae* (Paiva, 2003) e *Copaifera* (Paiva, 2009) – pertencentes à subfamília Caesalpinioideae; *Mimosa* (Solereder, 1908) – pertencente à subfamília Mimosoideae; *Cronocarpus* (Solereder, 1908), *Platymiscium* (Rutishauser & Dickison, 1989), *Holocalyx* e *Zollernia* (Mansano & Teixeira, 2008) – pertencente à subfamília Papilionoideae.

Dada a complexidade e ampla distribuição da família Leguminosae (Judd *et al.*, 2009), é de se esperar que estruturas secretoras como coléteres ocorram mais frequentemente do que o relatado na literatura, em especial, aqueles morfologicamente diferentes do padrão descrito na literatura ou, ainda, que outras estruturas secretoras possam exercer as mesmas funções de lubrificação e proteção dos meristemas apicais.

Dimorphandra mollis é uma espécie taninífera de Leguminosae, pertencente à subfamília Caesalpinioideae, cujos representantes são amplamente encontrados no cerrado (Lorenzi,

1998). Estudos preliminares mostraram uma grande quantidade de apêndices epidérmicos secretores nas gemas caulinares dessa espécie, mas que são perdidos durante o desenvolvimento dos folíolos. O fato de serem estruturas caducas sugere que esses apêndices possuem funções relacionadas estritamente às gemas.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo o estudo morfológico dos apêndices secretores encontrados na epiderme das gemas caulinares de *D. mollis*, bem como da natureza do conteúdo produzido, a fim de inferir possíveis funções associadas a eles.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Espécie estudada

Representantes de *Dimorphandra mollis* são conhecidos popularmente como faveira (o), barbatimão-de-folha-miúda ou falso-barbatimão, apresentam porte arbóreo, com 5 a 8 m de altura, copa densa, casca que se fragmenta em pedaços pequenos e irregulares, folhas bipinadas, com tricomas curtos nas duas faces, legumes carnosos e achatados, e sementes avermelhadas e numerosas. Ocorrem nos Estados do Pará, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (Lorenzi, 1998).

Ramos férteis foram depositados como material testemunha no herbário da FFCLRP/USP sob os números SP Teixeira 40, TC Barros (SPFR 12640) e SP Teixeira 41, TC Barros (SPFR 12641) para *D. mollis*; SP Teixeira 42, TC Barros (SPFR 12629) e SP Teixeira 43, TC Barros (SPFR 12630) para *S. adstringens*.

Coleta de material

Gemas vegetativas foram coletadas de dois indivíduos e imediatamente submetidas à fixação em solução de Karnovsky em tampão fosfato 0,075 M (pH 7,2-7,4) (Karnovsky, 1965).

Caracterização morfológica

A morfologia externa dos apêndices foi estudada por microscopias fotônica e eletrônica de varredura.

Para os estudos prévios de morfologia e histolocalização de metabólitos os apêndices foram retirados manualmente por meio de raspagem da superfície das gemas com auxílio de um bisturi. O material retirado foi então transferido para *eppendorfs* contendo água deionizada. Passado o tempo necessário para decantação das estruturas, a água foi retirada e foram adicionados Vanilina Clorídrica (Mace & Howel, 1974), reagente de PAS (McManus, 1948) e Sudan IV (Pearce, 1980) para detecção de taninos, polissacarídeos e substâncias lipofílicas, respectivamente. Após o tempo de reação, o reagente foi retirado e o material lavado rapidamente em água deionizada. O material, novamente decantado, foi retirado com auxílio de um pincel do fundo do recipiente e montado em lâminas com gelatina glicerizada. As imagens foram obtidas em um microscópio Fotomicroscópio Leica DM 4500 B acoplado a uma câmera digital Leica DFC 320 e as escalas nas mesmas condições ópticas.

Para o exame de superfície os materiais previamente fixados foram desidratados em série etanólica (Tucker 1993), submetidos ao ponto crítico em um aparelho Bal Tec

CPD 030, montados em suportes metálicos sobre fita adesiva de Carbono e cobertos com Ouro em um metalizador BalTec SCD 050 por 160 segundos. As observações e as imagens foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVOMA10, no laboratório de Bioengenharia da FMRP.

Para os estudos anatômicos, as gemas fixadas foram desidratadas gradualmente em série etanólica, incluídas em Araldite e seccionadas com auxílio de um ultramicrotomo Leica ultracut S Reichert para a obtenção de cortes semifinos (0,5 μm) e ultra-finos (60 a 70 nm). Os cortes semifinos foram corados com Azul de Toluidina 0,05% (O'Brien *et al.* 1964), Sudan Black B (Johansen, 1940), PAS (McManus, 1948) e Vermelho de Rutênio (Johansen, 1940), observados e documentados em um Fotomicroscópio Leica DM 4500 B acoplado a uma câmera digital Leica DFC 320 e as escalas nas mesmas condições ópticas. Para os estudos ultra-estruturais, os cortes ultrafinos foram coletados em grade de malha fina, contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 2% por 15 min (Watson, 1958) e citrato de chumbo por 15 min (Reynolds, 1963). Os cortes foram observados em um microscópio eletrônico de transmissão Philips EM 208, acoplado a uma câmera digital Hamamatsu Orca HR na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; as escalas foram obtidas nas mesmas condições ópticas.

3. RESULTADOS

Distribuição

Apêndices epidérmicos secretores estão localizados nas gemas vegetativas de *Dimorphandra mollis*, na face abaxial, no lado oposto à região onde são encontrados os folíolos em desenvolvimento. Encontram-se dispersos entre os numerosos tricomas tectores (Figura 1 A).

Morfologia

Apresentam-se como uma estrutura multicelular cuticularizada, sem distinção aparente entre o pedúnculo e a cabeça (Figuras 1 B e 1C). Na região apical foram encontrados pontos de ruptura da parede celular com extravasamento do conteúdo secretor (Figuras 1 D e 1 E).

São originados de uma célula protodérmica, que por meio de sucessivas divisões periclinais dá origem a uma estrutura mais alongada e unisseriada (Figura 2 A). Essa estrutura passa por divisões anticlinais, mantendo uma forma alongada, mas não mais unisseriada (Figura 2 A). As células do ápice passam por um número maior de divisões (Figura 2 A), o que resulta em uma estrutura pluricelular com a cabeça levemente mais volumosa que o pedúnculo (Figuras 3 A e 3 B).

As células apresentam paredes delgadas, núcleo central e lobado, com nucléolo conspícuo (Figura 3 C) e numerosos vacúolos de tamanhos variados, preenchidos de substâncias lipofílicas (Figura 3 A). O citoplasma exibe dictiossomos na região periférica da

célula, com sinais de degradação (Figura 4 A) e numerosas mitocôndrias que exibem morfologia variada (Figura 4 B). Algumas aparecem englobando parte do citosol (Figura 4 B) ou os plastídios (Figura 4 D). Os plastídeos podem conter grãos de amido volumosos (Figura 3 A) ou grãos pequenos juntamente com inclusões lipídicas (Figura 4 C). Uma ampla rede de retículo endoplasmático liso foi observada, muitas vezes com a extremidade das cisternas dilatadas (Figura 5 A). Mitocôndrias podem ocorrer associadas a plastídios (Figura 4 D) ou ao retículo endoplasmático rugoso (Figura 5 B). Entre as células da cabeça ocorrem plasmodesmos (Figuras 5 C e 5 D).

Conteúdo secretor

Todas as células do apêndice são secretoras (Figura 6 A), seja de compostos fenólicos, lipídeos ou polissacarídeos, e os processos envolvidos na produção destes metabólitos parecem ser assíncronicos, visto que no momento da produção de lipídeos, todo o conteúdo de polissacarídeos já se encontra no espaço intercelular (Figura 6 A) e as células basais (pedúnculo) também já se encontram repletas de taninos.

As células basais produzem preferencialmente taninos, que são acumulados nos vacúolos, ocupando grande parte do volume celular (Figura 3 B). As células adjacentes às apicais produzem taninos e lipídeos que são acumulados em vacúolos; na região mais apical as células produzem apenas lipídeos, também acumulados em vacúolos (Figura 6 B e 3A).

As gotas lipídicas produzidas nas células de posição intermediária e apicais coalescem e compõem uma grande gota no interior de um grande vacúolo (Figuras 4 A e 4 D) ou são transportadas até a periferia da célula (Figura 4 F) e atravessam a parede celular

formando o conteúdo encontrado no meio intercelular (Figura 4 E). Este conteúdo é amorfo e tem natureza polissacarídica e lipídica (natureza mista), acumula-se preferencialmente, entre as células apicais, onde ocupa um grande espaço (Figura 6 C) e também entre as células basais (Figura 6 D). O grande volume acumulado no espaço intercelular (Figura 5 F) deve causar um afrouxamento nas células da região lateral da cabeça, que apresentam uma leve depressão (Figura 3 A), provavelmente seguida de liberação do conteúdo por rompimento da parede periclinal externa da célula e da cutícula (Figuras 1 D e 1 E).

Figura 1: Apêndices epidérmicos secretores de *Dimorphandra mollis* (MEV). A. Distribuição dos apêndices na gema caulinar em seção transversal. B. Apêndice seccionado longitudinalmente mostrando o conteúdo das células apicais. C. Aspecto externo do apêndice. D – E. Regiões da parede periclinal externa das células laterais da cabeça por onde ocorre liberação do conteúdo produzido. E. Aspecto do conteúdo extravasado (seta).

Figura 2: Apêndices epidérmicos secretores de *Dimorphandra mollis* (ML) em várias fases do desenvolvimento. Note que as primeiras divisões são periclinais (A a C) e as posteriores são periclinais e anticlinais (D e E).

Figura 3: Apêndice epidérmico secretor de *Dimorphandra mollis* (MET). A. Visão geral da região apical do apêndice, mostrando vacúolos repletos de lipídios (Li), e possível região de liberação do conteúdo (seta). B. Visão geral da região basal do apêndice indicando células com conteúdos distintos: taninos (Ta) (célula 1) e taninos/lipídios (célula 2). C. Detalhe de uma célula da região mediana do apêndice, indicando plastídios com inclusões (Pam) e vacúolos repletos de lipídios (Li). Ei (meio intercelular); Mi (mitocôndria); N (núcleo); Nu (nucléolo); PC (parede celular).

Figura 4: Células medianas do apêndice epidérmico secretor de *Dimorphandra mollis* em detalhes (MET). A. União dos vacúolos lipídicos (Li) e Complexo de Golgi (G). B. Mitocôndrias (Mi) com formatos variados. C. Plastídios com grãos de amido (Pam) e inclusões lipídicas (Li). D. Plastídio rodeado por mitocôndria. E - F. Gotas lipídicas próximas à e entremeando as microfibrilas da parede celular.

Figura 5: Células medianas do apêndice epidérmico secretor de *Dimorphandra mollis* em detalhes (MET). A. Retículo endoplasmático liso (REL) formando uma rede ampla próximo à parede celular. B. Retículo endoplasmático rugoso (RER) associado a mitocôndrias (Mi). C -D. Detalhe dos plasmodesmos (PI). E. Conteúdo de natureza mista (Cm) observado entre as microfibrilas da parede celular. F. Detalhe do conteúdo amorfo e volumoso liberado no espaço intercelular (Ei). Vacúolo lipídico (Li); Taninos (Ta).

Figura 6: Apêndices epidérmicos secretores de *Dimorphandra mollis* (ML). A. Apêndice constituído de células produtoras de tanino (Ta), lipídios (Li) e polissacarídeos; estes acumulados no espaço intercelular (Ei) da cabeça secretora. B. Células com vacúolos repletos de lipídeos, evidenciado pelo Sudan IV. C. Detalhe mostrando o conteúdo polissacarídico no espaço intercelular das células do ápice do apêndice. D. Células com grãos de amido (seta) na região periférica da célula. Note o conteúdo polissacarídico no espaço intercelular da cabeça.

4. DISCUSSÃO

De acordo com os critérios localização (Fahn, 1979; Thomas, 1991), estágio da planta em que se originam (Thomas, 1991) e conteúdo (Fahn, 1979; Payne, 1978, Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000), os apêndices epidérmicos secretores descritos nas gemas vegetativas de *Dimorphandra mollis* correspondem a coléteres, ainda que morfologicamente sejam diferentes daqueles considerados padrão, descritos para outros grupos taxonômicos, como Rubiaceae (Miller et al, 1983; Thomas & Dave, 1990;) e Apocynaceae (Lersten, 1974; Thomas & Dave, 1989; Thomas et al, 1989; Thomas & Dave, 1991; Thomas & Dave, 1990; Simões *et al.*, 2006).

A morfologia padrão descrita para os coléteres é a de uma emergência, caracterizada por um eixo de células parenquimáticas revestidas por uma camada de células epidérmicas em paliçada (Lersten, 1974; Thomas, 1991; Castro Miguel et al, 2006). Esse tipo morfológico corresponde ao 'standard' para Rubiaceae (Lersten, 1974), mas também é encontrado em outras famílias como Turneraceae (González, 1998), Aquifoliaceae (González & Tarragó, 2009) e Apocynaceae (Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000). A determinação de cada tipo morfológico parece ser uma escolha arbitrária de cada autor, mas muitos optam por seguir a classificação adotada por Lersten (1974), para coléteres em Rubiaceae. O tipo 'standard' seria o principal, e os outros tipos, como o sésil (González & Tarragó, 2009), o lacrimiforme (González & Tarragó, 2009), o bifurcado (Simões *et al.*, 2006) e o dendróide (Barreiro & Machado, 2007) seriam apenas variações da morfologia padrão (González, 1998).

Considerando que o conteúdo de determinada estrutura secretora está relacionado com a função exercida por ela (Fahn, 1979; ver estudos de caso de Melo *et al.*, 2006; Lopes *et al.*, 2002; Vogel, 1997), conclui-se que o conteúdo secretor dos coléteres de *Dimorphandra mollis*, cuja aparência é pegajosa e a natureza mucilagínosa, lipídica e fenólica, exercem funções relacionadas aos tecidos meristemáticos das gemas vegetativas, seja como proteção contra a dessecação, herbivoria e patógenos ou como lubrificação. Deve-se ressaltar que tais estruturas já estão completamente formadas e ativas na produção desses compostos antes da completa expansão foliar.

Os coléteres são descritos como estruturas associadas a tecidos jovens nas plantas, como estípulas, face adaxial das folhas em desenvolvimento, margem das folhas, botões florais (Fahn, 1979; Thomas, 1991) e até mesmo embrião (De-Paula & Oliveira, 2007). Suas diversas localizações inferem diferentes funções para as plantas. Em algumas espécies de *Ilex* (Turneraceae), os coléteres não só estão localizados nas estípulas, como as substituem (González & Tarragó, 2009). Em *Chamaecrista* (Leguminosae) os coléteres ocorrem nas axilas dos cotilédones, ao lado da plúmula e estariam envolvidos com a manutenção do desenvolvimento meristemático em espécies de Cerrado (Cavalari De-Paula & Oliveira 2007).

A ultraestrutura parece confirmar os tipos de compostos produzidos pelo coléter de *Dimporhandra mollis*, sendo retículo endoplasmático liso e plastídeos frequentemente associados a produção de lipídeos (Fahn, 1979) e dictiossomos à produção de polissacarídeos e (Klein *et al.*, 2004; Miguel, 2006; Paiva, 2009), embora encontrados em pequena quantidade. A ocorrência rara de dictiossomos no coléter de *D. mollis* deve estar

mais relacionada à amostragem das estruturas em estágio tardio, posteriores à produção da mucilagem, que à real ausência desta organela.

Os compostos fenólicos acumulados no pedúnculo do coléter de *Dimporhandra mollis* devem auxiliar na cicatrização da gema, evitando a contaminação dos tecidos por patógenos após a queda dos coléteres. A produção e acumulação de compostos fenólicos também podem estar relacionadas aos estádios finais da secreção em coléteres (Paiva, 2009).

A assincronia na produção de substâncias no coléter de *Dimporhandra mollis*, primeiro polissacarídeos, que logo são liberados e acumulados nos espaços intercelulares e, então, lipídeos, é semelhante à que ocorre em coléteres de *Mandevilla*, que produzem primeiramente polissacarídeos e posteriormente lipídios (Appezatto-da-Glória & Estelita, 2000). A ocorrência da produção desses dois compostos em momentos diferentes parece refletir a natureza mista do conteúdo produzido por coléteres (Fahn, 1979; Thomas, 1991; Paiva, 2009), formado frequentemente por uma mistura de terpenos e mucilagem (Esau, 1965).

Coléteres de origem protodérmica, como os encontrados em *Dimorphandra mollis*, embora aceitos na literatura (Fahn, 1992), foram relatados apenas para três famílias: Gentianaceae (Renobales, 2001), Orchidaceae (Leitão e Cortelazzo, 2008) e Polygonaceae (Schnepf, 1968), todas elas bem distantes filogeneticamente de Leguminosae (APG III, 2009). Gentianaceae, por exemplo, está inserida em uma ordem já bastante conhecida pela ocorrência de coléteres com morfologia padrão (tipo emergência) (Lersten, 1974; Miller et al, 1983; Thomas & Dave, 1990; Thomas & Dave, 1989; Thomas et al, 1989;

Thomas & Dave, 1991; Thomas & Dave, 1990; Simões *et al.*, ver Figura 7). Destaca-se ainda que a família Orchidaceae, maior família de Angiospermas, possui um único relato de ocorrência de coléter, caracterizado como de origem protodérmica (Leitão e Cortelazzo, 2008).

Não há estudos que abordem a distribuição dos coléteres nas famílias e sua correspondência filogenética. Os poucos dados mostram que os coléteres surgiram independentemente nas angiospermas (ver Figura 8). A ocorrência de coléteres em poucas e distantes famílias parece refletir apenas a falta de estudos, o que resulta em uma grande concentração de trabalhos em poucas ordens (ver Figura 8) e na ausência de estudos de evolução desta estrutura secretora tão interessante e controversa na literatura.

Figura 7: Distribuição de coléteres de morfologia padrão e de origem protodérmica em grupos taxonômicos circunscritos no cladograma proposto por APG II (2003).

Figura 8: Árvore da APG III (2009), na qual foram indicados dados de literatura sobre a presença de coléteres nas diversas famílias.

Nosso trabalho traz o primeiro relato de coléteres para o gênero *Dimorphandra*. As estruturas encontradas – apêndices epidérmicos secretores – não correspondem ao padrão morfológico descrito para coléteres. Mas, um olhar mais atento indicou características importantes sugerindo que os apêndices desempenham um papel

importante para tecidos jovens da planta. A elucidação da natureza do conteúdo produzido direcionou a associação dessas estruturas a coléteres. O estudo na área de estruturas secretoras é complexo, sendo que uma única característica não é suficiente para classificar uma estrutura, mas pode fazer diferença se analisada em conjunto com outras características.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141:399–436.

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III Botanical Journal of the Linnean Society, 2009, 161, 105–121.

Appenzato-da-Glória, B. & Estelita, M. E. M. 2000. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). Revista brasileira de Botânica, 23: 113-120.

Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi S.; Gontier E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science, 161:839–851.

Castro Miguel, E., Moreira Gomes, V. Oliveira, M. A. Da Cunha, M. 2006. Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): Ultrastructure, Secretion Protein Composition, and Antifungal Activity. Plant Biology., 8: 715-722.

- De-Paula, O. C. & Oliveira, D. M. T. 2007.** Ocorrência de coléteres em embriões de três espécies de *Chamaecrista* Moench (Fabaceae: Caesalpinioideae). Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, 5 (supl. 1): 348-350.
- Fahn, A. 1967.** Plant Anatomy. Pergamon Press.
- Fahn A. 1979.** Secretory Tissues in Plants. Academic Press, New York.
- Fahn, A. 2002.** Functions and locations of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. Israel Journal of Plant Sciences, 50: S59 - S64
- González, A. M. 1998.** Colleters in *Turnera* and *Piriqueta* (Turneraceae). Botanical Journal of the Linnaean Society, 128: 215-228.
- Gonzalez, A. M. & Tarragó, J. R. 2009.** Anatomical structure and secretion compounds of colleters in nine *Ilex* species (Aquifoliaceae) from southern South America. Botanical Journal of Linnean Society, 160: 197-210.
- Johansen, D. A. 1940.** Plant microtechnique. McGraw – Hill. New York.
- Karnovsky, M. J. 1965.** A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in eletron microscopy. Journal of Cell Biology, 27: 137A-138A.
- Kuriachen, P. M. & Dave, Y. 1989.** Structural, developmental and histochemical studies in the colleters of *Calotropis* L. (Asclepiadaceae). Journal of Phytological Research, 2(1): 7-14.
- Leitão, C. A. E. & Cortelazzo, A. L. 2008.** Structural and histochemical characterisation of the colleters of *Rodriguezia venusta* (Orchidaceae). Australian Journal of Botany, 56: 161-165.

- Lersten, N. 1974.** Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). American Journal of Botany, 61: 973-981.
- Lersten, N. & Curtis, J. D. 1974.** Colleter anatomy in red mangrove, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae). Canadian Journal of Botany, 52(11): 2277-2278.
- Lopes, A. V., Vogel, S., Machado, I. C. 2002.** Secretory Trichomes, a substitutive Floral Nectar Source in *Lundia* A. DC. (Bignoniaceae), a genus lacking a functional disc. Annals of Botany, 90: 169-174.
- Lorenzi, H. 1998.** Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa/SP: Ed. Plantarum.
- Mansano, V. F. & Teixeira, S. P. 2008.** Floral anatomy of the *Lecointea* clade (Leguminosae, Papilionoideae, Swartziae sensu lato. Plant Systematics and Evolution, 273: 201–209.
- McManus, I. F. A. 1948.** Histological and histochemical use of periodic acid. Stain technology, 23: 99-108.
- Melo, Y., Machado, S. R., Aves, M. 2010.** Anatomy of extrafloral nectaries in Fabaceae from dry-seasonal forest in Brazil. Botanical Journal of the Linnean Society, 163: 87–98.
- Miller, I. M., Scott, A., Gardner, I. C. 1983.** The development, structure and function of dendroid colleters in *Psychotria kirkii* Hiern (Rubiaceae). Annals of Botany, 51: 621-630.

- O'Brien, T. P., Feder, N. & McCully, M. E., 1964.** Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. *Protoplasma*, 59 : 368-373.
- Paiva, E. A. S. 2003.** Estruturas secretoras em *Hymenaea stagnocarpa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): uma abordagem morfofuncional. Tese Doutorado, Universidade Estadual Paulista.
- Paiva, E. A. S. 2009.** Occurrence, structure and functional aspects of the colleter of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae). *C. R. Biologies*, 332: 1078-1084.
- Paiva, E. A. S. & Machado, S. R. 2006.** Colleters in *Caryocar brasiliense* (caryocaraceae): Ontogenesis, ultrastructure and secretion. *Brazilian Journal of Biology*, 66(1b): 301-308
- Payne, W. 1978.** A glossary of plant hair terminology. *Brittonia*, 30(2): 239-255.
- Reddy, B. V. N. & Rao, P.N. 1980.** Colleters on the cotyledons of in vitro raised seedlings of witchweed - *Striga asiatica* (L.) Kuntze. *Current Science*, 49(15): 595-597.
- Schnepf, E. 1968.** Zur Feinstruktur der schleimsezierenden Drüsenhaare auf der Ochrea von *Rumex* und *Rheum*. *Planta*, 79: 22-34.
- Simões, A. O., Castro, M.M., Kinoshita, L. S. 2006.** Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152: 387-398.
- Solereider, H. 1908.** Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press.

- Renobales, G., De Diego, E., Urcelay, B., Lopez-Quintana, A. 2000.** Secretory hairs in *Gentiana* and allied genera (Gentianaceae, subtribe Gentianinae) from the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 136: 119 – 129.
- Reynolds, E.S. 1963.** The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electronmicroscopy. *Journal of Cell Biology*, 17: 208-213.
- Thiebaut, L. F. & Hoffmann, P. 2005.** Occurrence of colleters in Erythroxylaceae. *Kew Bulletin*, 60(3): 455-459.
- Thomas, V. 1991.** Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany*, 68: 287-305.
- Thomas, V. & Dave, Y. 1989.** Histochemistry and senescence of colleters of *Allamanda cathartica* (Apocynaceae). *Annals of Botany*, 64: 201-203.
- Thomas, V. & Dave, Y. 1990a.** Mode of secretion in the colleters of *Alstonia scholaris* (Apocynaceae). *Phyton Annales Rei Botanicae*, 30: 209-212.
- Thomas, V. & Dave, Y. 1990b.** Structure and necrosis of stipular colleters in *Mitragyna parvifolia* (Rubiaceae). *Belgian Journal of Botany*, 123: 67-72.
- Thomas, V. & Dave, Y. 1991.** Comparative and phylogenetic significance of the colleters in the family Apocynaceae. *Feddes Repertorium*, 102: 177-182.
- Thomas, V., Dave, Y., Menon, A. R. S. 1989.** Anatomy and histochemistry of colleters in *Roupelia grata* (Apocynaceae). *Nordic Journal of Botany*, 8: 493-496.
- Tucker, S. C. 1993.** Floral ontogeny in *Sophoreae* (Leguminosae, Papilionoideae). I *Myroxylon* (Myroxylon group) and *Castanospermum* (Angylocalyx group). *American Journal of Botany*, 80: 65-75.

Vogel, S. 1997. Remarkable nectaries: structure, ecology, organophyletic perspectives. I.
Substitutive nectaries. *Flora*, 192: 305–333.

Watson, M. L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals.
Journal Biophysical and Biochemical Cytology, 4 (4): 475-478.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

“A riqueza de metabólitos secundários em plantas é, pelo menos parcialmente, explicável no simples fato de que os vegetais estão enraizados no solo e não podem se deslocar; eles não podem responder ao meio ambiente pelas vias possíveis aos animais” (Harborne, 1988).

A riqueza química encontrada nos vegetais não somente é resultado da complexa relação da planta com o ambiente e outros organismos, como também reflete em diferentes dinâmicas celulares e uma ampla variedade de estruturas secretoras capazes de produzir, modificar, armazenar e disponibilizar metabólitos para o vegetal, descritas em Solereder (1908), Metcalfe & Chalk (1950), Fahn (1979, 1988, 2002).

Dimorphandra mollis e *Stryphnodendron adstringens* são espécies muito conhecidas pela produção de taninos, porém com composições químicas, distribuição e mesmo estrutura produtora de taninos diferentes. Ainda, há que ressaltar a variação nas características celulares durante a produção desse composto, o que pode ser resultado de sua distância filogenética (estão inseridas em subfamílias diferentes).

Nota-se ainda que os tricomas taniníferos são encontrados apenas nas gemas vegetativas de *S. adstringens*, maior produtora de taninos em relação à *D. mollis*, o que parece refletir uma predisposição dessa espécie à produção desse composto e confirmar as informações populares de que esta espécie se trata do Barbatimão verdadeiro, enquanto a outra é conhecida por Falso Barbatimão (Lorenzi, 1998).

Ambas estruturas encontradas, tricomas taniníferos (*S. adstringens*) e coléteres (*D. mollis*), são originados de uma célula protodérmica e se desenvolvem de maneira semelhante; estão localizados na mesma região da planta – gemas vegetativas; senescem antes da completa expansão foliar; e estão presentes em espécies conhecidas pela produção de taninos. Ainda assim, tratam-se de estruturas que desempenham funções diferentes para as plantas. O critério decisivo para distingui-las foi a natureza do conteúdo produzido por elas, uma vez que os tricomas produzem e acumulam taninos em todas as células e os coléteres produzem uma substância de natureza mista, composta por lipídeos e mucilagem. Tricomas taniníferos são frequentemente relacionados a um esforço da planta pra conter herbivoria, além de promoverem proteção contra raios UV. Já os coléteres são estruturas associadas à lubrificação do meristema apical e proteção contra dessecação.

Considerando a problemática referente à classificação das estruturas secretoras, nosso estudo demonstra que não há uma quantidade exata de características a serem analisadas para compreender a biologia dessas estruturas, mas sim que o estudo das estruturas secretoras deve ser em essência, um exercício de observação sob diferentes ângulos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Fahn A. 1979. Secretory Tissues in Plants. Academic Press, New York.

Fahn, A. 1988. Plant Anatomy. Pergamon Press.

- Fahn, A. 2002.** Functions and locations of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. *Israel Journal of Plant Sciences*, 50: S59 - S64
- Harborne, J. B. 1993.** Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London, 318p.
- Lorenzi, H. 1998.** Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa/SP: Ed. Plantarum.
- Metcalf, C. R. & Chalk, L. 1950.** Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses, v. 1. Oxford, Clarendon Press.
- Solereider, H. 1908.** Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press.