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

Tricomas secretores em espécies de Cannabaceae e Ulmaceae

Isabel Cristina do Nascimento

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

RIBEIRÃO PRETO - SP

2017

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

Isabel Cristina do Nascimento

Orientadora: Profa. Dra. Simone de Pádua Teixeira

Tricomas secretores em espécies de Cannabaceae e Ulmaceae

VERSÃO CORRIGIDA

RIBEIRÃO PRETO - SP
2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E/OU DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na Publicação

Serviço de Documentação

Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Nascimento, Isabel Cristina do

Tricomas secretores em espécies de Cannabaceae e Ulmaceae. Ribeirão Preto, 2017. 78 p.

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

Orientadora: Simone de Pádua Teixeira

1. anatomia, 2. Clado urticoide, 3. Estrutura secretora, 4. Glândula, 5. Morfologia

FOLHA DE APROVAÇÃO

Isabel Cristina do Nascimento

Tricomas secretores em espécies de Cannabaceae e Ulmaceae

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

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Sou composta por urgências:
minhas alegrias são intensas;
minhas tristezas, absolutas.
Entupo-me de ausências,
Esvazio-me de excessos.
Eu não caibo no estreito,
eu só vivo nos extremos.

Pouco não me serve,
médio não me satisfaz,
metades nunca foram meu forte!

Todos os grandes e pequenos momentos,
feitos com amor e com carinho,
são pra mim recordações eternas.
Palavras até me conquistam temporariamente...
Mas atitudes me perdem ou me ganham para sempre.

Suponho que me entender
não é uma questão de inteligência
e sim de sentir,
de entrar em contato...
Ou toca, ou não toca.

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À Profa. Simone de Pádua Teixeira, pela orientação, pelo profissionalismo, competência, dedicação ao trabalho, pelo apoio nas horas difíceis, pela paciência e por todos os ensinamentos.

A CAPES, pela bolsa concedida.

À FAPESP (processo 2014/07453-3) pelo financiamento do projeto Desenvolvimento Floral de espécies do clado Urticoide.

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

À FCFRP, por ceder o espaço e a infraestrutura para o desenvolvimento do projeto.

Aos professores participantes da banca de qualificação: Ana Lilia A. Marin e Milton Groppo Júnior e a Dra. Ludmila M. Pansarin pelas orientações e sugestões, as quais enriqueceram meu trabalho.

Ao Prof. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira, pela concessão de equipamentos, e aos técnicos: Rodrigo F. Silva (Lab. microscopia eletrônica de varredura); Maria Dolores S. Ferreira e José A. Mauli (Lab. multiusuário microscopia de varredura); Vani M. Alves (Lab. Histotecnologia); Roberta R. C. Rosales (Lab. multiusuário); Mario S. Ogasawara e Walter Lopes (Lab. Farmagocnosia) pelo processamento dos materiais e apoio técnico.

Ao Prof. Jairo K. Bastos pelo apoio com os testes químicos.

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

À Ms Flávia Maria Leme pelas conversas, olhar crítico e pela ajuda no primeiro capítulo.

À Dra. Cristina Marinho pelo apoio e ajuda no segundo capítulo.

À Dra. Thais Cury de Barros pelas orientações no decorrer do projeto.

A todos os amigos do laboratório que sempre foram tão solícitos a me ajudar nas minhas dificuldades e tão presentes nos momentos de alegria: Giseli Pedersoli, João Paulo Basso-Alves, Marina Bortolin, Viviane Leite, Carimi Cortez, Ivan, Clarissa, Aline Rejane.

Aos amigos: Viviane Vresk, Maria Helena, Lariani e Daniel pelas conversas e apoio.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram a concluir essa etapa da minha vida.

À minha família que apesar de longe, sempre se fez tão presente: minha mãe Maria das Graças minha tia Ida, Inha e meu irmão Tiago.

Aos meus sogros: Noeli e Guerino, e a minha cunhada Cláudia e sobrinhas Bruna e Maria Laura pela torcida para que tudo desse certo.

Ao meu marido Janio por me apoiar nesse caminho tão longo e cuidar do nosso filho na minha ausência.

Ao meu filho Matheus por me ensinar a vencer meus medos e obstáculos.

Aos meus animais de estimação por passar noites em claro comigo durante o desenvolvimento do projeto.

DEDICO

A minha avó Maria de Lourdes do Nascimento (*in memorian*) por todo o amor incondicional e pela cumplicidade mútua que sempre tivemos, mas que infelizmente não pôde estar aqui para compartilhar desse momento tão especial.

Ao meu filho Matheus por me ensinar a superar os obstáculos.

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	12
INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 1: DISTRIBUIÇÃO E MORFOLOGIA DE TRICOMAS SECRETORES EM <i>CELTIS PUBESCENS</i> , <i>TREMA MICRANTHA</i> (CANNABACEAE) E ESPÉCIES AFINS DE ULMACEAE.....	17
RESUMO	18
INTRODUÇÃO	19
OBJETIVOS	22
MATERIAIS E MÉTODOS	22
Espécies estudadas	22
Coleta do material	23
Análise de superfície	24
Análise anatômica	24
Classificação dos tricomas secretores.....	25
RESULTADOS.....	25
<i>Celtis pubescens</i> (Cannabaceae)	25
<i>Trema micrantha</i> (Cannabaceae).....	28
<i>Ampelocera glabra</i> , <i>Phyllostylon rhamnoides</i> e <i>Ulmus parvifolia</i> (Ulmaceae).....	31
DISCUSSÃO.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
CAPÍTULO 2: TRICOMAS SECRETORES EM <i>TREMA MICRANTHA</i> (CANNABACEAE): ONTOGENIA, ULTRAESTRUTURA E ANÁLISE QUÍMICA DO EXSUDATO	47
RESUMO	48
INTRODUÇÃO	49
OBJETIVO.....	52
MATERIAIS E MÉTODOS	52
Coleta e fixação das amostras	52
Ontogenia	52
Ultraestrutura.....	53
Análise química.....	53
Histolocalização de substâncias	53
Testes químicos para alcaloides	54

<u>Testes químicos para canabinoides</u>	55
RESULTADOS.....	56
Ontogenia	56
Ultraestrutura.....	58
<u>Tricoma capitado</u>	58
<u>Tricoma filiforme</u>	62
Histolocalização de substâncias	66
<u>Tricoma secretor capitado</u>	66
<u>Tricoma secretor filiforme</u>	67
Testes químicos	68
DISCUSSÃO.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
CONCLUSÕES	78

RESUMO

Tricomas secretores são apêndices epidérmicos presentes nas maiorias das plantas desempenhando funções diversas, dentre elas a defesa contra herbivoria. Dentre as famílias que apresentam tricomas secretores destaca-se Cannabaceae, que é amplamente estudada por produzir compostos psicoativos e outros utilizados como aromatizantes de cerveja. Recentemente alguns gêneros pertencentes à Ulmaceae foram inseridos em Cannabaceae, como *Celtis* e *Trema*. Tais gêneros são os mais numerosos em espécies da família. Considerando que tricomas secretores são os principais sítios de produção de substâncias de interesse econômico, e que são amplamente utilizados como caráter de valor taxonômico, o presente trabalho comparou a distribuição e morfologia de tricomas secretores de duas espécies de Cannabaceae (*Celtis pubescens* e *Trema micrantha*) e três espécies afins de Ulmaceae (*Ampelocera glabra*, *Phyllostylon rhamnoides* e *Ulmus parvifolia*). Os dados foram comparados aos existentes na literatura e discutidos em um contexto sistemático. Os tricomas secretores de *Trema micrantha* foram, ainda, analisados em detalhe quanto à ontogenia, análise química do exsudato (*in situ* e direto) e ultraestrutura. Para tal, amostras de folhas e flores (pistiladas e estaminadas) foram coletadas, fixadas e processadas para análise de microscopia de luz, eletrônica de varredura e de transmissão. Foram encontrados cinco morfotipos diferentes nas espécies estudadas. *C. pubescens* e *T. micrantha* apresentaram tricomas secretores capitados e filiformes, que diferiram quanto ao pedúnculo, unisseriado em *C. pubescens* e bisseriado em *T. micrantha*. As três espécies de Ulmaceae apresentaram um único morfotipo (capitado com pedúnculo unicelular). Os tricomas de *T. micrantha* iniciam o desenvolvimento com uma divisão anticlinal, semelhante ao que ocorre em *Cannabis sativa*. Seus tricomas secretam terpenos, alcaloides e compostos fenólicos. Testes químicos comprovaram a presença de alcaloides e os indicadores de canabinoides sugerem que *T. micrantha* apresenta potencial para produção desses compostos. A morfologia dos tricomas encontrados nas espécies de Cannabaceae é diferente da observada nas espécies de Ulmaceae, o que apoia a atual circunscrição destas famílias. A diversidade morfológica e de termos utilizados torna desafiadora à classificação e comparação entre os tipos de tricomas secretores, sendo necessários esforços no sentido de padronizar a caracterização destas estruturas secretoras, em especial nas famílias que compõem o clado urticoide.

Palavra-chave: Anatomia, canabinoides, clado urticoide, estrutura secretora.

ABSTRACT

Secretory trichomes are epidermal appendages that are present in most plants performing various functions, among them the defense against herbivory. Cannabaceae comprises plants covered with secretory trichomes, and is a well-known family for producing psychoactive compounds and others used as beer flavorings. Recently some genera belonging to Ulmaceae were inserted into Cannabaceae, such as *Celtis* and *Trema*, the species-richest genera of the family. As the secretory trichomes are the main plant source of economically important substances and are widely used as taxonomic markers, the present study compared the distribution and morphology of secretory trichomes of two species of Cannabaceae (*Celtis pubescens* and *Trema micrantha*) and three related species of Ulmaceae (*Ampelocera glabra*, *Phyllostylon rhamnoides* and *Ulmus parvifolia*). The data were compared to those in the literature and discussed in a systematic context. The secretory trichomes of *Trema micrantha* were also analyzed in detail regarding ontogeny, histolocalization of substances and ultrastructure. For this, samples of leaf and flower (pistillate and staminate) were collected, fixed and processed for analyses of light microscopy, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. For *T. micrantha* chemical tests *in situ* and direct were carried out; in addition, samples were prepared for ultrastructural study in transmission electron microscopy. Five different morphotypes of secretory trichomes were found in the species studied. *C. pubescens* and *T. micrantha* exhibited capitate and filiform secretory trichomes that differed in the stalk, uniseriate in *C. pubescens* and biseriate in *T. micrantha*. The three species of Ulmaceae had a single morphotype (capitate with a unicellular stalk). The trichomes of *T. micrantha* originate of a first anticlinal cell division, similar to what occurs in *Cannabis sativa*. They secrete terpenes, alkaloids and phenolic compounds. Chemical tests have confirmed the presence of alkaloids and cannabinoid indicators suggest that *T. micrantha* is a putative species for the production of these compounds. The morphology of the trichomes found in the species of Cannabaceae is different from that observed in the species of Ulmaceae, which supports the current circumscription of these families. The diversity of morphology and terms employed makes it difficult to classify and compare the types of secretory trichomes. In this sense, efforts are needed to standardize the characterization of these secretory structures, especially in the families that comprise the urticalean rosids.

Key words: Anatomy, cannabinoids, secretory structures, urticalean rosids.

INTRODUÇÃO GERAL

O indumento das plantas é, em sua maioria, constituído de tricomas, conceituados como apêndices de origem epidérmica (Fahn, 1982). Por apresentar uma grande diversidade de formas, podem ser classificados de diversas maneiras. Considerando o aspecto funcionalidade, os tricomas têm sido classificados em tectores ou simples e secretores ou glandulares (Fahn, 1982; Appezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2006).

Os tricomas secretores produzem compostos que permitem que a planta interaja de alguma forma com os fatores bióticos e abióticos do ambiente onde se encontra (Fahn, 1979). São formados por uma porção que está inserida entre as outras células epidérmicas, denominada base, e um segmento que se encontra acima da superfície da epiderme, denominado pedúnculo, que pode ser uni ou pluricelular, uni ou multisseriado, e pode também estar ausente. Na porção apical do tricoma existe uma porção dilatada, denominada cabeça, que pode ser uni a pluricelular. O conteúdo produzido e acumulado no interior das células da cabeça pode atravessar a cutícula por difusão ou poros (Fahn, 1979). As principais funções atribuídas aos compostos produzidos nos tricomas secretores são a defesa da planta contra herbívoros e patógenos e a atração de animais polinizadores e dispersores (Levin, 1973; Fahn, 1979; Souza, 2003). Além disso, estas estruturas se destacam por ser o principal local de produção e acúmulo de produtos naturais utilizados pelo homem (Wagner, 1991).

A maioria das angiospermas possui indumento constituído por tricomas tectores (Theobald, 1979). Dentre elas, destacamos, neste trabalho, as famílias Cannabaceae e Ulmaceae. Ambas as famílias são muito conhecidas popularmente, tanto pelo uso medicinal quanto ornamental de seus representantes.

São famílias incluídas no grande grupo das rosídeas, ordem Rosales. Juntamente com Moraceae e Urticaceae formam o clado urticoide (Fig. 1, Stevens, 2001). As famílias desse clado compartilham características como: flores inconspícuas, presença de cistólitos, cinco estames ou menos e ovário unilocular com um único óvulo apical (Judd *et al.*, 2009).

Figura 1. Cladograma modificado de APG III (Stevens, 2001), mostrando as relações filogenéticas entre as quatro famílias que compõem o clado Urticoide.

Comparadas às outras famílias de rosídeas (Stevens, 2001), Cannabaceae e Ulmaceae não podem ser consideradas ricas em espécies. Cannabaceae compreende 109 espécies (Yang *et al.* 2013) distribuídas por regiões tropicais e temperadas (Judd *et al.*, 2009). Ulmaceae compreende 63 espécies (The Plant List, 2013; Yang *et al.* 2013) com distribuição semelhante (Judd *et al.*, 2009).

A circunscrição dessas duas famílias foi alterada recentemente (Systma *et al.*, 2002). *Celtis* e *Trema*, gêneros anteriormente incluídos em Ulmaceae foram transferidos para Cannabaceae (Yang *et al.*, 2013). Estes gêneros atualmente são os mais ricos em espécies na família (Yang *et al.*, 2013) e são os únicos gêneros que ocorrem naturalmente no Brasil (Forzza *et al.*, 2010). De Ulmaceae apenas *Ampelocera*, *Phyllostylon* (nativos) e *Ulmus* (introduzido) compreendem espécies que ocorrem no Brasil após a atual circunscrição (Souza e Lorenzi, 2005).

Tendo em vista a mudança na circunscrição dessas duas famílias e a utilização dos tricomas secretores na taxonomia de muitos grupos de plantas, o objetivo desse trabalho foi investigar o potencial do estudo morfológico dos tricomas secretores em Cannabaceae e Ulmaceae. Pretende-se, desta forma, compor um conjunto de dados que possa apoiar ou não a nova circunscrição de *Celtis* e *Trema* em Cannabaceae.

Para o tal, este trabalho foi dividido em dois capítulos. O primeiro capítulo visou o estudo da morfologia e da distribuição de tricomas secretores em cinco espécies, sendo duas de Cannabaceae e três de Ulmaceae. Os dados obtidos foram comparados a outras espécies pertencentes ao clado Urticoide. O segundo capítulo teve por foco os tricomas secretores de *Trema micranta*, provendo detalhes sobre sua ontogenia,

ultraestrutura e análise química do exsudato. Os dados obtidos foram comparados, em especial, aos tricomas secretores já registrados em *Cannabis sativa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Appezato-da-Glória, B; Carmello-Guerreiro, SM. (2006). Anatomia vegetal. UFV, Viçosa.
- Fahn, A. (1979). Secretory tissues in plants. Academic Press, New York.
- Fahn, A. (1982). Plant Anatomy. 3a ed. Pergamon Press, Oxford.
- Forzza, RC; Baumgratz, JFA; Bicudo, CDM; Carvalho Júnior, AA; Costa, DP; Martineli, G (2010). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E).
- Judd, WS; Campbell, CS; Kellogg, EA; Stevens, PF & Donoghue, MJ. (2009). Sistemática Vegetal - Um enfoque filogenético. Artemed, Porto Alegre.
- Levin, DA. (1973). The role of trichomes in plant defense. The Quarterly Review of Biology, 48: 3-15.
- Souza, LA. (2003). Morfologia e anatomia vegetal.UEPG, Ponta Grossa.
- Souza, VC; Lorenzi, H. (2005). Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Stevens, PF. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012.
- Sytsma, KJ; Morawetz, J; Pires, JC; Nepokroeff, M; Conti, E; Zjhra, M; Hall, JC & Chase, MW. (2002). Urticalean rosids: circumscription, rosid ancestry, and phylogenetics based on rbcL, trnLF, and ndhF sequences. American Journal of Botany, 89: 1531-1546.
- The Plant List (2013). Version 1.1. Publicado na Internet. <http://www.theplantlist.org/> (acessado 15 de março de 2017)
- Theobald, WL; Krahulink, JL; Rollins, RC. (1979). Trichome descriptions and classification, In: Metcalfe, CR; Chalk, L. (eds.) Anatomy of the Dicotyledons, vol.1. Science Publications, Oxford.
- Wagner, GJ. (1991). Secreting glandular trichomes: more than just hairs. Plant Physiology, 96: 675-679.

Yang, MQ; van Velzen, R; Bakker, FT; Sattarian, A; Li, DZ; & Yi, TS. (2013).
Molecular phylogenetics and character evolution of Cannabaceae. *Taxon*, 62:473-
485.

**CAPÍTULO 1: DISTRIBUIÇÃO E MORFOLOGIA DE TRICOMAS
SECRETORES EM *CELTIS PUBESCENS*, *TREMA MICRANTHA*
(CANNABACEAE) E ESPÉCIES AFINS DE ULMACEAE**

RESUMO

Cannabaceae, juntamente com Moraceae, Ulmaceae e Urticaceae, formam o clado Urticoide, da ordem Rosales. Recentemente dados moleculares modificaram consideravelmente a circunscrição de duas dessas famílias: Cannabaceae e Ulmaceae. Um dos resultados desta nova circunscrição é que gêneros como *Celtis* e *Trema*, que antes compunham a subfamília Celtidoideae em Ulmaceae, estão agora inseridos em Cannabaceae. A fim de levantar dados que possam contribuir com a circunscrição destes grupos, este trabalho comparou a distribuição e morfologia dos tricomas secretores em espécies pertencentes a Cannabaceae (*Celtis pubescens* e *Trema micrantha*) e Ulmaceae (*Ampelocera glabra*, *Phyllostylon rhamnoides* e *Ulmus parvifolia*). Caules jovens e folhas das cinco espécies, juntamente com flores das espécies de Cannabaceae e *Ampelocera glabra* (Ulmaceae) foram coletados, fixados em formalina neutra tamponada e processados para análises de superfície (microscopia eletrônica de varredura) e histológica (microscopia de luz). As duas espécies de Cannabaceae apresentaram diferentes tipos de tricomas secretores. *Celtis pubescens* possui dois morfotipos de tricomas secretores: (1) capitado com pedúnculo multicelular unisseriado e cabeça multicelular multisseriada, e (2) filiforme, com pedúnculo multicelular unisseriado e cabeça unisseriada. *Trema micrantha* possui outros dois morfotipos de tricomas secretores: (1) capitado com pedúnculo multicelular bisseriado e cabeça multicelular multisseriada, e (2) o filiforme com pedúnculo e cabeça multicelulares e bisseriados. As três espécies de Ulmaceae apresentaram um único morfotipo de tricoma, o capitado com pedúnculo unicelular e cabeça com quatro células. Os tricomas secretores ocorrem pelo caule e folhas das cinco espécies estudadas, nas brácteas de *Ampelocera glabra*, no pedicelo e sépalas das duas espécies de Cannabaceae e no pistilo de *Trema micrantha*. Os dados encontrados, comparados aos já existentes na literatura, mostram que Cannabaceae exibe uma grande diversidade morfológica de tricomas secretores, diferente de Ulmaceae, que pode ser caracterizada por um único tipo de tricoma secretor. A morfologia dos tricomas secretores apoia a circunscrição atual, com a remoção de *Celtis* e *Trema* de Ulmaceae.

Palavras-chave: Anatomia, Cannabaceae, clado urticoide, estrutura secretora, Rosales, Ulmaceae.

INTRODUÇÃO

Cannabaceae, a família da canabis e do lúpulo, e Ulmaceae, a família do olmo, são proximamente relacionadas. Constituem, juntamente com Moraceae e Urticaceae, o clado urticoide, inserido na ordem Rosales (Stevens, 2001).

Cannabaceae compreende 10 gêneros e 109 espécies (Yang *et al.* 2013) (Tabela 1), o que representa cerca de 9% dos gêneros e 3% das espécies que formam o clado Urticoide (Stevens, 2001). Seus representantes distribuem-se por regiões tropicais e temperadas (Judd *et al.*, 2009). Podem ser herbáceos, anuais ou perenes, arbustivos ou arbóreos escandentes ou não. Podem ser monoicos ou dioicos. Possui estípulas interpeciolares e livres. As folhas são simples, alternas ou raramente opostas, com base geralmente assimétrica e borda serreada ou serrilhada. As inflorescências são axilares, cimosas com as flores estaminadas agrupadas e as pistiladas frequentemente geminadas ou solitárias. As flores são inconspícuas, actinomorfas monoclamídeas com 4-5 tépalas, livres ou unidas na base. As flores pistiladas são caracterizadas pelo gineceu com dois carpelos, o ovário súpero, unilocular e uniovular com o óvulo apical e anátropo. As flores estaminadas são caracterizadas pela presença de androceu com estames opostos a sépalas e livres entre si, as anteras são rimosas, ditecas, dorsifixas com deiscência longitudinal. Os frutos são drupas, sâmaras ou aquênios (Martins e Pirani, 2009), que são dispersos geralmente por aves atraídas pela polpa doce. A polinização é anemófila (Judd *et al.*, 2009).

A família Ulmaceae compreende sete gêneros e 63 espécies (The Plant List, 2013) (Tabela 1), o que representa cerca de 5% dos gêneros e menos de 1% das espécies que compõem o clado Urticoide (Stevens, 2001). Seus representantes distribuem-se por regiões tropicais e temperadas (Judd *et al.*, 2009). São árvores monoicas ou polígamas (planta que apresenta um único indivíduo com flores perfeitas, flores estaminadas e flores pistiladas), possuem estípulas livres, laterais, persistentes ou caducas. Caracterizam-se pela presença de folhas simples, alternas com as bordas dentadas ou serreadas. As inflorescências são axilares, cimosas, fasciculadas; as flores estaminadas localizam-se na base do ramo e as flores funcionalmente pistiladas no ápice. As flores são actinomorfas, monoclamídeas, tetrâmeras ou pentâmeras, com sépalas geralmente unidas na base. O ovário é súpero, unilocular com óvulo apical. Os frutos podem ser drupa ou sâmara (Pederneiras *et al.*, 2011).

Recentemente, dados moleculares alteraram a circunscrição de Cannabaceae e Ulmaceae (Systma *et al.*, 2002). *Celtis* e *Trema* anteriormente formavam a subfamília Celtidoideae, que estava inserida em Ulmaceae. Com a mudança, estes dois gêneros agora estão situados em Cannabaceae, constituindo os mais ricos em espécies desta família (Yang *et al.*, 2013).

Tabela 1: Lista dos gêneros de Cannabaceae e Ulmaceae, de acordo com a atual circunscrição, e número de espécies de cada gênero (entre parênteses).

Cannabaceae	Ulmaceae
<i>Aphananthe</i> (5)	<i>Ampelocera</i> (12)
<i>Cannabis</i> (1)	<i>Hemiptelea</i> (1)
<i>Celtis</i> (73)	<i>Holoptelea</i> (1)
<i>Chaetachme</i> (1)	<i>Phyllostylon</i> (2)
<i>Gironniera</i> (6)	<i>Planera</i> (1)
<i>Humulus</i> (3)	<i>Ulmus</i> (40)
<i>Lozanella</i> (2)	<i>Zelkova</i> (6)
<i>Parasponia</i> (5)	
<i>Pteroceltis</i> (1)	
<i>Trema</i> (12)	

Os gêneros *Celtis* e *Trema* compreendem 73 e 12 espécies, respectivamente (Yang *et al.*, 2013) e são os únicos com espécies que ocorrem naturalmente no Brasil (Romaniuc Neto *et al.*, 2013). Com a atual circunscrição, os únicos gêneros de Ulmaceae que ocorrem naturalmente no Brasil são *Ampelocera* e *Phyllostylon* (Souza e Lorenzi, 2005).

Tricomas, secretores e tectores, possuem uma grande importância nas investigações sistemáticas, sendo que o número de espécies de angiospermas que são totalmente desprovidas de tricomas é uma minoria. A identificação adequada de tricomas requer a averiguação de aspectos importantes como a morfologia externa, a anatomia e a composição do exsudato (Theobald *et al.* 1979).

Tricomas secretores são apêndices epidérmicos (Esau, 1977) responsáveis pela produção dos próprios compostos liberados (Fahn, 1979). São formados por uma porção que está inserida entre as outras células epidérmicas, denominada de base, e um segmento que se encontra acima da superfície da epiderme, denominado pedúnculo, que

pode ser uni ou pluricelular, uni ou multisseriado, e pode também estar ausente. Na porção apical do tricoma existe uma cabeça secretora, que pode ser uni a pluricelular. O conteúdo produzido e acumulado no interior da cabeça pode atravessar a cutícula por difusão ou poros (Fahn, 1979). Uma das principais funções dos tricomas secretores é a defesa da planta contra herbívoros e patógenos (Levin, 1973; Souza, 2003). Além disso, estas estruturas se destacam por ser o principal local de produção e acúmulo de produtos naturais utilizados pelo homem (Wagner, 1991).

Tricomas secretores exibem grande diversidade de tipos morfológicos, de composição química do exsudato e distribuição pelo corpo vegetal (Fahn, 1979). Por isso, apresentam um grande valor taxonômico, seja diagnóstico ou unificador (Gangadhara e Inamdar, 1977; Fahn, 1979, 1992; Teixeira, 2003).

O estudo cuidadoso da morfologia e da distribuição dos tricomas pode produzir pistas importantes sobre famílias, gêneros, tribos e suas relações (Dickinson, 2000). Existem famílias como Lamiaceae e Urticaceae que são caracterizadas pela presença de um morfotipo característico de tricoma secretor (Metcalf e Chalk, 1950, apud Theobald *et al.*, 1979).

Tricomas secretores de morfologias diversas já foram relatados em espécies de todas as famílias do clado Urticoide: para Cannabaceae, ver Hammond e Mahlberg (1973), (1977), Gangadhara e Inamdar (1977), Tobe e Takaso (1996), St-Laurent *et al.* (2000); para Moraceae, ver Shah e Kachroo (1975), Gangadhara e Inamdar (1977), Hardin (1981), Azizian (2002), Jacomassi *et al.* (2010), São-José e Romaniuc- Neto (2016), Schnetzler *et al.* (2017); para Ulmaceae, ver Gangadhara e Inamdar (1977), Tobe e Takaso (1996), Wang *et al.* (2001); e para Urticaceae, ver Nicharat e Gillett (1970), Gangadhara e Inamdar (1977), Fu *et al.* (2003), Fernandez *et al.* (2011), Kadiri *et al.* (2011).

Com base na literatura disponível, pode-se concluir que existe uma necessidade de ampliar os estudos sobre tricomas secretores em representantes de Cannabaceae e Ulmaceae, principalmente quanto à distribuição e morfologia. Além disso, a comparação dos tricomas secretores presentes em espécies de Cannabaceae, anteriormente situadas na família Ulmaceae, a espécies atualmente posicionadas em Ulmaceae, poderia apoiar ou não o posicionamento atual de *Celtis* e *Trema* em Cannabaceae.

OBJETIVOS

Os objetivos desse trabalho foram comparar a distribuição e morfologia dos tricomas secretores de espécies de Cannabaceae (*Celtis pubescens* (Kunth) Spreng. e *Trema micrantha* (L.) Blume) a espécies de Ulmaceae (*Ampelocera glabra* Kuhl., *Phyllostylon rhamnoides* (J.Poiss.) Taub. e *Ulmus parvifolia* Jacq.). Os dados levantados foram comparados aos existentes na literatura para outras espécies de *Celtis* e *Trema* (Gangadhara e Inamdar, 1977), *Cannabis sativa* (Furr e Mahlberg, 1981) e *Humulus lupulus* (Kim e Mahlberg, 2000), de forma a compor um conjunto de características que possam apoiar ou não o posicionamento de *Celtis* e *Trema* em Cannabaceae e, assim, auxiliar a delimitação taxonômica das duas famílias no clado Urticoide.

MATERIAIS E MÉTODOS

Espécies estudadas

Foram estudadas cinco espécies: *Celtis pubescens*, *Trema micrantha* (Cannabaceae), *Ampelocera glabra*, *Phyllostylon rhamnoides* e *Ulmus parvifolia* (Ulmaceae).

Celtis pubescens (Cannabaceae) está amplamente distribuída na América (Lorenzi e Souza, 1999). Seus representantes são árvores monoicas, com espinhos retos, solitários, simples. As folhas são alternas, coriáceas, com margens serradas e com estípulas intrapeciolares, livres. As inflorescências são cimeiras axilares (Martins e Pirani, 2009). As flores são inconspícuas, perfeitas ou andromonóicas com pedicelo curto, cinco sépalas verdes e cinco estames. Os frutos são drupas pouco carnosas.

Trema micrantha (Cannabaceae) está amplamente distribuída na região Neotropical (Carauta, 1974). Seus representantes são árvores, arvoretas ou subarbustos, dioica, possui caule verrucoso. As estípulas são persistentes e caducas (Pederneiras, 2011). As folhas são lanceoladas, membranáceas, com ápice longo-acuminado, base oblíqua, as margens são serradas, as nervuras principal e secundária são proeminentes. As inflorescências são cimeiras, com flores inconspícuas, pentâmeras, com sépalas elípticas a lanceoladas de coloração esverdeada. As flores estaminadas são globosas, com cinco estames, filetes curvos no botão e retos após antese. As flores pistiladas são oval com perianto semelhante ao das flores estaminadas, ovário súpero e estiletes

bífidos persistentes no fruto. Os frutos são drupas globosas e as sementes são globosas, rugosas e enrijecidas (Martins e Pirani, 2009).

Ampelocera glabra (Ulmaceae) ocorre na floresta Atlântica. Seus representantes são árvores, monoica, apresenta estípulas glabras. As folhas são elípticas, coriáceas, com a base arredondada e ápice agudo, com bordas inteiras e inconspicuamente dentada no ápice. As inflorescências são geminadas com três flores por cimeira. As flores são perfeitas e possuem cinco tépalas, 10 estames livres, com ovário súpero, o estigma é filamentoso no botão. Os frutos são ovóides, glabros e assimétricos de coloração esverdeada (Pederneiras, 2011).

Phyllostylon rhamnoides (Ulmaceae) ocorre no México, Colômbia, Venezuela e Brasil. Seus representantes são árvores ou arbustos, monoicos. As folhas são elípticas, ovadas, com as margens inteiras ou serradas, com estípulas pequenas, lanceoladas e caducas. As inflorescências são em fascículos carregados nas axilas das folhas, geralmente aparecendo após as folhas terem caído; as flores inferiores são estaminadas e as flores superiores são perfeitas. As flores estaminadas possuem cinco estames. As flores perfeitas possuem dois estiletes desiguais. Os frutos são sâmaras (Todzia, 1992).

Ulmus parvifolia (Ulmaceae) é nativa da China, da Coreia e do Japão (Fu e Xin, 2000), no Brasil é uma espécie introduzida (Souza e Lorenzi, 2005). Seus representantes são árvores monoicas, decíduas de tamanho médio, copa arredondada. As folhas são alternas e serradas, com coloração verde brilhante, no outono as folhas geralmente tornam um amarelo indistinto, mas às vezes produzem folhas com amarelos mais fortes ou roxos avermelhados. As inflorescências são cimosas. As flores são perfeitas, inconspícuas e avermelhadas (Fu e Xin, 2000) e com quatro tépalas (Wu *et al.*, 2003). Os frutos são pequenas sâmaras (Fu e Xin, 2000).

Coleta do material

Amostras de caule e folhas jovens (pecíolo e lâmina foliar) das cinco espécies e flores em pré-antese e antese das espécies de Cannabaceae e de *Ampelocera glabra* (Ulmaceae) foram coletadas em diferentes localidades entre os anos de 2015 e 2017 (Tabela 2). Ramos férteis foram coletados para confecção de material testemunha e depósito no herbário SPFR da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/ USP (Tabela 2).

Tabela 2. Relação das espécies estudadas e seus respectivos coletores, voucher, local e data de coleta.

Espécies	Coletor	Voucher	Local de coleta	Data de coleta
<i>C. pubescens</i>	F. M Leme 98	SPFR 16046	Ribeirão Preto/SP	VI/15 a II/17
<i>T. micrantha</i> (indivíduo com flores pistiladas)	F. M. Leme 97, 101	SPFR 16306, 15958	Ribeirão Preto/SP	VI/16 a III/17
<i>T. micrantha</i> (indivíduo com flores estaminadas)	F. M Leme e I. C. Nascimento 94	SPFR 15957	Ribeirão Preto/SP	VI/15 a X/16
<i>A. glabra</i>	F. M. Leme 102, 112	SPFR 16049, 16048	Jussari/BA	VI/15 e I/16
<i>P. rhamnoides</i>	F. M. Leme 109	SPFR 16307	Nioaque/MS	X/15
<i>U. parvifolia</i>	F. M Leme e I. C. Nascimento	Coleção em álcool do Lab. de Botânica da FCFRP.	Ribeirão Preto/SP	XII/15

As amostras foram fixadas em FNT (formalina neutra tamponada; Lillie 1965), por 24 horas, lavadas em água e desidratadas em série etanólica até 70% em que ficaram armazenadas.

Análise de superfície

A distribuição e morfologia externa dos tricomas secretores foram estudadas com o auxílio de estereomicroscópio e microscópio eletrônico e varredura (MEV).

Para as análises de superfície (MEV), amostras de 1 cm², previamente fixadas, foram desidratadas em séries etanólicas até álcool absoluto e submetidas à secagem em ponto crítico de CO₂, utilizando-se equipamento Bal Tec CPD030. As amostras foram montadas em suportes metálicos e cobertas com ouro em metalizador Bal Tec SCD050. A análise e a captura de imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 6610LV.

Análise anatômica

A morfologia interna (anatomia) foi estudada em microscopia de luz (ML). Para tal, amostras previamente fixadas foram desidratadas em séries etanólicas até álcool absoluto, incluídas em metacrilato (Historesin, Leica) e seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo (Leica RM2245), com espessura variando de 3 a 6 µm. Os cortes obtidos foram corados com azul de toluidina 0,05% em pH 4,4 ou

5,8 (O'Brien *et al.* 1964) e com Sudan III e Sudan Black B (Pearse, 1972) para a observação de cutina e suberina nas paredes celulares.

Classificação dos tricomas secretores

A classificação dos tricomas secretores seguiu Payne (1978).

RESULTADOS

Foram encontrados cinco morfotipos diferentes de tricomas secretores nas espécies estudadas: dois em *Celtis pubescens*, dois em *Trema micrantha* e um único morfotipo nas três espécies de Ulmaceae. Todos os tricomas secretores encontrados são cuticularizado.

***Celtis pubescens* (Cannabaceae)**

Morfotipo I: Capitado, curvo, possui pedúnculo unisseriado, que pode conter de quatro a oito células, e a cabeça pluricelular com cerca de quatro a seis células (Figs. 1A, 1B e 1C). A liberação do exsudato ocorre por meio de vesículas caracterizando secreção granulócrica, pois não há indício de degradação das células secretoras do tricoma (Fig. 1D).

Este morfotipo foi encontrado no caule jovem, pecíolo, em ambas as faces da lâmina foliar (Fig. 1E), no pedicelo (Fig. 1F) e na face abaxial das sépalas. (Tabela 3).

Morfotipo II: Filiforme, curvo, com pedúnculo unisseriado de seis a 10 células e cabeça unisseriada. Não há distinção nítida entre o pedúnculo e a cabeça (Figs. 2A e 2B).). A liberação do exsudato ocorre por meio de vesículas caracterizando secreção granulócrica, pois não há indício de degradação das células secretoras do tricoma (Fig. 2C).

Este morfotipo está presente no caule jovem, pecíolo, em ambas as faces da lâmina foliar (Fig. 2D), predominando na face abaxial e na nervura central, no pedicelo (Fig. 2E) e na face abaxial das sépalas (Tabela 3).

Figura 1. Tricomas secretores capitados de *Celtis pubescens* (Cannabaceae). A. Morfologia do tricoma capitado com pedúnculo unisseriado e cabeça multicelular (MEV). B. Anatomia do tricoma capitado (ML). C. Detalhe da cabeça multisseriada e multicelular do tricoma capitado (ML). D. Detalhe da cabeça do tricoma após a liberação do exsudato. E. Distribuição dos tricomas capitados pela lâmina foliar na face abaxial (MEV). F. Presença do tricoma capitado no pedicelo da flor (MEV). C: Cabeça; P: pedúnculo; * Tricoma capitado.

Figura 2. Tricomas secretores filiformes de *Celtis pubescens* (Cannabaceae). A. Morfologia do tricoma filiforme com pedúnculo unisseriado e cabeça unicelular (MEV). B. Anatomia do tricoma filiforme (ML). C. Detalhe da cabeça do tricoma filiforme após a liberação do exsudato (MEV). D. Distribuição dos tricomas pela lâmina foliar na região da nervura central na face abaxial (MEV). E. Tricoma capitado no pedicelo da flor (MEV). C: Cabeça; P: pedúnculo, *: Tricomas filiformes.

***Trema micrantha* (Cannabaceae)**

Morfotipo III: Capitado, curvo, pedúnculo bisseriado, cada série com quatro a seis células, a cabeça é pluricelular, com cerca de seis a oito células (Figs. 3A e 3B).

A liberação do exsudato ocorre por meio de vesículas caracterizando secreção granulócrina, pois não há indício de degradação das células secretoras do tricoma (Fig. 3C).

Os tricomas capitados estão presentes no caule jovem, pecíolo, em ambas as faces da lâmina foliar, predominando na face abaxial e na nervura central (Fig. 3D), no pedicelo (Fig. 3E) e na face abaxial das sépalas (Tabela 3).

Morfotipo IV: Filiforme, curvo, pedúnculo bisseriado, com seis a oito células em cada série, cabeça bisseriada e multicelular. Não há distinção nítida entre o pedúnculo e a cabeça (Figs. 4A e 4B).

A liberação do exsudato ocorre por meio de vesículas caracterizando secreção granulócrina, pois não há indício de degradação das células secretoras do tricoma (Fig. 4C).

Os tricomas filiformes estão presentes no caule jovem, pecíolo, em ambas as faces da lâmina foliar, predominando na face abaxial e na nervura central (Fig. 4D), no pedicelo (Fig. 4E) e na face abaxial das sépalas (Tabela 3).

Figura 3. Tricomas secretores capitados de *Trema micrantha* (Cannabaceae). A. Morfologia do tricoma capitado com pedúnculo bisseriado e multicelular e cabeça multicelular e multisseriada (MEV). B. Anatomia do tricoma capitado (ML). C. Detalhe da cabeça do tricoma capitado após a liberação do exsudato (MEV). Note que há rompimento das células da cabeça. D. Distribuição dos tricomas pela lâmina foliar na região da face adaxial (MEV). E. Distribuição dos tricomas capitados no pedicelo da flor em meio aos tricomas tectores (MEV). C: Cabeça; P: pedúnculo; *: Tricomas capitados.

Figura 4. Tricomas secretores filiformes de *Trema micrantha* (Cannabaceae). A. Morfologia do tricoma filiforme com pedúnculo bisseriado e cabeça bisseriada (MEV). B. Anatomia do tricoma filiforme (ML). C. Detalhe do tricoma filiforme em processo de liberação do exsudato. Note que as células que separam a cabeça do pedúnculo perdem a turgidez antes das células da cabeça (MEV). D. Distribuição dos tricomas secretores pela lâmina foliar em meio aos tricomas tectores (MEV). E. Distribuição dos tricomas filiformes no pedicelo da flor (MEV). C: Cabeça; P: pedúnculo; *: Tricomas filiformes.

***Ampelocera glabra*, *Phyllostylon rhamnoides* e *Ulmus parvifolia* (Ulmaceae)**

Estas espécies exibem um único morfotipo de tricoma secretor.

Morfotipo V: Capitado, ereto, com pedúnculo unicelular e cabeça com quatro células (Figs. 5A, 5C, 5D e 5F).

Em *Ampelocera glabra* os tricomas secretores estão presentes no caule, pecíolo, lâmina foliar em ambas as faces (Fig. 5B) e nas brácteas; em *Phyllostylon rhamnoides* e *Ulmus parvifolia*, estão presentes no caule, pecíolo e na lâmina foliar em ambas as faces (Figs. 5E, 5G) (Tabela 3).

Figura 5. Tricomas secretores capitados em espécies de Ulmaceae. A-C. *Ampelocera glabra*. A. Morfologia do tricoma capitado mostrando o pedúnculo unicelular e a cabeça com quatro células (MEV). B. Distribuição dos tricomas capitados pela lâmina foliar na face abaxial (MEV). C. Anatomia do tricoma capitado. (ML). D-E. *Phyllostylom rhamnoides*. Morfologia do tricoma capitado mostrando o pedúnculo unicelular e a cabeça com quatro células (MEV). E. Distribuição dos tricomas capitados pela lâmina foliar na face abaxial (MEV). F-G. *Ulmus parvifolia*. Morfologia do tricoma capitado mostrando pedúnculo unicelular e cabeça com quatro células (MEV). G. Distribuição dos tricoma capitado pela lâmina foliar face abaxial (MEV). C: Cabeça; P: pedúnculo; *: Tricomas capitados. (Fotos: Leme, FM.).

Tabela 3: Distribuição e tipos de tricomas secretores encontrados nas cinco espécies estudadas de Cannabaceae e Ulmaceae. Símbolos: + = presente; - = ausente; célula vazia = sem informação.

Espécie	<i>Celtis pubescens</i>		<i>Trema micrantha</i>		<i>Ampelocera glabra</i>	<i>Phyllostylom rhaminoides</i>	<i>Ulmus parvifolia</i>
Órgão	I	II	III	IV	V	V	V
Caule	+	+	+	+	+	+	+
Pecíolo	+	+	+	+	+	+	+
Limbo	+	+	+	+	+	+	+
Pedicelo	+	+	+	+			
Sépala	+	+	+	+	-		
Estame	-	-	-	-	-		
Pistilo	+	-	+	-	-		

DISCUSSÃO

Nossos dados, agrupados aos da literatura (ver Tabela 4), mostram que há uma grande diversidade morfológica de tricomas secretores em Cannabaceae e pequena diversidade em Ulmaceae. Importante ressaltar que há morfotipos diferentes inclusive ocorrendo no mesmo órgão em Cannabaceae (Tabela 4). No entanto, difícil tecer considerações para explicar tal diferença nas duas famílias, se tal fato estaria relacionado a diferenças na composição química do exsudato dos tricomas secretores de cada família, na necessidade de proteção de órgãos em espécies com portes muito distintos, como ocorre em Cannabaceae (árvores, arbustos, ervas ou lianas (Judd, 2009), ou à maior riqueza em espécies de Cannabaceae. 12 diferentes morfotipos de tricomas secretores são identificados em Cannabaceae (Hammond & Mahlberg, 1973; 1977 Gangadhara & Inamdar, 1977; Oliveria *et al.*, 1988; Tobe & Takaso, 1996), um número bastante expressivo se comparado a outras famílias do clado urticoide (Tabela 4) e demais angiospermas (Teixeira, 2013).

Importante atentar para diferenças encontradas na aplicação de termos para a avaliação da diversidade morfológica de tricomas. Tricomas capitados como os encontrado em todas as espécies aqui estudadas são encontrados na literatura com os nomes de bulboso com cabeça esférica e peltado com cabeça achatada (Sugiyama *et al.*, 2006). Tricomas sem distinção aparente entre o pedúnculo e a cabeça, considerados no

presente estudo como filiformes podem ser encontrados na literatura como clavado curto, quando o tricoma é composto apenas de quatro células linearmente ligadas e clavado longo, quando o tricoma é composto por mais de quatro células (Tobe e Takaso, 1996).

O dado inédito de nosso estudo é o morfotipo capitado encontrado em *Trema micrantha*. Neste morfotipo (capitado) e no morfotipo filiforme o pedúnculo é bisseriado, condição raramente encontrada em Cannabaceae (Tobe & Takaso, 1996) e mesmo em todo o clado urticoide, com registros apenas para *Cannabis sativa* (Dayanandan & Kaufman, 1976; Hammond & Mahlberg, 1977,1978) e *Humulus lupulus* (Oliveira e Pais, 1988). Os dois morfotipos encontrados em *Celtis pubescens* (Gangadhara & Inandar, 1977; Tobe & Takaso, 1996), assim como o morfotipo filiforme de *Trema micrantha* (Blat and Kachroo, 1979, apud Tobe & Takaso, 1996) já foram relatados anteriormente.

A distribuição ampla de tricomas secretores no corpo vegetal de espécies do clado urticoide (folha: Tobe e Takaso, 1996; presente estudo; caule: Shah e Kachroo, 1975; presente estudo; órgãos florais: Tobe e Takaso, 1996; Sugiyama *et al.*, 2006; Schnetzler *et al.* 2017; presente estudo; Tabela 4) deve estar relacionada à produção de compostos químicos que atuam na proteção da planta contra a herbivoria (Loe *et al.*, 2007). Tal inferência é apoiada pelo fato da maioria das espécies deste clado ser polinizada pelo vento (Judd *et al.*, 2009), o que significa que os tricomas secretores não estariam envolvidos com a atração de animais polinizadores.

A defesa contra herbivoria já foi relatada anteriormente para *Cannabis sativa* e sugere que a ação dos compostos secretados pelos tricomas ocorre quando o herbívoro rompe as células da cabeça do tricoma. Em alguns casos os compostos liberados podem aprisionar pequenos insetos e, no caso de insetos maiores, os tricomas podem liberar substâncias pegajosas com odor e/ou sabor desagradáveis, o que desencorajaria a herbivoria (Small e Naraine, 2016).

A morfologia e a distribuição diversas de tricomas secretores propicia sua utilização na sistemática de grupos, em especial na diagnose de gêneros (Narayana, 1979; Adedeji *et al.*, 2007) ou mesmo de famílias, como Lamiaceae e Urticaceae (Metcalfe e Chalk, 1950, apud Theobald *et al.*, 1979).

O morfotipo encontrado nas espécies estudadas de Ulmaceae já havia sido relatado para outras espécies desta família (Tobe & Takaso, 1996; Tabela 4), sendo, portanto, uma condição unificadora para o grupo. No entanto, deve-se atentar para o

fato de que espécies de Moraceae, uma família próxima a Ulmaceae, exibem tricomas secretores semelhantes, com cabeça multicelular, sem um número fixo de células (Schnetzler *et al.* 2017). Este dado indica que o morfotipo encontrado em Ulmaceae não pode ser considerado uma sinapomorfia para esta família.

Interessante observar que os tricomas secretores capitados aqui descritos para as espécies de Cannabaceae e Ulmaceae são muito diferentes, sendo os de Ulmaceae muito menores, principalmente por apresentarem pedúnculo unicelular ou bicelular. As diferenças observadas nos tipos de tricomas secretores presentes nas espécies destas duas famílias apoiam Systma *et al.* (2002), que alteraram a circunscrição de *Celtis* e *Trema*, incluindo-os em Cannabaceae. Porém, a falta de homogeneidade nos termos e nas descrições dificulta inferências sobre o valor taxonômico dos tricomas secretores, em especial, para Cannabaceae. Desta forma, é essencial que esforços sejam realizados no sentido de melhorar a caracterização morfológica e unificar os termos utilizados nas descrições dos tricomas secretores, em especial, em famílias do clado urticoide.

Tabela 4: Distribuição taxonômica dos tipos de tricomas secretores encontrados em espécies do clado urticoide. Símbolo: ? = dado não encontrado.

Espécies	Morfologia	Órgão de ocorrência	Referência bibliográfica
Cannabaceae			
<i>Cannabis sativa</i> L.	3 tipos: (1) bulboso que pode conter uma porção secretora com 1, 2 ou 4 células, com uma base com 1 ou 2 células e uma porção intermediária com 1 ou 2 células; (2) capitado séssil com cabeça globosa; e (3) capitado com pedúnculo multisseriado	Folha, flor	Hammond e Mahlberg (1973)
	2 tipos capitado: (1) pedúnculo unicelular e cabeça unicelular; e (2) com pedúnculo multisseriado e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
	3 tipos: (1) bulboso que pode conter uma porção secretora com 1, 2 ou 4 células, com uma base com 1 ou 2 células e uma porção intermediária com 1 ou 2 células; (2) capitado séssil com cabeça globosa; e (3) capitado com pedúnculo multisseriado	Bráctea	Hammond e Mahlberg (1977)
<i>Celtis australis</i> L.	Peltado constituído por 8-14 células e cabeça achatada	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Celtis boninensis</i> Koidz.	2 tipos constituído de 5-10 células: (1) capitado com a cabeça esférica; e (2) clavato, com células lineares	Folha	Tobe e Takaso (1996)
<i>Celtis pubescens</i> Spreng.	2 tipos: (1) capitado com pedúnculo cabeça multisseriada e pedúnculo unisseriado com mais de 6 células; e (2) filiforme sem distinção entre as células da cabeça e do pedúnculo constituído com o pedúnculo e cabeça unisseriado com mais de 10 células	Caule, folha, flor	Presente estudo
<i>Celtis sinensis</i> Pers.	Clavato longo constituído por 4-12 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Celtis spinosa</i> Spreng.	Clavato longo constituído por mais de 4 células lineares	Folha	Tobe e Takaso (1996)
<i>Celtis</i> sp.	2 tipos: (1) capitado com pedúnculo unisseriado e cabeça unicelular; e (2) cabeça unisseriada e pedúnculo unisseriado	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Chaetachme aristata</i> E. Mey. ex Planch.	Clavato com pedúnculo e cabeça bisseriados	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Gironniera celtidifolia</i> Gaudich.	Capitado com cabeça esférica	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Gironniera subaequalis</i> Planch.	Capitado constituído por 3-4 células e cabeça esférica	Ovário	Tobe e takaso (1996)
<i>Gironniera nervosa</i> Planch.	Capitado constituído por 5-6 células e cabeça esférica	Folha	Tobe e Takaso (1996)

<i>Lozanella enantiophylla</i> (Donn. Sm.) Killip & C.V. Morton	Clavato curto constituído por 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Lozanella permollis</i> Killip & C.V. Morton	2 tipos: (1) clavato curto com 4 células lineares; e (2) clavato longo constituído de 4-6 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Parasponia rigida</i> Merr. & Perry	Clavato longo constituído por 7-9 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Pteroceltis tatarinowii</i> Maxim.	Clavato longo constituído por mais de 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Trema lamarckiana</i> (Roem. & Schult.) Blume	Clavato longo constituído por mais de 4 células lineares	Folha	Tobe e Takaso (1996)
<i>Trema micrantha</i> (L.) Blume	Clavato longo constituído por 11-17 células lineares com pedúnculo e cabeça bisseriados	Folha	Tobe Takaso (1996)
	2 tipos: (1) capitado com pedúnculo bisseriado e cabeça multicelular, constituído por mais de 10 células; e (2) filiforme sem distinção entre as células da cabeça e do pedúnculo constituído por pedúnculo e cabeça bisseriados	Folha, caule, flor	Presente estudo
<i>Trema orientalis</i> (L.) Blume	3 tipos capitado: (1) pedúnculo unisseriado e cabeça unicelular; (2) pedúnculo unisseriado e cabeça bicelular; e (3) pedúnculo unisseriado e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamda, (1977)
	?	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996).
<i>Trema politoria</i> (Planch.) Blume	Pedúnculo bisseriado	?	Bhat e Kachroo (1979) apud Tobe e Takaso (1996)
<i>Humulus lupulus</i> L.	3 tipos: (1) peltado com 4 células basais, 4 células no pedúnculo e uma cabeça achatada; (2) peltado com cabeça achatada; e (3) bulboso 4 células na cabeça	Bractéola, folha	Sugiyama <i>et al.</i> (2006)
Moraceae			
<i>Artocarpus communis</i> J.R. Forst. & G. Forst.	Cabeça achatada e pedúnculo “enterrado” na epiderme	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Artocarpus integra</i> Merr.	Cabeça achatada e pedúnculo “enterrado” na epiderme	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)

<i>Artocarpus lakoocha</i> Wall. ex Roxb.	Cabeça achatada e pedúnculo “enterrado” na epiderme	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	2 tipos: (1) peltado com 6 células radiais na cabeça; e (2) capitado com oito células na cabeça, sendo 4 na parte superior e 4 na inferior. Ambos possuem pedúnculo curto e unicelular	Folha, inflorescência pistilada, inflorescência estaminada	Schnetzler <i>et al.</i> (2017)
<i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul	Peltado com pedúnculo bicelular	Pedúnculo da inflorescência	Jacomassi <i>et al.</i> (2010)
<i>Broussonetia papyrifera</i> (L.) L'Hér. ex Vent.	2 tipos: (1) esférico com pedúnculo unisseriado e cabeça esférica; e (2) peltado com pedúnculo unisseriado e cabeça achatada	Folha	Shah e Kachroo (1975)
	Bulboso, cabeça com 1 ou pouco células e pedúnculo curto.	Folha	Hardin (1981)
<i>Dorstenia arifolia</i> Lam.	Glandular com cabeça esférica e pedúnculo curto	Órgãos vegetativos e reprodutivos	São-José e Romaniuc-Neto (2016)
<i>Dorstenia cayapia</i> Vell.	Capitado com duas células na cabeça e uma no pedúnculo	Folha, inflorescência pistilada, inflorescência estaminada, flor estaminada	Schnetzler <i>et al.</i> (2017)
<i>Dorstenia indica</i> Wight	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça bicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Ficus asperrima</i> Roxb.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça bicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Ficus carica</i> L.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça unicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
	Capitado com cabeça alongada com 4 células e pedúnculo unicelular	Folha	Azizian (2002)
<i>Ficus heterophylla</i> L. f.	3 tipos capitado: (1) pedúnculo unicelular e cabeça unicelular; (2) com pedúnculo unicelular e cabeça bicelular; e (3) com pedúnculo unicelular e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)

<i>Ficus hispida</i> L. f.	3 tipos capitado: (1) pedúnculo unicelular e cabeça unicelular; (2) com pedúnculo unicelular e cabeça bicelular; e (3) com pedúnculo unicelular e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Ficus johannis</i> Boiss.	Geralmente com cabeça esférica de 4-16 células e pedúnculo com 1-2 células	Folha	Azizian (2002)
<i>Ficus racemosa</i> L.	3 tipos capitado: (1) pedúnculo unicelular e cabeça bicelular; (2) com pedúnculo unicelular e cabeça multicelular; e (3) pedúnculo bicelular e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Ficus religiosa</i> L.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça unicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Ficus repens</i> Hook. ex Miq.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Maclura pomifera</i> (Raf.) C.K. Schneid.	Bulboso com cabeça com 1 à poucas células e pedúnculo curto	Folha	Hardin (1981)
	Capitado com cabeça com 2-4 células e pedúnculo curto unicelular	Folha	Azizian (2002)
<i>Maclura tinctoria</i> (L.) D. Don ex Steud.	Capitado com 8 células na cabeça (4 na parte superior e 4 na parte inferior) e pedúnculo unicelular	Folha, caule	Schnetzler <i>et al.</i> (2017)
<i>Morus alba</i> L.	2 tipos capitado: (1) pedúnculo unicelular e cabeça bicelular; e (2) pedúnculo unicelular e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
	Bulboso com cabeça com 1 à poucas células e pedúnculo curto	Folha	Hardin (1981)
	Capitado pedúnculo unisseriado curto com 1-2 células e a cabeça alongada com 2-4 células	Folha	Azizian (2002)
<i>Morus microphylla</i> Buckley	Bulboso com cabeça com 1 à poucas células e pedúnculo curto	Folha	Hardin (1981)
<i>Morus nigra</i> L.	Bulboso com cabeça com 1 à poucas células e pedúnculo curto.	Folha	Hardin (1981)
	Capitado com pedúnculo curto e unicelular e a cabeça esférica com 2 células	Folha	Azizian (2002)
<i>Morus rubra</i> L.	3tipos: (1) bulboso com cabeça com 1 a poucas células e pedúnculo curto; (2) capitado com a cabeça esférica séssil, e (3) capitado com a cabeça esférica e pedúnculo curto	Folha	Hardin (1981)

<i>Sorocea bonplandii</i> (Baill.) W.C. Burger, Lanj. & Wess. Boer	Capitado com oito células na cabeça (4 na parte superior e 4 na parte inferior) e pedúnculo unicelular	Folha, caule, inflorescência pistilada, inflorescência estaminada, flor pistilada, flor estaminada	Schnetzler <i>et al.</i> (2017)
	Cabeça esférica	Folha	Shah e Kachroo (1975)
<i>Streblus asper</i> . Lour.	2 tipos capitado: (1) pedúnculo unicelular e cabeça bicelular; e (2) pedúnculo unicelular e cabeça multicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
Ulmaceae			
<i>Ampelocera edentula</i> Kuhlman.	?	Ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Ampelocera glabra</i> Kuhlman.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça com 4 células	Folha, caule, bráctea	Presente estudo
<i>Ampelocera ruizii</i> Klotzsch	2 tipos composto de 5-10 células: (1) capitado com cabeça esférica; e (2) clavato longo composto por células lineares	Folha	Tobe e Takaso (1996)
<i>Aphananthe áspera</i> (Thunb.) Planch.	Clavato longo composto por 5-9 células lineares	Folha,ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Aphananthe cuspidata</i> (Blume) Planch.	?	Ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Aphananthe monoica</i> (Hemsl.)	Peltado, cabeça achatada	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)

J.-F. Leroy			
<i>Hemiptelea davidii</i> (Hance) Planch.	Clavato curto com 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Holoptelea integrifolia</i> Planch.	Clavato curto com 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
	2 tipos capitado: (1) pedúnculo unisseriado e cabeça unicelular; e (2) capitado com pedúnculo unisseriado e cabeça bicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Phyllostylon brasiliense</i> Capan. ex Benth. & Hook. f.	Clavato curto com 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Phyllostylon rhamnoides</i> (J. Poiss.) Taub.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça com 4 células	Folha, Caule	Presente estudo
<i>Planera aquatica</i> J. F. Gmel.	Clavato curto com 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Ulmus davidiana</i> Planch.	Clavato curto com 4 células lineares	Ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Ulmus laciniata</i> (Trautv.) Mayr	Clavato curto com 4 células lineares	Ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Ulmus parvifolia</i> Jacq.	Clavato curto compreendendo de 3-4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça 4 células	Folha, caule, bráctea	Presente estudo
<i>Zelkova schneideriana</i> Hand. Mazz.	Clavato curto com 4 células lineares	Ovário	Tobe e Takaso (1996)
	Capitado com pedúnculo longo	Folha	Wang <i>et al.</i> (2001)
<i>Zelkova serrata</i> (Thunb.) Makino	Capitado com pedúnculo longo	Folha	Wang <i>et al.</i> (2001)
	Clavato curto com 4 células lineares	Folha, ovário	Tobe e Takaso (1996)
<i>Zelkova sinica</i> C.K. Schneid.	Capitado com pedúnculo longo	Folha	Wang <i>et al.</i> (2001)
Urticaceae			
<i>Boehmeria caudata</i> Sw.	Capitado com pedúnculo unicelular e a cabeça pode variar no número de células de 1-2 ou 4 células	Folha	Fernandez <i>et al.</i> (2011)

<i>Laportea</i> sp.	Multicelular	Folha	Kadiri <i>et al.</i> (2011)
<i>Dendrocnide meyeniana</i> (Walp.) Chew	Capitado com quatro células na cabeça	Folha	Fu <i>et al.</i> (2003)
<i>Fleurya interrupta</i> (L.) Gaudich.	3 tipos: (1) capitado com pedúnculo unicelular e cabeça unicelular; (2) capitado com pedúnculo unicelular e cabeça bicelular; e (3) urticante sobre uma emergência	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Girardinia diversifolia</i> (Link) Friis	Capitado com quatro células na cabeça e pedúnculo curto	Folha	Fu <i>et al.</i> (2003)
<i>Pouzolzia zeylanica</i> (L.) Benn. & R. Br.	Capitado com pedúnculo unicelular e cabeça bicelular	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Urtica dioica</i> L.	3 tipos: (1) capitado pedúnculo unicelular e cabeça unicelular, (2) capitado com pedúnculo unicelular e cabeça multicelular; e (3) urticante sobre uma emergência	Folha	Gangadhara e Inamdar (1977)
<i>Urtica thunbergiana</i> Siebold & Zucc.	Capitado com quatro células na cabeça com pedúnculo curto	Folha	Fu <i>et al.</i> (2003)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adedeji, O; Ajuwon, OY; Babawale, OO. (2007). Foliar epidermal studies, organographic distribution and taxonomic importance of trichomes in the family Solanaceae. *International Journal of Botany*, 3: 276-282.
- Azizian, D. (2002). Morphology and distribution of trichomes in some genera (*Morus*, *Ficus*, *Broussonetia* and *Maclura*. *Iranian Journal of Botany*, 9: 195-202.
- Carauta, JPP (1974). Índice das espécies de Ulmaceae do Brasil. *Rodriguésia*, 39: 99-134.
- Dayanandan, P; Kaufman, PB. (1976). Trichomes of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 63: 578-591.
- Dickinson, WC (2000). Integrative plant anatomy. Academic Press.
- Esau, K. (1977). Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons, New York.
- Fahn, A. (1979). Secretory tissues in plants. Academic Press, New York.
- Fahn, A. (1992). Plant Anatomy. 4a ed. Pergamon Press, Oxford.
- Fernandez, RD; Cabrera, CN; Albornoz, PL; Arias, ME. (2011). Anatomía foliar de *Boehmeria caudata* (Urticaceae) em la provincia de Tucumán, Argentina. *Lilloa*, 48: 53-59.
- Fu, HY; Chen, SJ; Huang, LLK. (2003). Comparative study on the stinging trichomes and some related epidermal structure in the leaves of *Dendrocnide meyeniana*, *Girardinia diversifolia*, and *Urtica thunbergiana*. *Taiwania*, 48: 213-223.
- Fu, L; Xin, Y (2000). Elms of China. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- Furr, M; Mahlberg, PG. (1981). Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44: 153-159.
- Gangadhara, M; Inamdar, JA. (1977). Trichomes and stomata, and their taxonomic significance in the Urticales. *Plant Systematics and Evolution*, 127: 121-137.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1973). Morphology of glandular hairs of *Cannabis sativa* from scanning electron microscopy. *American Journal of Botany*, 60: 524-528.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1977). Morphogenesis of capitate glandular hairs of *Cannabis sativa* (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 64: 1023-1031.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1978). Ultrastructural development of capitate glandular hairs of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 65: 140-151.

- Hardim, JW. (1981). Atlas of surface features in woody plants, II. *Broussonetia*, *Morus*, and *Maclura* of North America. Bulletin of the Torrey Botanical club, 108: 338-346.
- Jacomassi, E; Moscheta, IS; Machado, SR. (2010). Morfoanatomia e histoquímica de órgãos reprodutivos de *Brosimum gaudichaudii* (Moraceae). Brazilian Journal of Botany, 33: 115-139.
- Judd, WS; Campbell, CS; Kellogg, EA; Stevens, PF & Donoghue, MJ. (2009). Sistemática Vegetal - Um enfoque filogenético. Artmed, Porto Alegre.
- Kadiri, AB; Oboh, B; Oha, C. (2011). Systematic value of foliar epidermal morphology in some taxa of the tribes: Urticeae and Parietariae of the West African Urticaceae. Thaiszia Journal of Botany, 21: 73-83.
- Kim, ES; Mahlberg, PG. (2000). Early development of the secretory cavity of peltate glands in *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae). Molecules and Cells, 10: 487-492.
- Levin, DA. (1973). The role of trichomes in plant defense. The Quarterly Review of Biology, 48: 3-15.
- Loe, G; Torang, P; Gaudeul, M; Âgren, J. (2007). Trichome production and spatiotemporal variation in herbivory in the perennial herb *Arabidopsis lyrata*. Oikos, 116: 134-142.
- Lillie, RD. (1965). Histopathologic Technic and Practical Histochemistry, 3rd ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Lorenzi, H; Souza, HM. (1999). Plantas ornamentais do Brasil. 2.ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Martins, EGA; Pirani, JR. (2009). Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Cannabaceae. Boletim de Botânica, Universidade de São Paulo, 27: 247-251.
- Narayana, BM. (1979). Taxonomic value of trichomes in *Vernonia* Schreb (Asteraceae). In Proceedings of the Indian Academy of Sciences, 88: 347-357.
- Nicharat, S; Gillett, GW. (1970). A review of the taxonomy of Hawaiian *Pipturus* (Urticaceae) by anatomical and cytological evidence. Brittonia, 22: 191-206.
- O'Brien, TP; Feder, N; McCully, ME. (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma, 59: 367-373.
- Oliveira, MM; Salomk, M; Pais, S. (1988). Glandular trichomes of *Humulus lupulus* var. Brewer's Gold: ontogeny and histochemical characterization of the secretion. Nordic Journal of Botany, 8: 349-359.
- Payne, WW. (1978). A glossary of plant hair terminology. Brittonia, 30: 239-255.

- Pederneiras, LC; Costa, AF; Araujo, DSD; Carauta, JPP. (2011) Ulmaceae, Cannabaceae e Urticaceae das restingas do estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia*, 62: 299-313.
- Pearse, AG. (1972). *Histochemistry: theoretical and applied*. Vol. 3^a ed. The Williams & Wilkins Company: Baltimore.
- Romaniuc, Neto S; Torres, RB & Santos, A. (2013) Cannabaceae. In: *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB32981>>. Acesso em: 15 de janeiro. 2017.
- São-José, PA; Romaniuc-Neto, S. (2016). Diversidade de *Dorstenia* L. (Moraceae) do Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea*, 43: 247-264.
- Schnetzler, BN; Teixeira, SP; Marinho, CR (2017). Trichomes that secrete substances of a mixed nature in the vegetative and reproductive organs of some species of Moraceae. *Acta Botanica Brasilica*, 31: 392-402.
- Shah, A.M; Kachroo, P. (1975). Comparative anatomy in Urticales I. The trichomes in Moraceae. *Journal of the Indian Botanical Society*, 54: 138-153.
- Small, E; Naraine, SGU. (2016). Size matters: evolution of large drug-secreting resin glands in elite pharmaceutical strains of *Cannabis sativa* (marijuana). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63: 349-359.
- Souza, LA. (2003). *Morfologia e anatomia vegetal*. UEPG, Ponta Grossa.
- Souza, VC; Lorenzi, H. (2005). *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- St-Laurent, L; Baum, BR; Akpagana, K & Arnason, JT. (2000). Leaf trichome morphology and density in West African *Trema* spp. (Ulmaceae: Celtidoideae). *Canadian Journal of Botany*, 78: 34-39.
- Stevens, PF. (2001). *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 12, July 2012
- Sugiyama, R; Oda, H; & Kurosaki, F. (2006). Two distinct phase of glandular trichome development in hop (*Humulus lupulus* L.). *Plant Biotechnology*, 23: 493-496.
- Sytsma, KJ; Morawetz, J; Pires, JC; Nepokroeff, M; Conti, E; Zjhra, M; Hall, JC & Chase, MW. (2002). Urticalean rosids: circumscription, rosid ancestry, and phylogenetics based on *rbcL*, *trnLF*, and *ndhF* sequences. *American Journal of Botany*, 89: 1531-1546.

- Teixeira, SP (2013). Diversidade e evolução de tricomas secretores florais em Leguminosae. Tese de livre-docência. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto.
- Theobald, WL; Krahulink, JL; Rollins, RC. (1979). Trichome descriptions and classification, In: Metcalfe, CR; Chalk, L. (eds.) Anatomy of the Dicotyledons, vol.1. Science Publications, Oxford.
- The Plant List (2013). Version 1.1. Publicado na Internet. <http://www.theplantlist.org/> (acessado 15 de março de 2017).
- Tobe, H; Takaso, T. (1996). Trichome micromorphology in Celtidaceae and Ulmaceae (Urticales). *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 47: 153-168.
- Todzia, CA. (1992). A reevaluation of the genus *Phyllostylon* (Ulmaceae). *SIDA, Contributions to Botany*, 15: 263-270.
- Wagner, GJ. (1991). Secreting glandular trichomes: more than Just hairs. *Plant Physiology*, 96: 675-679.
- Wang, YF; Ferguson, DK; Zetter, R; Denk, T; Garfi, G. (2001). Leaf architecture and epidermal characters in *Zelkova*, Ulmaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 136: 255-265.
- Wu, ZY; Raven, PH; Hong, DY. (2003). Flora of china. Volume 5: Ulmaceae through Basellaceae. Ed. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Yang, MQ; van Velzen, R; Bakker, FT; Sattarian, A; Li, DZ; & Yi, TS. (2013). Molecular phylogenetics and character evolution of Cannabaceae. *Taxon*, 62 (3): 473-485.

**CAPÍTULO 2: TRICOMAS SECRETORES DE *TREMA MICRANTHA*
(CANNABACEAE): ONTOGENIA, ULTRAESTRUTURA E ANÁLISE
QUÍMICA DO EXSUDATO**

RESUMO

Trema micrantha é uma pequena árvore da família Cannabaceae e a única espécie do gênero com ocorrência registrada para o Brasil. Tem grande valor ecológico porque é uma espécie pioneira, e econômico, porque é amplamente utilizada na medicina popular, relatos de intoxicação em animais também são encontrados na literatura. Estudos anteriores mostraram a presença de dois morfotipos de tricomas secretores distribuídos por toda a planta de *T. micrantha*. Considerando a proximidade desta espécie com *Cannabis sativa*, espera-se que seus tricomas secretores também estejam relacionados à sua toxicidade. Assim, este estudo pretende compreender, em detalhe, a origem e a estrutura subcelular dos dois tipos de tricomas secretores e a composição química de seu exsudado em *T. micrantha*. Para isso, flores pistiladas e estaminadas, e folhas foram coletadas, fixadas e processadas para análises anatômicas, de histolocalização de substâncias e ultraestruturais. Análises químicas utilizando amostras previamente secas passaram por processo de extração e foram submetidas a reagentes para alcaloides e/ou indicadores de canabinoides. Ambos os tipos de tricomas, capitado e filiforme, originam-se de uma célula protodérmica. As divisões celulares subsequentes também são semelhantes para os dois tipos de tricomas. O exsudado exibe uma variedade de compostos químicos, tais como fenólicos e terpenos. Surpreendentemente, a presença de alcaloides, típica da família, não foi confirmada. É provável que os tricomas produzam uma pequena quantidade de alcaloides e a técnica empregada (cromatografia em camada fina delgada) não tenha sido suficientemente sensível para detectá-los. Testes de canabinoides empregados em folhas e flores trituradas foram positivos. Os diferentes compostos químicos são produzidos em diferentes células da cabeça ou do pedúnculo do tricoma. As organelas mais comumente encontradas foram os plastídios e o retículo endoplasmático rugoso. Os plastídios devem estar envolvidos na síntese de terpenos, enquanto o retículo endoplasmático rugoso pode atuar na síntese de compostos fenólicos. Essas substâncias atravessam a membrana plasmática em vesículas e são liberadas para fora da célula da cabeça do tricoma por meio de poros da cutícula. A produção potencial de canabinoides deve ser enfatizada e melhor estudada, já que até agora tal classe de compostos é conhecida apenas para *Cannabis sativa*.

Palavras chaves: alcaloides, anatomia, canabinoides, compostos fenólicos, terpenos.

INTRODUÇÃO

Tricomas secretores são apêndices epidérmicos (Esau, 1977) responsáveis pela produção dos próprios compostos liberados (Fahn, 1979; Wagner, 1991). Destacam-se por serem considerados o principal local de produção e acúmulo de produtos naturais (Wagner, 1991; Wagner *et al.*, 2004) e por sua grande diversidade morfológica (Wagner, 1991). A função dos tricomas secretores ainda não é muito clara, mas o tipo, estágio de desenvolvimento e sua distribuição na planta podem sugerir a função que o tricoma desempenha nas espécies (Wagner, 1991; Ascensão *et al.*, 1998, 1999).

Existem várias classes de compostos químicos que podem ser produzidos por tricomas secretores, entre elas estão: resinas, alcaloides (Wagner, 1991), mucilagem (Fahn, 1979, 1992), açúcares (Fahn, 1979, 1992) e terpenos (Wang *et al.*, 2008). Os terpenos constituem uma das maiores e mais diversas classes de produtos naturais, com mais de 30.000 substâncias descritas. São classificados de acordo com o número de carbono ou a rota de biossíntese em hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, notissoprenoide e os meroterpenos. O nome meroterpeno foi sugerido para compostos provenientes de biogênese mista que possam envolver diferentes estruturas terpênicas e fenólicas (Thomas, 1973). São exemplos de meroterpenos algumas vitaminas lipossolúveis (vitamina E e vitamina K) e os canabinoides (substâncias psicoativas encontradas em *Cannabis sativa*) (Conde *et al.*, 2010 apud Rodríguez, 2015).

Trema é um dos gêneros mais ricos em espécies de Cannabaceae, compreendendo 12 espécies (Yang *et al.*, 2013). Uma única espécie, *Trema micrantha* (L.) Blume, ocorre naturalmente no Brasil (Forzza *et al.*, 2010). Os representantes de *Trema* são arbóreos ou arbustivos, encontrados em uma grande variedade de formações vegetacionais e de tipos de solo. Geralmente são componentes importantes da vegetação após distúrbios naturais ou provocados pelo homem (Elias, 1970). *Trema micrantha* apresenta morfologia muito variável e extensa lista de sinônimos. Mais de 100 publicações de nomes de espécies são listadas no International Names Index (IPNI, 2002). Esta espécie possui um grande valor econômico e por ser uma planta pioneira apresenta considerável importância nos reflorestamentos de matas (Carauta, 1974). Estudos com *Trema micrantha* também revelaram um grande potencial farmacológico (Shoenfelder *et al.*, 2006; Vera-Ku *et al.*, 2010; Rout *et al.*, 2012), embora tenha sido encontrado efeito hepatotóxico em animais (Traverso *et al.*, 2004; 2005; Gava *et al.*, 2010; Bandarra *et al.*, 2011; Wouters *et al.*, 2013). É conhecida popularmente por

candiúva, canduieira, coatindiba (Carauta, 1974). Seus representantes são arbóreos, dioicos (Fig. 1A e 1B), com folhas alternas lanceoladas, ovadas ou oblongo-lanceoladas, base oblíqua, margens crenuladas, ápice longo-acuminado, com a face adaxial áspera ao toque, com nervuras principal e secundárias proeminentes (Fig. 1C, 1D e 1E). As inflorescências das flores pistiladas são laxas com flores inconspícuas de coloração esverdeada e estilete bífido, que são persistentes no fruto (Fig. 1F). As inflorescências das flores pistiladas são congestas, com flores globosas, com cinco filetes curvos no botão e retos após a antese, as anteras são brancas (Fig. 1G).

Figura 1: Descrição morfológica de *Trema micrantha*. A. Indivíduo com flores pistiladas. B. Indivíduo com flores estaminadas. C. Filotaxia alterna das folhas. D. Vista adaxial da folha, indicando o pecíolo, a base oblíqua, a margem crenulada e o ápice longo-acuminado. E. Vista abaxial da folha indicando as nervuras principal e secundárias proeminentes. F. Inflorescência com flores pistiladas e alguns frutos verdes ainda com os estiletes persistentes. G. Inflorescência com flores estaminadas com os estames retos. P: Pecíolo; B: Base; M: Margem; A: Ápice; *: Nervura central; Ponta da seta: Nervuras secundárias; E: Estilete; Es: Estame.

Dois tipos de tricomas secretores ocorrem pelo corpo vegetativo e reprodutivo de *Trema micrantha* (Tobe e Takaso, 1996, capítulo 1): capitado (constituído por pedúnculo bisseriado, cada série com quatro a seis células e uma cabeça pluricelular, com cerca de seis a oito células, Fig. 2A) e filiforme (apresentam pedúnculo e cabeça bisseriados, sendo que não há distinção nítida entre pedúnculo e a cabeça, Fig. 2B). *T. micrantha* merece maior atenção por apresentar tricomas com pedúnculo bisseriado, uma condição rara para o clado urticoide (Tobe e Takaso, 1996).

Como os canabinoides são uma classe de compostos de grande visibilidade, encontrados exclusivamente em *Cannabis*, esse gênero tem sido o mais estudado em Cannabaceae (Hammond e Mahlberg, 1973; 1977; 1978; 1988; Dayanandan e Kaufman, 1976; Turner *et al.*, 1980a; Turner *et al.*, 1980b; 1981; Ameri, 1999; Mahlberg e Kim, 1991; Kim e Mahlberg, 1992; 1997a; 1997b; 2003; Small e Naraine, 2016). Esses compostos foram encontrados no exsudato de laticíferos e tricomas secretores (Gangadhara & Inamdar, 1977; Furr & Mahlberg, 1981), distribuídos por toda planta em *C. sativa* (Furr & Mahlberg, 1981). Porém, mudanças na circunscrição de Cannabaceae tem despertado o interesse por estudos envolvendo os novos gêneros inseridos na família.

Figura 2. Tipos de tricomas secretores de *Trema micrantha* (microscopia eletrônica de varredura). A. Tricoma secretor capitado com pedúnculo bisseriado e multicelular e cabeça multicelular. B. Tricoma secretor filiforme com pedúnculo e cabeça bisseriados e multicelular. Nota-se que não há distinção nítida entre as células da cabeça e do pedúnculo.

OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi estudar comparativamente e em detalhe os tipos de tricomas secretores encontrados na flor e na folha de *Trema micrantha*. Pretendeu-se compreender como se formam os tricomas (ontogenia), como suas células são organizadas em nível subcelular (ultraestrutura) e a natureza dos compostos químicos produzidos. Os dados obtidos foram comparados aos existentes na literatura para espécies de Cannabaceae e de famílias próximas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e fixação das amostras

Amostras de caule, folhas jovens e flores pistiladas e estaminadas em pré-antese e antese foram coletadas de três indivíduos adultos de *Trema micrantha* (dois pistilados e um estaminado) no campus da USP de Ribeirão Preto ao longo dos anos 2015/2016.

Ramos férteis foram coletados para confecção de material testemunha e depositados no herbário SPFR da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/SP, sob os seguintes registros: *Trema micrantha* estaminada – F.M. Leme nº 94 (SPFR 15957) *Trema micrantha* pistilada – F.M. Leme & I.C. Nascimento nº 97 (SPFR 16306) e F.M. Leme nº 101 (SPFR 15958).

Uma parte das amostras foi fixada em FNT (formalina neutra tamponada; Lillie 1948), por 24 horas, lavada em água e desidratada em série etanólica até 70% em que ficaram armazenadas. A outra parte das amostras foi fixada em Karnovski (Karnovski 1965) para análises em microscopia eletrônica de transmissão.

Ontogenia

A ontogenia dos tricomas foi realizada por meio de estudos anatômicos em microscopia de luz (ML). As amostras fixadas foram incluídas em metacrilato (Historesin, Leica), seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo (Leica RM2245), com espessura variando de 3 a 6 μm . Os cortes obtidos foram corados com azul de toluidina 0,05% pH 4,4 e 5,8 (O'Brien et al., 1964).

Ultraestrutura

Para a caracterização ultraestrutural dos tricomas, pequenas porções (1 cm²) de folhas (região mediana) e flores (pedicelo) foram fixadas em solução de Karnovsky em tampão de fosfato de sódio 0,2 M, pós-fixadas em 2% de tetróxido de ósmio, gradualmente desidratadas em acetona, incluídas em resina Araldite e seccionadas com auxílio de um ultramicrotomo Leica S Reichert para a obtenção de cortes semifinos (0,5 µm). Os cortes semifinos foram corados com Azul de Toluidina 0,05% (O'Brien *et al.*, 1964) e observados em um fotomicroscópio Leica DM 4500 B acoplado a uma câmera digital Leica DFC 320. Os cortes ultrafinos (60 nm) obtidos foram coletados em grade de malha fina, contrastados com Acetato de Uranila 2% por 15 min (Watson, 1958) e Citrato de Chumbo por 15 min (Reynolds, 1963), e observados em um microscópio eletrônico de transmissão Jeol 100CX II.

Análise química

Histolocalização de substâncias

Para os testes de histolocalização de substâncias foram utilizadas amostras provenientes de material fresco (lâmina foliar e pedicelo) e material incluído em historresina. As amostras de material fresco foram seccionadas transversalmente à mão e submetidas a reagentes que detectam alcaloides, corpos proteicos, flavonoides, lipídios, taninos e terpenoides (Tabela 1). Amostras fixadas foram incluídas em metacrilato (Historesin, Leica) e seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo (Leica RM2245), com espessura variando de 3 a 6 µm. Os cortes foram submetidos a reagentes que detectam amidos, compostos fenólicos estruturais e não estruturais, lipídios, pectinas, polissacarídeos e proteínas (Tabela 1). As fotomicrografias foram obtidas em fotomicroscópio Leica DM 4500 B acoplado a uma câmara digital Leica DFC 320 e as escalas nas mesmas condições ópticas.

Tabela 1. Testes histoquímicos para identificação de compostos do exsudato dos tricomas de *Trema micrantha*.

Classes dos compostos	Reagentes	Coloração (reação positiva)	Referências
Alcaloides	Reagente de Wagner	Castanho avermelhado	Furr e Mahlberg (1981)
Amidos	Reagente de lugol	Marrom, roxo ou negro	Johansen (1940)
Compostos fenólicos estruturais e não estruturais	Azul de toluidina	Verde	O'Brien <i>et al.</i> (1964)
Compostos fenólicos não estruturais	Cloreto férrico	Amarelo intenso	Johansen (1940)
Flavonoides	Acetato Neutro de Chumbo	Fluorescência amarela- esverdeada	Charrière-Ladreix (1976)
Lipídios	Sudan III	Alaranjado	Pearse (1972)
	Sudan Black B	Azul a negro	Pearse (1972)
Óleo-resina	Reagente de Nadi	Vermelho	David e Carde (1964)
Pectinas	Vermelho de rutênio	Rosa a vermelho	Johansen (1940)
Polissacarídeos	Reagente de Schiff-ácido	Magenta	O'Brien e McCully (1981)
Proteínas	Xylidine de Ponceau	Vermelho	Vidal (1970)
	Azul brilhante de Coomasie	Azul claro	Fisher (1968)
Taninos	Vanilina clorídrica	Vermelho	Mace e Howell (1974)
Terpenoides	Reagente de Nadi	Azul	David e Carde (1964)

Testes químicos para alcaloides

Testes químicos diretos para alcaloides foram realizados utilizando dois métodos de extração: com HCl 2% e vanilina sulfúrica 1%. Foram utilizados diferentes reagentes diretos para alcaloides: ácido fosfomolíbico, ácido tânico, Bertrand, Bouchardat, Dragendorff e Mayer (Costa, 1982). Amostras provenientes de material fresco (folhas e flores) foram secas em estufa a 50°C, trituradas com o auxílio de gral e pistilo e submetidas à extração com HCl 2%. A suspensão foi aquecida em banho-maria, filtrada em algodão e submetida a reagentes indicadores para alcaloides. A formação de precipitado indica a presença de alcaloides. O mesmo procedimento foi realizado para a extração com Vanilina sulfúrica 1%.

Para análise em cromatografia de camada delgada, a droga vegetal pulverizada foi submetida à extração em solução aquosa ácida de HCL 0,2N em banho-maria por

1h. O extrato foi filtrado, transferido para funil de separação e particionado três vezes com acetato de etila. A fase orgânica 1 em acetato de etila (Fração I) contendo substâncias ácidas e neutras solúveis em acetato de etila foi descartada. A fase aquosa ácida foi, então, alcalinizada com NaOH 2 N até atingir pH 10-11. Em seguida, a fase aquosa alcalina foi particionada três vezes com acetato de etila (Fração II). À fração II, contendo substâncias básicas, foi adicionado sulfato de sódio anidro para retirada de água. Após filtração, a solução foi submetida à concentração em rotaevaporador a vácuo para concentração das substâncias. A solução concentrada foi analisada por cromatografia de camada delgada, utilizando-se fase móvel composta de clorofórmio (CHCl_3), metanol (CH_3OH) com 01% de hidróxido de amônio (NH_4OH). Como revelador foram utilizados os reagentes de Dragendorff, Bouchardat, vanilina e iodo (Costa, 1982).

Testes químicos para canabinoides

A presença de indicadores para canabinoides foi testada com os testes de Duquenoís-Levine (Butler, 1962) e Fast Blue B (Mauder, 1970) modificados.

Para o teste de Duquenoís-Levine, amostras provenientes de material fresco (lâmina foliar e flores) foram secas em estufa a 50°C, trituradas manualmente, transferidas para tubo de ensaio com tampa e submetidas ao reagente de Duquenoís-Levine previamente preparado (2g de vanilina, 2,5 ml de acetaldeído e etanol completando 100ml). O frasco foi agitado e ácido clorídrico concentrado foi adicionado e o frasco foi novamente agitado. Clorofórmio foi adicionado e o tubo submetido a vórtice; depois, deixou-se sedimentar e separar em duas camadas. A formação de uma coloração púrpura indica o resultado positivo. *Passiflora* sp. foi utilizada como material controle negativo de canabinoides. As fotografias foram obtidas em câmera digital Canon Power Shot G12. Para a verificação de canabinoides no exsudato do tricoma, o teste de Duquenoís-Levine (Butler, 1962) modificado também foi aplicado em folhas frescas cortadas à mão. Os cortes foram submetidos ao reagente de Duquenoís-Levine previamente preparado (2g de vanilina, 2 ml de ácido sulfúrico e etanol para completar 100ml) e, em seguida, adicionado ácido clorídrico concentrado.

Para o teste Fast Blue B modificado (Mauder, 1970), amostras de material fresco (lâmina foliar e flores) foram secas em estufa a 50°C, transferidas para frasco de vidro

incolor com tampa e submetidas à extração com éter de petróleo. O extrato etéreo foi transferido para papel de filtro e, após a evaporação do solvente, foram adicionadas gotas da solução do reativo de cor Fast Blue B. O surgimento de coloração vermelho-púrpura indica resultado positivo para o teste.

RESULTADOS

Ontogenia

Ambos os tipos de tricomas secretores, capitado e filiforme, originam-se a partir de uma célula protodérmica (Fig. 3A), que aumenta em volume e se alonga verticalmente (Figs. 3B e 4A). Então, passa por uma divisão anticlinal originando duas células (Figs. 3C e 4B). As duas células-filhas passam por divisão periclinal formando uma porção apical e outra basal (Figs. 3D e 4C). Dessa etapa em diante os tricomas apresentam desenvolvimento diferente.

As células-filhas apicais do tricoma capitado passam por divisões periclinais (Fig. 3E) e anticlinais (Fig. 3F) para a formação da cabeça (Fig. 4D). As células-filhas basais passam apenas por divisões periclinais formando o pedúnculo bisseriado multicelular (Fig. 3G). O tricoma desenvolvido é formado por um pedúnculo bisseriado multicelular e cabeça multisseriada e multicelular (Fig. 4E).

As células apicais e basais do tricoma filiforme passam por divisões periclinais sucessivas (Fig. 4F) formando um tricoma com pedúnculo e cabeça bisseriados, em que não existe um limite nítido entre a cabeça e o pedúnculo (Figs. 3H e 4G).

Figura 3. Desenho esquemático representando as divisões celulares que resultam na formação dos tricomas secretores capitados e filiformes de *Trema micrantha*. A-D. Fases de desenvolvimento compartilhadas pelos tricomas secretores capitados e filiformes. A. Célula protodérmica que dá origem aos tricomas secretores. B. Alongamento vertical da célula protodérmica. C. Divisão anticlinal dando origem a duas células-filhas. D. Divisão anticlinal dando origem a células-filhas apicais e basais. E-G. Desenvolvimento do tricoma capitado. E. Divisão periclinal das células-filhas apicais. F. Divisões anticlinais oblíquas formando a cabeça do tricoma. G. Divisões anticlinais das células-filhas basais formando o pedúnculo bisseriado e multicelular. H. Desenvolvimento do tricoma filiforme com sucessivas divisões anticlinais, formando um tricoma sem limite nítido entre a cabeça e o pedúnculo.

Figura 4. Ontogenia dos tricomas secretores de *Trema micrantha* (ML). A-C. Etapas da ontogenia compartilhadas pelos dois morfotipos de tricomas secretores. A. alongamento vertical da célula epidérmica. B. Divisão anticlinal formando duas células-filhas. C. Divisão periclinal formando as células apicais e basais. D-G. Etapas diferentes da ontogenia dos dois morfotipos de tricomas secretores. D-E. Tricoma secretor capitado. D. Divisões anticlinais e periclinais formando a cabeça. E. Tricoma capitado totalmente desenvolvido. F-G. Tricoma secretor filiforme. F. Divisões periclinais sucessivas. G. Tricoma filiforme totalmente desenvolvido.

Ultraestrutura

Tricoma capitado

O tricoma exibe uma cutícula fina. As células da cabeça exibem parede espessa (Fig. 5A) e citoplasma com mitocôndrias, plastídios contendo grânulos de amido (Fig. 5B), dictiossomas (Fig. 5C) e retículo endoplasmático rugoso (Fig. 5D). Vesículas contendo substâncias e gotas de óleo também são observadas no citoplasma (Fig. 5D).

As células do pedúnculo exibem parede menos espessa que as da cabeça (Fig. 6A). O núcleo é volumoso, central e arredondado (Fig. 6A). Compostos fenólicos são

depositados em vários vacúolos (Fig. 6A). Há vários plasmodesmas entre as células (Fig. 6B). O citoplasma é rico em mitocôndrias, vesículas e gotas de óleo (Fig. 6B).

As substâncias liberadas das células da cabeça vão para os espaços intercelulares ou para fora do tricoma (Fig. 7A). As substâncias atravessam a parede celular (Fig. 7B) e se acumulam no espaço subcuticular, onde provocam a distensão da cutícula (Fig. 7C).

Figura 5. Ultraestrutura das células da cabeça do tricoma capitado de *Trema micrantha*. A. Detalhe da célula da cabeça mostrando a parede celular espessa. B. Citoplasma com mitocôndrias e plastídios contendo grânulos de amido. C. Citoplasma com muitas mitocôndrias e vários dictiossomos ativos na produção de vesículas. D. Citoplasma com retículo endoplasmático rugoso, vesículas transportando substâncias e gota de óleo. A: Amido; D: Dictiossomos; M: Mitocôndrias; PC: Parede celular; PI: Plastídios; RER: Retículo endoplasmático rugoso; Ve: Vesícula.

Figura 6. Ultraestrutura das células do pedúnculo do tricoma capitado de *Trema micrantha*. A. Célula com parede celular fina, núcleo volumoso, central e arredondado. Note a presença de vários vacúolos contendo compostos fenólicos. B. Parede celular com plasmodesmas e citoplasma contendo mitocôndrias, gotas de óleo e vesículas transportando substâncias. M: Mitocôndria; N: Núcleo; O: Gota de óleo; P: Plasmodesmas; V: Vacúolo, Ve: Vesícula; *: Compostos fenólicos.

Figura 7. Ultraestrutura das células da cabeça do tricoma capitado de *Tremula micrantha* durante o processo de liberação de substâncias. A. Acúmulo de substâncias no exterior do tricoma e nos espaços intercelulares. B. Acúmulo de substâncias entre as microfibrilas da parede celular. C. Parede celular laxa e distensão da cutícula. Cut: Cutícula; Ex: Exsudato; PC: Parede celular; *: Acúmulo de substâncias no espaço intercelular e na parede celular.

Tricoma filiforme

Considerando que não há distinção nítida entre as células da cabeça e do pedúnculo do tricoma filiforme, elas foram tratadas como células apicais, intermediárias e basais na caracterização ultraestrutural deste tricoma.

As células apicais do tricoma filiforme exibem parede fina, com cutícula fina (Fig. 8A) e vários plasmodesmas (Fig. 8B). O núcleo é central e arredondado (Fig. 8A). O citoplasma contém mitocôndrias e vacúolo com compostos fenólicos (Fig. 8A), além de vesículas, muitas mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso (Figs. 8B, C).

As células intermediárias exibem parede cuticularizada, fina, com plasmodesmas, núcleo volumoso e arredondado, citoplasma com vários vacúolos contendo compostos fenólicos (Figs. 9A, B), plastídios contendo grânulos de amido (Fig. 9B), retículos endoplasmáticos rugosos, mitocôndrias, muitos ribossomos livres e dictiossomos (Figs. 9C, D).

As células basais apresentam parede celular fina, cuticularizada, núcleo volumoso, central e arredondado (Fig. 10A), citoplasma com mitocôndrias, dictiossomos, plastídios com gota de óleo e ribossomos livres (Fig. 10B).

Figura 8. Ultraestrutura das células apicais do tricoma filiforme de *Trema micrantha*. A. Célula com parede fina, cuticularizada, núcleo central e arredondado. Destaca-se um grande vacúolo com compostos fenólicos. B. Parede celular com plasmodesmas e citoplasma rico em vesículas. C. Citoplasma com várias mitocôndrias e retículos endoplasmáticos rugosos. M: Mitocôndria; P: Plasmodesmas; RER: Retículo endoplasmático rugoso; V: Vacúolo; Ve: Vesícula; *: Composto fenólico.

Figura 9. Ultraestrutura das células intermediárias do tricoma filiforme de *Trema micrantha*. A. Célula com parede fina, atravessada por muitos plasmodesmas; núcleo volumoso e arredondado; e citoplasma com vários vacúolos fenólicos. B. Parede celular com plasmodesmas e citoplasma com mitocôndrias, retículos endoplasmáticos rugosos e plastídios contendo grânulos de amido. C. Citoplasma rico em polirribossomos, mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso e dictiossomos. D. Citoplasma em detalhe mostrando dictiossomos e polirribossomos. A: Grânulo de amido; D: Dictiossomo; Mitocôndria; N: Núcleo; P: Plasmodesma; PI: Plastídio; RER: Retículo endoplasmático rugoso; V: Vacúolo; *: Composto fenólico.

Figura 10. Ultraestrutura das células basais do tricoma filiforme de *Trema micrantha*. A. Célula com núcleo central, volumoso e arredondado, e vacúolos pequenos. B. Citoplasma em detalhe mostrando as mitocôndrias com cristas volumosas, plastídios contendo gota de óleo e muitos polirribossomos. CE: Célula da epiderme; M: Mitocôndrias; N: Núcleo; O: Gota de óleo; Pl: Plastídios; V: Vacúolo.

Histolocalização de substâncias

Tricoma secretor capitado

O exsudato dos tricomas capitados apresenta uma coloração natural castanha alaranjada nas células da cabeça; já nas células do pedúnculo não há cor evidente (Fig. 11A). Os testes de histolocalização revelaram que as células do pedúnculo e da cabeça são fenólicas (Fig. 11B). Alcaloides estão presentes nas células do pedúnculo e nas células da cabeça (Fig. 11C), terpenos foram encontrados em maior concentração nas células do pedúnculo (Fig. 11D), lipídios (Fig. 11E) e polissacarídeos estão presentes principalmente nas células do pedúnculo (Tabela 2).

Figura 11 Testes histoquímicos aplicados aos tricomas secretores capitados de *Trema micrantha*. A. Coloração natural do exsudato. Nota-se que o exsudato de alguns tricomas apresenta coloração laranja-acastanhado e em outros o exsudato é incolor. B. Reação positiva para compostos fenólicos com Cloreto Férrico. C. Reação positiva para alcaloides com reagente de Wagner. Nota-se que apesar da coloração natural do exsudato é possível verificar uma coloração mais intensa, indicando a presença de alcaloides. D. Reação positiva para terpenos com reagente de Nadi, mostrando a presença de terpenos, especialmente nas células do pedúnculo e nas células apicais da

cabeça. E. Reação positiva para lipídios com Sudan III nas células do pedúnculo e da cabeça.

Tricoma secretor filiforme

A coloração natural do exsudato de alguns tricomas filiformes é castanho-alaranjado; em outros casos não exibe cor evidente (Fig. 12A e 12B). Os testes de histolocalização revelaram que o exsudato dos tricomas filiformes apresenta compostos fenólicos nas células do pedúnculo e da cabeça (Fig. 12C), terpenos, principalmente nas células do pedúnculo (Fig. 12D), alcaloides e polissacarídeos nas células do pedúnculo e da cabeça (Tabela 2).

Figura 12 Testes histoquímicos aplicados aos tricomas filiformes de *Trema micrantha*. A. Tricomas filiformes com exsudato naturalmente castanho-alaranjado. B. Tricomas filiformes com exsudato incolor. C. Reação positiva para terpenos com reagente de Nadi no exsudato das células do pedúnculo. D. Reação positiva para compostos fenólicos com azul de toluidina no exsudato das células do pedúnculo e da cabeça.

Tabela 2. Resultados dos testes de histolocalização de substâncias nos tricomas secretores capitados e filiformes de *Trema micrantha*. + = positivo; - = negativo; ? = não foi verificado.

Classes dos compostos	Capitado		Filiforme	
	cabeça	pedúnculo	cabeça	pedúnculo
Alcaloides	+	-	+	-
Amido	-	-	-	-
Compostos fenólicos estruturais e não estruturais	+	+	+	+
Compostos fenólicos não estruturais	+	-	+	-
Flavonoides	-	-	-	-
Lipídios	+	+	+	+
Óleo-resina	-	-	-	-
Pectinas	-	-	-	-
Polissacarídeos	+	+	+	+
Proteínas	+	-	?	?
Taninos	-	-	-	-
Terpenoides	+	+	+	+

Testes químicos

Os testes diretos indicam que as folhas e as flores estaminadas e pistiladas de *Trema micrantha* produzem alcaloides (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados dos testes realizados com diferentes reagentes para identificação de alcaloides em folhas e flores de *Trema micrantha* utilizando HCl 2% e Vanilina como meio de extração. - = resultado negativo; + = resultado positivo; +* = resultado positivo após 24 horas. O teste de vanilina foi realizado apenas com as folhas.

Reagentes	Indivíduo com flores pistiladas		Indivíduo com flores estaminadas			
	HCl 2%		Vanilina		HCl 2%	
	Folha	Flor	Folha		Folha	Flor
Ácido fofomolíbico	-	+	-	+	+	-
Ácido tânico	+	+	-	+	+	-
Beltrand	-	+	-	-	-	+
Bouchardat	-	-	+	-	-	+
Dragendorff	-	-	+	-	-	+
Mayer	-	-	+	-	-	+

O teste colorimétrico indicador de canabinoides Duquenóis-Levine foi positivo para folhas e flores, constatado pela coloração púrpura no material contido nos tubos de ensaios (Fig. 13). Folhas de *Passiflora* sp. L. utilizadas como controle não apresentaram coloração púrpura (Fig. 13A). O teste indicou que a reação foi mais intensa nas flores que nas folhas e, dentre os dois morfotipos florais, a reação foi mais intensa nas flores estaminadas (Figura 13E). O teste *in situ* em amostras de folhas de *Trema micrantha* indicou a presença de indicadores de canabinoides no exsudato dos tricomas capitados e filiformes (Fig. 14A).

Figura 13. Teste colorimétrico com Duquenóis-Levine em folhas de *Passiflora* sp (A) e *Trema micrantha* (B-E). A. Reação negativa para indicadores de canabinoides na folha. B. Reação positiva para indicadores de canabinoides na folha do indivíduo pistilado. C. Reação positiva para indicadores de canabinoides na folha do indivíduo estaminado. D. Reação positiva de canabinoides na flor do indivíduo pistilado. E. Reação positiva para canabinoides na flor do indivíduo estaminado.

Figura 14. Seção transversal da região mediana da folha de *Trema micrantha* mostrando reação positiva para indicadores de canabinoides com Duquenóis-Levine. Observe a coloração intensa nas células dos tricomas capitados (TC) e filiformes (TF).

DISCUSSÃO

Os dois morfotipos de tricomas secretores encontrados em *Trema micrantha* apresentam desenvolvimento inicial semelhante ao que ocorre em alguns tricomas de *Cannabis sativa* L (Hammond & Mahlber, 1978), em que a primeira divisão celular é anticlinal. Considerando que outras espécies de Cannabaceae apresentam pedúnculo bisseriado (Tobe e Takaso, 1996), provavelmente o desenvolvimento ocorra da mesma maneira, mesmo que ainda não sejam encontrados estudos de ontogenia para o grupo todo. Diferenças no desenvolvimento dos dois tipos de tricomas secretores de *T. micrantha* ocorrem na divisão das células da cabeça, acarretando a formação de uma cabeça mais arredondada no caso dos tricomas capitados, e uma cabeça similar ao pedúnculo no caso dos tricomas filiformes.

A histolocalização *in situ* de substâncias e a ultraestrutura mostraram que tanto as células da cabeça quanto as do pedúnculo dos tricomas secretores de *Trema micrantha* são secretoras, pois exibem organelas típicas de células secretoras, tais como núcleo volumoso e central, abundância de mitocôndrias com cristas conspícuas, presença de plastídios sem organização de tilacoides e com óleo, abundância de retículo endoplasmático rugoso e vesículas (Fahn, 1982). No entanto, parece existir diferenças de tipos de compostos produzidos em cada célula. No caso dos tricomas secretores capitados, as células da cabeça são menos vacuoladas e acumulam menos compostos fenólicos, porém apresentam uma quantidade maior de dictiossomos, provavelmente as células mais apicais da cabeça são responsáveis pela liberação dos compostos produzidos pelas células que estão mais próximas das células do pedúnculo.

Os tricomas de *Trema micrantha* secretam terpenos e compostos fenólicos, sendo que os plastídios provavelmente estão envolvidos na síntese dos terpenos enquanto o retículo endoplasmático rugoso deve atuar na produção dos compostos fenólicos (Beckman *et al.*, 1972; Hammond e Mahlberg, 1978; Barros e Teixeira, 2014; Marinho *et al.*, 2015). A presença de alcaloides em *Trema* já havia sido descrita anteriormente (Ribeiro e Machado, 1952; *apud* Frimmel *et al.*, 2000; Frimmel *et al.*, 2000; Hemayet, 2013). Alcaloides e terpenos também já foram relatados para os tricomas de *Cannabis sativa* (Furr & Mahlberg, 1981) e *Humulus lupulus* (Wang *et al.*, 2008), sendo a presença de alcaloides recorrente em espécies do clado urticoide (Kam, 1999). *Cannabis sativa* L. também contém um grupo de terpeno-compostos fenólicos denominados canabinoides (Mechoulam, 1973; *apud* Lanyon *et al.*, 1981).

Assim, o resultado negativo para a detecção de alcaloides em cromatografia de camada delgada não necessariamente exclui a presença dessa classe de compostos em *Trema micrantha*. Diferentes fatores podem ter influenciado no resultado obtido tais como: (1) quantidade de alcaloide presente, (2) a fase móvel escolhida ou (3) ao meio de extração. Além disso, os testes diretos para identificação de alcaloides foram positivos, apesar de eles serem incapazes de detectar quais alcaloides são produzidos e sua quantidade.

Os testes para canabinoides utilizados são preliminares e testes mais específicos precisam ser realizados para confirmar a presença dessas substâncias em *Trema micrantha*. Porém, a comparação dos dados obtidos ao controle negativo reforça a hipótese de que *Trema micrantha* possui um potencial para produção de canabinoides. Canabinoides são substâncias com estrutura química mista constituída de terpenos e compostos fenólicos (Thomas, 1973). Assim, a presença desses compostos nas células do tricoma de *T. micrantha* pode servir também como um indício da presença de canabinoides na espécie. Além disso, considerando que existe uma grande quantidade de plantas que não foram identificadas e estudadas ainda, é bem possível que a produção de canabinoides não seja exclusiva de *Cannabis*.

Os compostos presentes nos tricomas capitados de *Trema micrantha* são liberados para o meio externo somente pelas células da cabeça. Assim, ocorre o transporte de substâncias entre as células do pedúnculo e da cabeça via plasmodesmas. No caso dos tricomas filiformes, os resultados da ultraestrutura não revelaram as células responsáveis pela liberação do exsudato para o ambiente. Porém, análises em microscopia eletrônica de varredura indicam que o exsudato é liberado por algumas células do pedúnculo do tricoma filiforme (Capítulo 1). Em ambos os tipos de tricomas as substâncias atravessam a membrana plasmática por processo granulócrico (*sensu* Fahn 1979) e são liberadas provavelmente por poros cuticulares presentes nas células da cabeça do tricoma.

As substâncias presentes nos tricomas de *T. micrantha* possivelmente estão relacionadas ao seu grande potencial farmacológico (Shoenfelder *et al.*, 2006; Vera-Ku *et al.*, 2010). Os alcaloides, açúcares redutores, taninos, esteroides e terpenos encontrados em espécies de *Trema* já foram relacionados à ação analgésica (Hemayet *et al.*, 2013, Aboaba, 2015). Porém, os canabinoides são uma classe de compostos químicos muito ampla, que compreende mais de 60 tipos de substâncias (Turner *et al.*,

1980b), sendo que apenas algumas dessas substâncias possui ação psicoativas ou medicamentosa (Pertwee, 2006).

Esses dados são preliminares uma vez que outros testes precisam ser realizados para inferir a natureza de todos os compostos produzidos por *Trema micrantha*. Mas, considerando que esta espécie apresenta um tricoma com a mesma origem, que possui um pedúnculo bisseriado, produz alcaloides, terpenos e compostos fenólicos, além de indicação de canabinoides, ser tóxica para animais e proximamente relacionada a *Cannabis sativa*, é necessária atenção a ela, uma vez que pode produzir compostos com ação farmacológica semelhantes às relatadas para *C. sativa* (Slatkin, 2007; Malcher-Lopes; 2014; Friedman e Devinsky, 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboaba, AS; Choudhary, IM. (2015). Chemical Composition and Biological Activities of the Volatile oils of *Palisota hirsuta* (Trunb) K. Schum and *Trema orientalis* (L) Blume. International Journal of Chemistry, 7: 21-26.
- Ameri, A. (1999). The effect of cannabinoids on the brain. Progress in Neurobiology 58: 315-348.
- Ascensão, L; Pais, MS. (1998). The leaf capitates trichomes of *Leonotis leonurus*: ultrastructure and secretion. Annals of Botany, 81: 263-271.
- Ascensão, L; Mota, L; Castro MM. (1999) Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. Annals of Botany 84: 437-447.
- Bandarra, PM; Júnior, PSB; de Oliveira, LGS; Correa, GL; Borba, MR; Júnior, JR; Cruz, CEF; Driemeier, D. (2011). Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Cannabaceae) em equinos. Pesquisa Veterinária Brasileira, 31: 991-996.
- Barros, TC; Teixeira, SP. (2014). Morphology and ontogeny of tannin-producing structures in two tropical legume trees. Botany, 92:513-521.
- Beckman, CH; Mueller, WC; McHardy, WE. (1972). The localization of store phenols in plant hairs. Physiological Plant Pathology, 2:69-74.
- Bordin, DC; Messia, M; Lanaro, R; Cazenave, SOS; Costa, JL. (2012). Análise forense; pesquisa de drogas vegetais interferentes de testes colorimétricos para identificação dos canabinoides da maconha (*Cannabis sativa* L.) Química Nova, 35: 2040-2043.

- Butler, W. (1962.) Duquenois-Levine test for marijuana. *Journal Association Official Analytical Chemists* 45: 597-600.
- Carauta, JPP. (1974). Índice das Ulmaceae do Brasil. *Rodriguésia*, 27: 99-134.
- Charrière-Ladreix, Y. (1976). Repartition intracellulaire du sécrétat flavonique de *Populus nigra* L. *Planta*, 129: 167-174.
- Costa, AF. (1982). *Farmacognosia*, vol 3. Fundação Calouste Gulbekian, Lisboa.
- David, R; Carde, JP. (1964). Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris. Série D*, 258: 1338-1340.
- Dayanandan, P; Kaufman, PB. (1976). Trichomes of *Cannabis sativa* (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 63: 578-591.
- Elias, TS. (1970). The genera of Ulmaceae in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 51: 18-40
- Esau, K. (1977) *Anatomy of seed plants*. John Wiley & Sons, New York.
- Fahn, A. (1979) *Secretory tissues in plants*. Academic Press, New York.
- Fahn, A. (1982) *plant anatomy*. 3a ed. Pergamon Press, Oxford.
- Fahn, A. (1992) *Plant Anatomy*. 4a ed. Pergamon Press, Oxford.
- Fisher, DB. (1968). Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemistry and Cell Biology*, 16: 92-96.
- Forzza, RC; Baumgratz, JFA; Bicudo, CDM; Carvalho Júnior, AA; Costa, DP; Martineli, G (2010). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E).
- Friedman, D; Devinsky, O. (2015). Cannabinoids in the treatment of epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 373: 1048-1058.
- Frimmel, AE; P, JLB; Sarragiotto, MH; Vidotti, GJH. (2000). Vitexin, paprazine and terpenoids from *Trema micrantha*. *Biochemical Systematics and Ecology* 28: 295-296.
- Furr, M; Mahlberg, PG. (1981) Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* 44: 153-159.
- Gangadhara, M; Inamdar, JA. (1977). Trichomes and stomata, and their taxonomic significance in the Urticales. *Plant Systematics and Evolution* 127: 121-137.

- Gava, A; Luciola, J; Furlan, FH; Leal, MB; Traverso, SD. (2010). Intoxicação por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em caprinos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30: 191-194.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1973). Morphology of glandular trichome of *Cannabis sativa* from scanning electron microscopy. *American Journal of Botany*, 60: 524-528.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1977). Morphogenesis of capitate glandular hairs of *Cannabis sativa* (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 64: 1023-1031.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1978). Ultrastructural of capitate glandular hairs of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 65: 140-151.
- Hammond, CT; Mahlberg, PG. (1988). Thin Layer Chromatographic Identification of Phenol in the Glandular Secretory System of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). In *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, 98: 109-116
- Hemayet, H; Jahan, IA; Islam, HS; Kanti, DS, Arpona, H; Arif, A. (2013). Phytochemical screening and anti-nociceptive properties of the ethanolic leaf extract of *Trema cannabina* Lour. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 3:103-108.
- IPNI, International Plant Names Index. Disponível em <http://www.ipni.org>. Acessado em 10 de junho de 2017.
- Johansen, DA. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
- Kam, TS. (1999). Chapter Two-Alkaloids from Malaysian Flora. *Alkaloids: chemical and biological perspectives*. 14: 285-435.
- Karnovsky, MJ. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of light osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 27: 137-138.
- Kim, ES; Mahlberg, PG. (1992). Secretory vesicle formation in glandular trichomes of *Cannabis sativa* (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 79: 166-173.
- Kim, ES; Mahlberg, PG. (1997). Plastid development in disc cells of glandular trichomes of *Cannabis sativa*. *Molecules and cells*, 7: 352-359.
- Kim, ES; Mahlberg, PG. (1997). Cytochemical localization of cellulose in glandular trichomes of *Cannabis* (Cannabaceae). *Journal of Plant Biology*, 40: 61-66.
- Kim, ES; Mahlberg, PG. (2003). Secretory vesicle formation in the secretory cavity of glandular trichomes of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *Molecules and Cells*, 15: 387-395.

- Lanyon, VS; Turner, JC; Mahlberg, PG. (1981). Quantitative analysis of cannabinoids in the secretory product from capitate-stalked glands of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *Botanical Gazette*, 142:316-319.
- Lillie, RD. (1948). Histochemical technic. *Southern Medical Journal*, 41:574.
- Mace, ME; Howell, CR. (1974). Histochemistry and identification of condensed tannin precursors in roots of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany*, 52: 2423-2426.
- Mahlberg, PG; Kim, ES. (1991). Cuticle development of glandular trichomes of *Cannabis sativa* (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 78: 1113-1122.
- Malcher-Lopes, R.(2014). Canabinoides ajudam a desvendar aspectos etiológicos em comum e trazem esperança para o tratamento de autismo e epilepsia. *Revista da Biologia*, 13:43-59.
- Marinho, CR; Oliveira, RB; Teixeira, SP. (2015). The uncommon cavitated secretory trichomes in *Bauhinia s.s* (Fabaceae): the same roles in different organs. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 180: 104-122.
- Mauder, MJF. (1970). Comparative evaluation of the Δ^9 -tetrahydrocannabinol content of *Cannabis* plants. *Journal of the Association of Public Analysts*, 8: 42-47.
- O'Brien, TP; Feder, N; McCully, ME. (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59: 367–373.
- O'Brien, TP; McCully, ME. (1981). The study of plant structure principles and selected methods. Melbourne, Termarcaphi.
- Pearse, AG. (1972). Histochemistry: theoretical and applied. Vol. 3^a ed. (The Williams & Wilkins Company: Baltimore).
- Pertwee, RG. (2006). Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British Journal of Pharmacology*, 147: 163-171.
- Reynolds, ES. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *The Journal of Cell Biology*, 17: 208-212.
- Rodríguez, AC. (2015). Síntesis de terpenos bioactivos: empleo de *Bellardia trixago* y ciclaciones biomiméticas. Universidad de Granada.
- Rout, J; Sajema, AL; Nath, M; Sengupta, M (2012). Antibacterial efficacy of bark extracts of an ethnomedicinal plant *Trema orientalis* Blume. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 6: 464-471.

- Shoenfilder, T; Cirimbelli, TM; Citadino-Zanette, V. (2006). Acute effect of *Trema micrantha* (Ulmaceae) on serum glucose levels in normal and diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 107: 456-459.
- Slatkin, NE. (2007). Cannabinoids in the treatment of chemotherapy induced nausea and vomiting beyond prevention of acute emesis. *The Journal of Supportive Oncology*, 5: 1-9
- Small, E.; Naraine, SG. (2016). Size evolution of large drug secreting resin glands in elite pharmaceutical strains of *Cannabis sativa* (marijuana). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63: 349-359.
- Thomas, AF. (1973). Monoterpenoids. In Overton, KH. *Terpenoids and Steroids – Volume 4. A Specialist Periodical Report*. The Chemical Society Burlington House, London. 608p.
- Tobe, H; Takaso, T. (1996). Trichome morphology in Celtidaceae and Ulmaceae (Urticales). *Acta phytotaxonomica et Geobotanica*, 47: 153-168.
- Traverso, SD; Corrêa, AMR; Schmtz, M; Colodel, EM; Driemeier, D. (2004). Intoxicação experimental por *Trema micrantha* (Ulmaceae) em bovinos. *Pesquisa veterinária brasileira*, 24: 211-216.
- Traverso, SD; Zlotowski, P; Germer, M; Cruz, CEF; Driemeier, D. (2005). Spontaneous poisoning by *Trema micrantha* (Ulmaceae) in goats. *Acta Scientiae Veterinariae*, 33: 207-210.
- Turner, JC; Hemphill, JK; Mahlberg, PG. (1980). Trichomes and cannabinoid content of developing leaves and bracts of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *American Journal of Botany*, 67: 1397-1406.
- Turner, CE; Elsohly, MA; Boeren, EG. (1980). Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *Journal of Natural Products*, 43: 169-234.
- Turner, JC; Hemphill, JK; Mahlberg, PG. (1981). Interrelationships of glandular trichomes and cannabinoid content II. Developng vegetative leaves of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). *Bulletion on Narcotics*, 33: 63-71.
- Vera-Ku, M; Méndez-González, M; Moo-Puc, R; Rosado-Vallado, M; Simá-Polanco, P; Cedillo-Rivera, R; Peraza-Sánchez, SR. (2010). Medicinal potions used against infections bowel diseases in Mayan traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 132: 303-308.

- Vidal, BC. (1970). Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. *Annales d'Histochimie*, 15: 289-296.
- Wagner, GJ. (1991) Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physiology*, 96: 675-679.
- Wagner, GJ; Wang, E; Sphepherd, RW. (2004). New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany*, 93: 3-11.
- Wang, G; Tian, L. Aziz, N; Broun, P; Dai, X; He, J; King, A; Zhao, PX; Dixon, RA. (2008). Terpene biosynthesis in glandular trichomes of hop. *Plant physiology*, 148: 1254-1266.
- Watson, ML. (1958). Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *The Journal of Cell Biology*, 4: 475-478.
- Wouters, F, Wouters, AT., Rolim, VM. Soares, MP; Driemeier, D. (2013). *Trema micrantha* como causa de peneumopatia tóxica em ovinos: reprodução experimental. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33: 1227-1236.
- Yang, MQ; van Velzen, R; Bakker, FT; Sattarian, A; Li, DZ; & Yi, TS. (2013). Molecular phylogenetics and character evolution of Cannabaceae. *Taxon*, 62: 473-485.

CONCLUSÕES

No presente estudo podemos concluir que:

- (1) a diversidade morfológica e de termos utilizados torna desafiadora a classificação e comparação entre os tipos de tricomas secretores, sendo necessários esforços no sentido de padronizar a caracterização destas estruturas secretoras;
- (2) a morfologia e distribuição de tricomas secretores apoiam a remoção dos gêneros *Trema* e *Celtis* da família Ulmaceae;
- (3) a distribuição dos tricomas secretores pela lâmina foliar e no pedicelo das flores sugere que as funções dos tricomas secretores nas duas famílias estejam relacionadas à defesa contra herbivoria;
- (4) a condição pedúnculo bisseriado do tricoma secretor é rara em Cannabaceae, e compartilhada por *Trema micrantha*, *Cannabis sativa* e *Humulus lupulus*, sugerindo que estas espécies são proximamente relacionadas;
- (5) os dois morfotipos de tricomas secretores de *Trema micrantha* secretam substâncias semelhantes;
- (6) *Trema micrantha* pode ser considerada uma espécie potencialmente produtora de compostos pertencentes à classe dos canabinoides; e sua ação tóxica pode estar associada à presença desses compostos.