

02

i

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

SECRETARIA
DE
PÓS-GRADUAÇÃO
I. B.

Ana Paula Stechhahn Lacchia

**ESTRUTURAS SECRETORAS EM ÓRGÃOS
VEGETATIVOS E REPRODUTIVOS DE ESPÉCIES
DE ANACARDIACEAE: ANATOMIA,
HISTOQUÍMICA E ULTRA-ESTRUTURA**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Ana Paula Stechhahn Lacchia
[Assinatura]
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do Título
de Doutor em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Maria Carmello-Guerreiro

Co-orientadoras: Profa. Dra. Marília de Moraes Castro

Profa. Dra. Lia Ascensão

- Campinas -

2006

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
CÉSAR LATTES
DESENVOLVIMENTO DE COLEÇÃO

pl. homele gacais
pos. - graduação.

DATA 30
CHAMADA UNICAMP
L116
EX
MBO BC/ 71670
OC. 16.145-07
D X
ECO 11.10
A 13/03/07
ID 403267

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

L116e

Lacchia, Ana Paula Stechhahn

Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, histoquímica e ultra-estrutura / Ana Paula Stechhahn Lacchia. -- Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientadores: Sandra Maria Carmello Guerreiro, Marília de Moraes Castro, Lia Ascensão.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Anacardiaceae. 2. Estruturas secretoras. 3. Histoquímica. 4. Ultraestrutura (Biologia). 5. Anatomia. I. Guerreiro, Sandra Maria Carmello. II. Castro, Marília de Moraes. III. Ascensão, Lia. IV. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. V. Título.

(scs/lb)

Título em inglês: Secretory structures in vegetative and reproductive organs of species of Anacardiaceae: anatomy, histochemistry and ultrastructure.

Palavras-chave em inglês: Anacardiaceae; Secretory structures; Histochemistry; Ultrastructure (Biology); Anatomy.

Área de concentração: Biologia Vegetal.

Titulação: Doutora em Anatomia Vegetal.

Banca examinadora: Sandra Maria Carmello Guerreiro, Ângelo Luiz Cortelazzo, Beatriz Apezato-Da-Glória, Jane Elizabeth Kraus, Sílvia Rodrigues Machado.

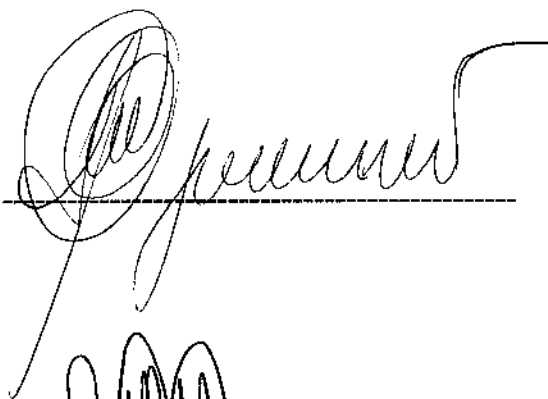
Data da defesa: 20/12/2006.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal.

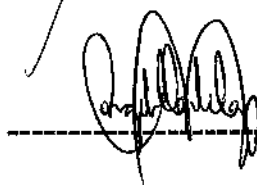
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
CÉSAR LATTES
DESENVOLVIMENTO DE COLEÇÃO

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra Sandra Maria Carmello Guerreiro
(orientadora)**



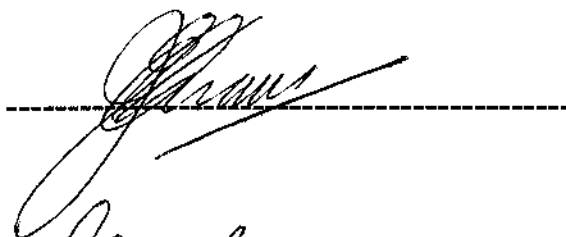
Prof. Dr Angelo Luiz Cortelazzo



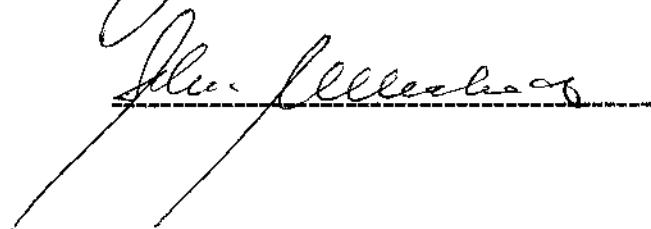
Profa. Dra Beatriz Apezato da Glória



Profa. Dra Jane Elizabeth Kraus



Profa. Dra Silvia Rodrigues Machado



Profa. Dra Simone de Pádua Teixeira



Dra Adriana Hissae Hayashi



Profa Dra Marlies Sazima



Se nunca abandonas o que é importante para ti, se te importas tanto a ponto de estares disposto a lutar para obtê-lo, asseguro-te que tua vida estará plena de êxito. Será uma vida dura, porque a excelência não é fácil; mas valerá a pena.

Richard Bach

Agradecimentos

Ao Programa de Biologia Vegetal da pós-graduação do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, por toda a infra-estrutura oferecida para o desenvolvimento da minha tese de doutorado.

À FAPESP, pelas bolsas concedidas para a realização do meu doutorado direto (proc. 01/12178-1 e 03/13556-5 vinculadas ao temático Biota/FAPESP proc. 96/12345-5) e à CAPES pela bolsa concedida para a realização do meu estágio de doutorado no exterior.

À minha orientadora Sandra M. Carmello Guerreiro, minha querida mestra e amiga, que com muito carinho me acolheu e me aceitou como sua orientada. Por estes nove anos de convivência tão harmoniosa e agradável, por ser sempre tão carinhosa e compreensiva, pelo seu exemplo de profissionalismo, por ter me ensinado muito do que hoje sei e por ter sempre acreditado no meu potencial, dando-me liberdade para seguir com meus próprios passos. Obrigada por todos os bons momentos vividos, pelas conversas e conselhos que me fizeram crescer como profissional e como pessoa.

À querida Marília de Moraes Castro, pela maravilhosa co-orientação, por ter me mostrado o mundo tão lindo das estruturas secretoras pelo qual me apaixonei... Pelo seu exemplo de amor e dedicação ao trabalho, pela sua amizade que foi tão importante em momentos difíceis, por acreditar sempre no meu trabalho e em mim, por me tratar como sua orientada... Pelos sábados, domingos e noites que passamos juntas trabalhando, conversando e rindo um pouco também... Por ter me propiciado a oportunidade de realizar parte do meu doutorado em Portugal, experiência que me enriqueceu profissionalmente e pessoalmente. Obrigada por todo carinho e por sua amizade.

À Profa Lia Ascensão, pela acolhida tão amorosa e gentil, por me aceitar como sua co-orientada, pelas valiosas sugestões que muito contribuíram para o enriquecimento desta tese, pelos maravilhosos passeios e por estar sempre pronta a me ajudar. Agradeço também a toda a sua família, que me acolheu tão amorosamente. Obrigada a todos pelos ótimos momentos compartilhados.

Aos membros da pré-banca e banca: Angelo, Beatriz, Jane, Silvia, Adriana, Marlies e Simone, pela participação e pelas sugestões para melhorar esta tese. A todos os demais professores que diretamente ou indiretamente participaram da minha formação e contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Às professoras Beatriz, Marina e Eliana, por suas participações na minha banca de qualificação para o doutorado direto e pelas valiosas sugestões para o meu projeto.

Ao professor Jorge Tamashiro, pela identificação das espécies estudadas, por toda sua atenção, pela reposição da minha glicemia (balinhas e guloseimas) nas longas conversas com a Sandra..., pela ajuda quando o computador da Sandra se rebelava contra nós e pela amizade....

Ao laboratório de Anatomia Vegetal e ao Tião, por terem me fornecido os subsídios necessários para que eu desenvolvesse meu trabalho e ao laboratório de Taxonomia, pelo uso do microscópio estereoscópico SMZ-U (adquirido no projeto proc. 96/12345-5).

Ao João Carlos, pela imensa ajuda nas coletas realizadas aqui em Campinas; à Iara, pela ajuda nas horas em que o Tião não estava e à Maria Lúcia, por ser sempre tão gentil e prestativa.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UNESP de Botucatu e a todos seus funcionários, por toda a ajuda para a realização das minhas investigações ultra-estruturais.

Ao Centro de Biotecnologia Vegetal da Faculdade de Ciências de Lisboa e a todos os seus funcionários, por terem me fornecido todas as condições necessárias para que eu desenvolvesse meu estágio.

Ao meu namorado Diego Demarco, pelo exemplo de dedicação e profissionalismo, pelas discussões anatômicas, mesmo quando eu achava que já não era mais hora, que me fizeram crescer profissionalmente e me fizeram ir atrás de respostas para assuntos que eu já julgava ter esclarecido. Pela ajuda no levantamento bibliográfico, ninguém é tão insistente e incansável na busca por artigos... Pelo amor que tem por mim, que faz com que tudo se torne mais leve, mais bonito e mais fácil de ser vivido.

À minha mãe Dora, por seu apoio incondicional e constante. Por toda sua imensa dedicação, por ser uma mãe sempre presente e maravilhosa, por seu exemplo de delicadeza, força, bondade e honestidade, por sempre acreditar em mim, quando eu achei difícil acreditar em mim mesma, por dizer algumas vezes o que eu realmente precisava ouvir, em vez do que eu queria que ela dissesse. Obrigada mil vez, obrigada... Que “quando eu crescer”, eu possa me tornar uma mulher tão linda e especial como você.

Ao meu pai, Pedro, ou melhor, meu “paizinho”, por todo seu apoio e torcida, por vibrar com cada conquista minha e por acreditar em mim, em meus sonhos e no meu trabalho, por seu exemplo de bom humor, força, coragem e profissionalismo, por sua luta diária no trabalho, para poder proporcionar a mim e as minhas irmãs tudo de melhor ... e por tornar possível a realização deste meu sonho... Meu muito, muito obrigado ao pai mais maravilhoso, especial e carinhoso deste e de todos os outros mundos...

Às minhas irmãs queridas Ana Carolina e Ana Flávia, que mesmo não se conformando como alguém pode gostar de fazer o que eu faço, sempre me deram todo apoio ou broncas, quando eram necessárias..... Flá, obrigada pela amizade, cumplicidade e apoio em todas as horas... Carol, sou grata ao destino por ter propiciado nossa aproximação, sempre te admirei e me espelhei em você e a sua amizade foi um dos maiores presentes da minha vida, que muito tem me ajudado nesta fase.

Aos meus queridos amigos Gláucia e Shesterson, obrigada pela amizade, pela força que vocês sempre me deram, pela alegria que sinto quando estou com vocês, por todos os momentos compartilhados, por estarem sempre de coração e peito aberto para me ouvirem e pela “ajudinha” especial na união de dois corações perdidos ...

Às minhas queridas amigas (vou por em ordem alfabética para ninguém ficar enciumada) Ana Cristina, Carol, Isabel, Livia, Poliana, Priscila, Raquel, Rosina e Sandra, que fazem do nosso laboratório, o melhor lugar do mundo para se trabalhar..., o mais animado, o mais festivo e o mais

especial (que os outros não nos ouçam). Obrigada a todas, pela amizade e pelos maravilhosos momentos compartilhados...

Às minhas amigas não menos queridas Andréa Barbosa, Kayna, Ana Paula Gonçalves, Ana Paula Fortuna, que adoram ir e vir ao nosso laboratório. Obrigada pela amizade e pelo carinho.

E a todos os demais colegas e profissionais do Departamento de Botânica, por toda amizade e companheirismo nestes anos de trabalho.

ÍNDICE

Resumo	1
Introdução Geral	7
Objetivos	14

Capítulo 1- Canais mucilaginosos e resiníferos e idioblastos secretores em ápices caulinares de espécies de Anacardiaceae

Resumo	18
Introdução.	19
Material e Métodos	21
Resultados	23
Discussão	26

Capítulo 2- Canais resiníferos em flores e frutos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, distribuição e histoquímica

Resumo	60
Introdução	61
Material e Métodos	62
Resultados	65
Discussão	69

Capítulo 3- Morfologia, distribuição e histoquímica de coléteres foliares em espécies de Anacardiaceae

Resumo	92
Introdução	93
Material e Métodos	94
Resultados	96
Discussão	98

Capítulo 4- Tricomas glandulares em espécies de Anacardiaceae: estrutura e secreção

Resumo	120
Introdução	121
Material e Métodos	122
Resultados	124
Discussão	127

Capítulo 5- Morfologia e histoquímica dos tricomas glandulares corolinos e do disco glandular de flores de espécies de Anacardiaceae do cerrado

Resumo	148
Introdução	149
Material e Métodos	150
Resultados	152
Discussão	156

Capítulo 6- Endocarpo e disco glandular do fruto de Tapirira guianensis: anatomia, histoquímica e ultra-estrutura

Resumo	174
Introdução	175
Material e Métodos	176
Resultados	178
Discussão	181

Capítulo 7- Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae

Resumo	206
Introdução	207
Material e Métodos	208
Resultados	210
Discussão	213
Discussão Geral	233
Referências Bibliográficas (Introdução e Discussão gerais)	247

Resumo

Anacardiaceae é composta por 70 gêneros com aproximadamente 600 espécies de distribuição principalmente pantropical, com poucas de regiões temperadas. A classificação infrafamiliar mais amplamente utilizada, proposta por Engler (1892), divide a família em cinco tribos: Anacardiëae, Rhoëae, Semecarpeae, Spondiadeae e Dobineëae. No presente trabalho, foram estudadas uma espécie da tribo Anacardiëae (*Anacardium humile* St.Hil), uma espécie da tribo Rhoëae (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e duas espécies da tribo Spondiadeae (*Spondias dulcis* G.Forst e *Tapirira guianensis* Aubl.). As estruturas secretoras dos órgãos vegetativos e reprodutivos destas espécies foram caracterizadas anatômica e histoquimicamente e apenas os canais secretores foram caracterizados ultra-estruturalmente.

Os canais têm epitélio unisseriado; os associados ao floema são resiníferos (*lato sensu*) e os medulares de *A. humile* e *S. dulcis*, são mucilaginosos. A presença de canais produzindo secreções quimicamente distintas em um mesmo órgão, de uma mesma espécie, está sendo descrita pela primeira vez neste trabalho. Em *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* os canais estão associados ao floema da pétala, sépala, receptáculo, pedicelo florais de todas as flores e ao floema do mesofilo ovariano das flores pistiladas e do pistilódio das flores estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis*. Canais também são encontrados no fruto e pedúnculo de *A. humile* e no fruto de *T. guianensis*. Os canais têm epitélio unisseriado; os florais de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* são resiníferos (*lato sensu*), os do fruto e pedúnculo de *A. humile* são resiníferos (*stricto sensu*) e os do fruto de *T. guianensis* são resiníferos (*lato sensu*). Em uma mesma espécie os canais secretores presentes em diferentes órgãos podem produzir substâncias distintas. A análise ultra-estrutural das células epiteliais do canal presente no ápice caulinar de *S. dulcis*, no ápice caulinar e na flor de *T. guianensis* e no fruto de *A. humile* corrobora com os resultados positivos obtido pela histoquímica para substâncias hidrofílicas e lipofílicas, da secreção do lume dos canais em *S. dulcis* e *T. guianensis* e para substâncias lipofílicas em frutos de *A. humile*, uma vez que, as células epiteliais de

S. dulcis e *T. guianensis* possuem maquinaria compatível (RE, ribossomos, plastídios e dictiossomos) com a síntese de substâncias hidrofílicas e lipofílicas e que as células epiteliais do fruto apresentam plastídios, organelas primordiais na secreção de substâncias lipofílicas. Os idioblastos dos ápices vegetativos de todas as espécies estudadas são resiníferos (*lato sensu*), registro é inédito para espécies desta família. Os tricomas dos ápices vegetativos das quatro espécies estudadas; das depressões foliares, das brácteas, das bractéolas e do eixo da inflorescência e das pétalas de *A. humile*; do pedicelo das flores de *L. molleoides* e da epiderme externa do ovário e do pistilódio das flores de *T. guianensis* produzem secreção heterogênea composta por substâncias lipofílicas e hidrofílicas; porém, os tricomas secretores das depressões foliares de *A. humile* diferente dos demais tricomas citados não possuem ácidos graxos na composição de suas secreções. Pela primeira vez na literatura estão sendo descritos, neste trabalho, tricomas de secreção heterogênea para membros de Anacardiaceae. Os tricomas dos ápices vegetativos de todas espécies estudadas e da inflorescência de *A. humile* foram identificados como coléteres, que têm a função de proteger os meristemas contra o dessecamento e contra os microorganismos.

Em *L. molleoides*, o disco floral é nectarífero, a sua vascularização é constituída por elementos floemáticos e o néctar liberado por estômatos. O disco floral de *T. guianensis* não possui tecido nectarífero característico e apenas as células epidérmicas e subepidérmicas reagem positivamente para substâncias lipofílicas (ácidos graxos e compostos fenólicos); registro este inédito para Anacardiaceae, bem como a presença de um disco floral persistente durante todo desenvolvimento do fruto. As células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular do fruto são secretoras e a histoquímica detectou apenas substâncias lipofílicas em sua secreção. As células epidérmicas e subepidérmicas do disco possuem gotas osmiofílicas nos plastídios e mitocôndrias e demais características que corroboram a produção de material lipofílico. A camada do endocarpo do fruto de *T. guianensis* em contato com o lóculo é unisseriada e secretora e a secreção é constituída

por polissacarídeos e lipídios; o funículo da semente também é secretor nesta espécie; tecidos como endocarpo e funículo estão, neste trabalho, sendo descritos pela primeira vez como secretores.

Abstract

Anacardiaceae is comprised of 70 genera with approximately 600 species of pantropical distribution, mainly, with few species from temperate regions. The most used infrafamilial classification, proposed by Engler (1892), divides this family in five tribes: Anacardieae, Rhoeae, Semecarpeae, Spondiadeae, and Dobineeae. In the present work, there were studied a species from Anacardieae tribe (*Anacardium humile* St.Hil), a species from Rhoeae tribe (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., and two species from Spondiadeae tribe (*Spondias dulcis* G.Forst and *Tapirira guianensis* Aubl.). The secretory structures of the vegetative and reproductive organs of these species were characterized anatomically and histochemically, and the secretory canals present in them were ultrastructurally characterized.

The canals present uniseriate epithelium; the ones associated to the phloem are resiniferous (*lato sensu*) and the medullar ones of *A. humile* and *S. dulcis* are mucilaginous. The presence of canals that produce chemically distinct secretions in the same organ of a species is being described for the first time. In *A. humile*, *L. molleoides*, and *T. guianensis*, the canals are associated to the phloem of petal, sepal, receptacles, and ovarian mesophyll; only in the pistil-like structure of the male flowers of *L. molleoides* and *T. guianensis*, there are found some canals. The canals are also found in the fruit and peduncle of *A. humile* and in the fruit of *T. guianensis*. The canals have uniseriate epithelium; the floral canals of *A. humile*, *L. molleoides*, and *T. guianensis* are resiniferous (*lato sensu*), the ones from fruit and peduncle of *A. humile* are resiniferous (*stricto sensu*), and the ones from the fruit of *T. guianensis* are resiniferous (*lato sensu*). In the same species, the secretory canals present in different organs may produce distinct substances. The ultrastructural analysis of the epithelial cells of the canal present in the apex of *S. dulcis*, in the apex and flower of *T. guianensis*, and in the fruit of *A. humile* corroborate with the positive results obtained through histochemistry for hydrophilic and lipophilic substances of the secretion of the lumen of the canals in *S. dulcis* and *T. guianensis*, and for lipophilic substances in fruits of *A. humile*, once the epithelial

cells of *S. dulcis* and *T. guianensis* have the synthesizing machinery (ER, ribosomes, plastids, and dictyosomes) for the production of hydrophilic and lipophilic substances and that the epithelial cells of the fruit present plastids, which are primordial in the secretion of lipophilic substances. The idioblast of the vegetative apices of all species studied are resiniferous (*sensu lato*) and the record of the resin in such structures is inedited for species of this family. The trichomes of the vegetative apices of the four studied species, leaf depressions, bracts, bracteoles, inflorescence axis, and petals of *A. humile*; pedicel of flowers of *L. molleoides*; the external epidermis of the ovary and pistil-like structures of flowers of *T. guianensis* produce heterogeneous secretion comprised of hydrophilic and lipophilic substances; however, the secretory trichomes of the leaf depressions of *A. humile* do not have fatty acids in the composition of their secretions, differently of other trichomes already mentioned. For the first time in this work, there are described trichomes of heterogeneous secretion for members of Anacardiaceae. The trichomes from the vegetative apices of all species studied and from the inflorescence of *A. humile* were classified as colleters, which play a protective role in the meristems against desiccation and against fungi invasion.

In *L. molleoides*, the floral disc found is nectariferous, and its vascularization is comprised of phloematic elements and the nectar released by stomata. The floral disc of *T. guianensis* do not present a characteristic nectariferous tissue, and only the epidermal and subepidermal cells react positively to lipophilic substances (fatty acids and phenolic compounds). The presence of lipid-secretory floral disc is an inedited evidence for Anacardiaceae as well as the presence of a persistent floral disc during the entire development of the fruit. The epidermal and subepidermal cells of the glandular disc of the fruit are secretory structures, and the histochemistry has detected only lipophilic substances in their secretion. The epidermal and subepidermal cells of the disc do present osmiophilic drops in the plastids and mitochondria, and other characteristics that corroborate with the production of lipophilic material by this structure. The fruit endocarpic layer of *T. guianensis* in contact to the locule is uniseriate and a secretory structure, and the secretion is comprised of

polysaccharides and lipids; the seed funicle is also secretory in this species; tissues such endocarp and funicle are being described, in this work, as secretory structures for the first time in the literature.

Introdução Geral

A família Anacardiaceae

Anacardiaceae é conhecida por seus frutos e sementes comestíveis (manga, pistache e caju), plantas produtoras de verniz (*Schinopsis*, *Anacardium*, *Astronium*, *Myracodruon* e *Ozoroa*) pela sua valiosa madeira (*Tapirira guianensis* Aubl.) e, principalmente, por algumas de suas espécies serem causadoras de sérias alergias (*Toxicodendron*, *Gluta* e *Lithraea*); muitas delas também são utilizadas na medicina popular devido aos seus compostos bioativos (*Spondias* e *Rhus*) (Pell 2004).

Esta família é composta por 70 gêneros com aproximadamente 600 espécies de distribuição principalmente pantropical, com poucas de regiões temperadas (Judd *et al.* 1999). Cronquist (1981) a classifica em Sapindales junto com Julianiaceae e Burseraceae; estas três famílias são as únicas da ordem que produzem biflavonóides (Wannan *et al.* 1985, Wannan & Quinn 1988) e apresentam canais secretores no floema primário e secundário (Metcalf & Chalk 1950). Desde Lindley (1830), quando foram pela primeira vez descritas as Anacardiaceae, um grande número de classificações infrafamiliares tem sido proposto; todas levam em conta caracteres florais, especialmente, o número de lóculos no ovário e a maneira de inserção do óvulo (Wannan & Quinn 1991). A classificação infrafamiliar mais amplamente utilizada, proposta por Engler (1892), divide a família em cinco tribos: Anacardiëae, Rhoëae, Semecarpeae, Spondiadeae e Dobineëae, usando como caracteres o número de carpelos e lóculos na flor em antese e no fruto, a morfologia do estilete, a placentação e a morfologia da folha (Wannan & Quinn 1991, Mabberley 1997). Embora largamente aceita por cerca de cem anos, há óbvias contradições nesta classificação, uma vez que não há estudos florais detalhados que consigam sustentar muitas das afirmações propostas por Engler (Wannan & Quinn 1991).

As Anacardiaceae são em sua maioria árvores, havendo também arbustos e lianas. Diversos membros desta família são cultivados em todo o mundo (Pell 2004). As flores em Anacardiaceae variam do hermafroditismo ao unissexualismo até dentro de cada uma das cinco tribos e muitas

delas são consideradas unissexuais por redução (Hormaza & Polito 1996). A maioria das flores das espécies da família é caracterizada pela presença de um disco glandular intraestaminal e óvulos anátropos, que são pêndulos e possuem placentação apical, lateral ou basal. A diversidade morfológica dos frutos desta família é extremamente alta, com uma grande variedade de tipos encontrados e, embora a maioria da família tenha frutos drupáceos, muitos destes são bem distintos entre si, devido a modificações para diferentes mecanismos de dispersão (Pell 2004).

No Brasil, Anacardiaceae está representada por alguns gêneros arborescentes, tais como *Anacardium*, *Lithraea*, *Spondias* e *Tapirira* (Barroso 1991).

Dentre as Anacardiaceae de uso medicinal, destaca-se *Anacardium humile* St.Hil. e *Spondias dulcis* G.Forst. *A. humile* é popularmente conhecida como cajueiro-do-campo, cajuzinho, cajueiro-anão, caju-do-cerrado e cajuzinho do campo, sendo nativa de áreas de cerrados arenosos, campos cerrados e campos rupestres de todo o Brasil (Lorenzi & Matos 2002). A planta inteira é empregada na medicina caseira em várias regiões do país com indicações baseadas na cultura e tradição populares; o exsudato do fruto é utilizado para tratar afecções da pele (Mors *et al.* 2000), a infusão das folhas e do caule é administrada em casos de diarreia (Rodrigues & Carvalho 2001), a secreção do pedúnculo dos frutos é referido na etnofarmacologia como anti-sifilítico (Mors *et al.* 2000) e as inflorescências são utilizadas para baixar o teor de glicose nos diabéticos (Rodrigues & Carvalho 2001). *S. dulcis* é popularmente conhecida no Brasil como cajá-manga; a casca e a raiz da árvore são calmantes e anti-diarreicas. As flores são utilizadas para curar afecções de laringe e os frutos são mais valiosos pelo aroma do que pela quantidade da polpa; os frutos também são usados na fabricação de refrigerantes, marmeladas e conservas e, se submetidos à fermentação juntamente com laranjas, dão bebida alcoólica bastante apreciada no Tahiti.

Algumas espécies de Anacardiaceae podem provocar casos graves de dermatites de contato, dentre estas, destaca-se no Brasil *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Lithraea brasiliensis* Marchand. A espécie *L. molleoides* é conhecida popularmente no Brasil como aroeira-branca,

aroeira brava, aroeira miúda, arrueira, aroeirinha, anieira ou aroeira, ocorrendo desde o Estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (Barkley 1962). A casca das aroeiras, nas espécies dos gêneros *Schinus* e *Lithraea*, é febrífuga e depurativa; possui propriedades adstringentes, sendo usadas nos casos de hemoptises, metrorragias e diarreias; também é utilizada como balsâmica nas doenças das vias urinárias e das vias pulmonares (Coimbra 1958).

Dentre as espécies brasileiras economicamente importantes de Anacardiaceae, destaca-se *Tapirira guianensis* Aubl. Esta espécie é popularmente conhecida como cupiúva, arocirana, cedrói, pau-bombo, cedro-novo, peito-de-pomba, tapirira, tapiriri ou tatapirica (Fleig 1989) e é amplamente distribuída nas terras baixas do Panamá até o Brasil e Peru. *Tapirira guianensis* fornece madeira rija, avermelhada, usada em construções ligeiras, carpintaria, construção naval e lenha para locomotivas e caldeiras. Segundo Corrêa (1926), esta espécie produz um óleo aromático com cheiro de limão e seus frutos são muito procurados por pombos silvestres.

Estruturas secretoras estão envolvidas na produção dos diferentes compostos do metabolismo secundário em órgãos vegetativos e reprodutivos e em Anacardiaceae ocorrem diversos tipos destas estruturas.

Estruturas secretoras em Anacardiaceae

Em Anacardiaceae tem sido observadas estruturas secretoras tais como canais, cavidades, idioblastos, tricomas glandulares e nectários (Solender 1908, Metcalfe & Chalk 1950, 1983, Judd *et al.* 1999, Wunnachit *et al.* 1992).

A presença de **canais secretores** é uma característica muito importante de Anacardiaceae e está relacionada com a produção de substâncias de uso industrial, medicinal e com efeitos alergênicos (Pell 2004); estas estruturas têm ocorrência universal nesta família e, dependendo da espécie, podem ser encontradas associados ao floema primário, secundário e na medula (Metcalfe & Chalk 1950). Eles estão presentes em órgãos vegetativos (Harada 1937, Venning 1948, Paviani

1965, Morretes 1967, Szabó 1971, Fahn & Evert 1974, Tewfic & Habib, 1977, Joel & Fahn 1980a, Gibson 1981, Nair *et al.* 1983, Venkaiah 1992, Luo & Xu 1984, Carmello *et al.* 1995, Torres & Jáuregui 1999, Sawidis *et al.* 2000, Vassilyev 2000) e reprodutivos (Harada 1937, Venning 1948, Lozano 1986, von Teichman 1987, 1998, von Teichman & van Wyk 1991, 1994, 1996, Pienaar & von Teichman 1998, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, 2005). A secreção dos canais de Anacardiaceae é quimicamente diversa (Metcalf & Chalk 1983) e os canais de algumas espécies já foram considerados laticíferos (Venning 1948, Metcalf & Chalk 1983, Luo & Xu 1984). Os canais secretores em algumas espécies desta família apresentam exsudato de natureza heterogênea (Fahn & Evert 1974, Joel & Fahn 1980 a, b, Nair *et al.* 1983, Bhatt & Mohan Ram 1992, Vassilyev 2000); esta secreção heterogênea é denominada de goma-resina por alguns autores. Canais de outras espécies de Anacardiaceae foram relatados como resiníferos por Morretes (1967), Paula & Alves (1973), Gibson (1981) e Sawidis *et al.* (2000) e como gomosos, em *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. (Venkaiah 1992). Segundo Farrell *et al.* (1991), as plantas produtoras de resina e de látex têm sido mais bem sucedidas que os grupos relacionados que não os produzem. As funções atualmente reconhecidas para os canais secretores resiníferos são as de proteção contra herbivoria, impedir a entrada e a proliferação de microorganismos e selar ferimentos (Langenheim 1990, Joel 1980).

Cavidades secretoras também podem estar presentes em órgãos vegetativos (Paula & Alves 1973, Torres & Jáuregui 1999) e reprodutivos (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978, von Teichman & van Wyk 1994, Carmello-Guerreiro & Paoli 2002). Para as cavidades presentes em Anacardiaceae, estão descritas secreções compostas por resina e óleo-resina (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978).

Idioblastos taníferos foram descritos para os órgãos vegetativos (Paviani 1965, Szabó 1971, Paula & Alves 1973, Gibson 1981, Metcalf & Chalk 1983, Naranjo & Pernía 1990) e reprodutivos (Lozano 1986, von Teichman 1987, von Teichman & van Wyk 1991, 1994, 1996, Pienaar & von Teichman 1998) de várias espécies de Anacardiaceae. Polifenóis foram identificados na secreção

dos idioblastos do pseudo-fruto de *Anacardium curatellaefolium* St.Hil. e óleo-resinas nos idioblastos do fruto de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. Segundo Fahn (1990), existem células contendo substâncias que ainda não foram identificadas em Anacardiaceae.

Tricomas glandulares já foram descritos para os órgãos vegetativos e reprodutivos de algumas espécies de Anacardiaceae (Metcalf & Chalk 1950, Paviani 1965, Morretes 1967, Paula & Alves 1973, Sant'Anna 1975, Tewfic & Habib 1977, Gibson 1981, Mitchell & Mori 1987, Naranjo & Pernía 1990, Mitchell 1992, Mitra & Datta 1993, Tomer *et al.* 1996, Torres & Jáuregui 1999). Nos órgãos vegetativos, os tricomas glandulares estão predominantemente associados às folhas. Em algumas espécies de *Anacardium*, estas estruturas secretoras são encontradas em depressões localizadas nas axilas das nervuras foliares (Mitchell & More 1987, Mitchell 1992). Em *Anacardium occidentale* L., Rickson & Rickson (1998) verificaram que as depressões foliares são cobertas internamente por papilas glandulares e atribuíram caráter nectarífero à secreção produzida por estas. Tricomas glandulares foram encontrados na epiderme externa ovariana das flores pistiladas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Machado & Carmello-Guerreiro 2001), em pétalas de *Ozoroa namaquensis* (Sprague) I.von Teichman & A.E.van Wyk (von Teichman & van Wyk 1994) e em frutos de *Rhus glabra* L. (Judd *et al.* 1999).

Apesar de muitos trabalhos indicarem a presença de tricomas glandulares em Anacardiaceae, poucos fazem referência à composição de sua secreção (Metcalf & Chalk 1950, Tomer *et al.* 1996) e sua possível função.

Segundo Mabberley (1997) e Judd *et al.* (1999), as flores de Anacardiaceae possuem um disco **nectarífero** intraestaminal. Por meio de microscopia eletrônica de varredura, Wannan & Quinn (1991) e Gallant *et al.* (1998) constataram a presença deste disco na base do ovário de muitas flores de Anacardiaceae. Porém, apesar de muitas espécies apresentarem este disco, não há estudos estruturais, histoquímicos ou químicos que garantam que estes discos sejam nectaríferos. Descrições micromorfológicas também são escassas e foram realizadas apenas em discos de quatro espécies:

Heeria argentea (Thunb.) Meisn., *Ozoroa namaquensis* (Sprague) I. von Teichman & A.E. van Wyk, *Ozoroa paniculosa* (Sond.) R. Fern. & A. Fern. e *Protorhus longifolia* (Bernh.) Engl. (von Teichman & van Wyk 1994, 1996). Nestas espécies, os discos intraestaminais apresentam variações estruturais. Nas espécies do gênero *Ozoroa*, a estrutura estudada possui uma epiderme papilosa; nas duas outras, a epiderme não é papilosa e apresenta inúmeras estrias cuticulares e estômatos. A semelhança estrutural do disco de *H. argentea* e *P. longifolia*, juntamente com outros caracteres anatômicos observados, parece suportar a hipótese de que estas espécies são filogeneticamente próximas (von Teichman & van Wyk 1996).

Em *Anacardium occidentale* L., diferentemente de muitas Anacardiaceae, o disco floral intraestaminal não é observado e inúmeros tricomas glandulares estão presentes na base da corola ao redor do ovário (Wunnachit *et al.* 1992). Em *A. occidentale*, Wunnachit *et al.* (1992) verificaram que estes tricomas produzem néctar. Estes mesmos autores observaram a presença de lipídios em estádios pré-secretores dos tricomas tanto na sua porção secretora quanto na epiderme da corola, onde estão dispostos. Tricomas nectaríferos também foram encontrados nos ramos das inflorescências desta mesma espécie (Wunnachit *et al.* 1992).

Nectários extraflorais também já foram descritos para os frutos jovens de *A. occidentale* (Wunnachit *et al.* 1992, Rickson & Rickson 1998).

Justificativa da presente investigação

O presente trabalho está vinculado ao projeto temático intitulado “Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais em plantas de cerrado (lato sensu) do estado de São Paulo” (Biota/FAPESP proc. n. 00/12469-3) que pesquisa espécies representativas de cerrado, pertencentes a dez famílias de angiospermas incluindo as Anacardiaceae. Este projeto possui dez subprojetos sendo que parte dos estudos desta tese está enquadrada a dois deles: “Morfologia e

histoquímica das estruturas secretoras” e “Ultra-estrutura de células e tecidos glandulares”. *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. foram contempladas neste estudo. Esta escolha deve-se à ampla ocorrência destas espécies nos cerrados paulistas, à importância destas tanto no âmbito medicinal quanto no econômico e à escassez na literatura de dados anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais das estruturas secretoras presentes nelas. As estruturas secretoras de *Spondias dulcis* G. Forst, representante de áreas de mata, também foram estudadas neste trabalho, dando continuidade as investigações efetuadas na iniciação científica.

Neste trabalho, pretende-se caracterizar anatômica e histoquimicamente as estruturas secretoras presentes em órgãos vegetativos das quatro espécies mencionadas, em órgãos reprodutivos das três espécies de cerrado e ultra-estruturalmente os canais secretores observados nestas espécies.

Os estudos sobre os canais secretores nesta família concentram-se nos órgãos vegetativos. Poucos são os estudos para a detecção da natureza do exsudato e mesmo para a investigação da estrutura e do modo de formação dos canais presentes nos frutos e nas flores. Os estudos e as comparações entre os canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos são muito importantes, pois quando comparações foram feitas entre canais destes órgãos, na maioria das vezes, foram encontradas diferenças, quer na composição da secreção ou no modo de formação dos canais. Joel & Fahn (1980) estudaram os canais secretores presentes no fruto de *Mangifera indica* L. e constataram que estes canais, além de secretarem resina como nos órgãos vegetativos, secretam também polissacarídeos e proteínas. Estas diferenças contribuem para um melhor entendimento dos canais secretores, característica marcante desta família.

Nas Anacardiaceae, a estrutura secretora mais estudada é o canal, sendo que pouca ou nenhuma informação é dada sobre a anatomia, secreção e função das outras estruturas secretoras encontradas nesta família. Ao final deste trabalho, espera-se fornecer maior detalhamento destas

estruturas, como dados anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais passíveis de comparação de pelo menos uma espécie de cada um dos três gêneros mais representativos da família Anacardiaceae do Cerrado do Estado de São Paulo e de *S. dulcis*, que ocorre na mata.

Objetivos

O presente trabalho teve por objetivo caracterizar anatomica e histoquimicamente as estruturas secretoras presentes nos órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae, além de e caracterizar ultra-estruturalmente os canais secretores encontrados nestas espécies. As espécies estudadas foram *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G.Forst. e *Tapirira guianensis* Aubl.

Objetivos específicos

A proposta da presente investigação foi:

- localizar e caracterizar anatomicamente os canais e idioblastos secretores presentes nos ápices caulinares de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis* e evidenciar as principais classes de substâncias que compõem o exsudato destas estruturas secretoras por meio do estudo histoquímico;
- localizar e caracterizar anatomicamente os canais secretores presentes nas flores hermafroditas e estaminadas e nos frutos e pedúnculos de *A. humile*; nas flores pistiladas e estaminadas de *L. molleoides* e nas flores pistiladas e estaminadas e nos frutos de *T. guianensis*; além de caracterizar as principais classes de substâncias que compõem o exsudato destas estruturas secretoras por meio do estudo histoquímico;

- caracterizar anatomicamente os tricomas glandulares dos ápices caulinares vegetativos de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, caracterizar as principais classes de compostos da secreção destes tricomas e inferir sua provável função.
- caracterizar anatomicamente os tricomas glandulares presentes em folhas de *A. humile* e nas flores pistiladas e estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis* ocorrentes no cerrado (*lato sensu*) do Estado de São Paulo, bem como avaliar a natureza química do secretado por meio da histoquímica.
- caracterizar a estrutura e a histoquímica da secreção do disco floral de *L. molleoides* e *T. guianensis* e dos tricomas glandulares corolinos de *A. humile*.
- analisar anatomicamente e histoquimicamente o endocarpo do fruto de *T. guianensis* e anatomicamente, histoquimicamente e ultra-estruturalmente o disco glandular deste mesmo fruto.
- caracterizar ultra-estruturalmente as células epiteliais dos canais secretores dos ápices caulinares de *S. dulcis* e *T. guianensis*, das flores pistiladas e dos frutos de *T. guianensis* e das flores e dos frutos de *A. humile*.

Apresentação da TESE

A Tese está apresentada em sete capítulos:

Capítulo 1: Canais mucilaginosos e resiníferos e idioblastos secretores em ápices caulinares de espécies de Anacardiaceae

Capítulo 2: Canais resiníferos em flores e frutos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, distribuição e histoquímica

Capítulo 3: Morfologia, distribuição e histoquímica de coléteres foliares em espécies de Anacardiaceae

Capítulo 4: Tricomas glandulares em espécies de Anacardiaceae: estrutura e secreção

Capítulo 5: Morfologia e histoquímica dos tricomas glandulares corolinos e do disco glandular de flores de espécies de Anacardiaceae do cerrado

Capítulo 6: Endocarpo e disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis*: anatomia, histoquímica e ultra-estrutura

Capítulo 7: Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae

Estes capítulos estão redigidos na forma de artigos seguindo a maior parte das normas estabelecidas pela Revista Brasileira de Botânica; somente o capítulo 3 segue as normas estabelecidas pela Canadian Journal of Botany. Os capítulos 1, 3, 4 e 5 têm a co-orientação da Profa. Dra. Marília de Moraes Castro e os capítulos 1, 3, 5 e 6 têm a co-orientação da Profa. Dra. Lia Ascensão.

**Canais mucilaginosos e resiníferos e idioblastos secretores em ápices caulinares de espécies de
Anacardiaceae¹**

ANA LACCHIA², SANDRA MARIA CARMELLO GUERREIRO^{2,3}, MARÍLIA DE MORAES
CASTRO² e LIA ASCENSÃO⁴

Título resumido: Canais e idioblastos secretores em Anacardiaceae

-
1. Parte da tese de doutorado de Ana Paula Stechhahn Lacchia, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
 2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.
 3. Autor para correspondência: smcg@unicamp.br
 4. Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal.

RESUMO – (Canais mucilaginosos e resiníferos e idioblastos secretores em ápices caulinares de espécies de Anacardiaceae). Anacardiaceae é economicamente importante devido aos seus frutos e sementes comestíveis, plantas produtoras de verniz e madeira valiosa e espécies utilizadas na medicina popular. As propriedades alergênicas e medicinais desta família têm sido atribuídas à secreção produzida por seus canais, mais especificamente aos constituintes fenólicos. Ápices caulinares de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G.Forst. e *Tapirira guianensis* Aubl. foram estudados para caracterizar a anatomia, distribuição e histoquímica da secreção dos canais e idioblastos a eles associados. Devido a dificuldades na interpretação da nomenclatura das substâncias dos canais em Anacardiaceae, propomos, neste trabalho, dois novos termos: resina *stricto sensu* e resina *lato sensu*. O termo resina *stricto sensu* refere-se às resinas compostas apenas por terpenos voláteis e não voláteis e o termo resina *lato sensu* refere-se às resinas compostas por terpenos voláteis e não voláteis e outras substâncias diversas, como polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos. Em *A. humile*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, os canais estão associados ao floema e na medula dos primórdios foliares, caulinares e das folhas jovens. Canais associados apenas ao floema estão nos ápices caulinares de *L. molleoides*. Os canais têm epitélio unisseriado; os associados ao floema são resiníferos (*lato sensu*) e os medulares de *A. humile* e *S. dulcis*, são mucilaginosos. A presença de canais produzindo secreções quimicamente distintas em um mesmo órgão de uma mesma espécie está sendo descrita na literatura pela primeira vez. Os idioblastos são resiníferos (*lato sensu*) e o registro de resina nestas estruturas é inédito para espécies desta família.

Palavras-chave: Anacardiaceae, canais, mucilagem, resina, idioblastos, histoquímica.

Introdução

O material produzido pelas estruturas secretoras pode ser depositado externamente à célula (secreção extracelular) ou no interior da célula (secreção intracelular; Fahn 1990). A secreção extracelular pode ser acumulada em espaços intercelulares especiais que variam na forma e na origem, sendo mais ou menos esféricos, nas cavidades e alongados nos ductos ou canais (Metcalf & Chalk 1983, Fahn 1990). Os canais secretores têm considerável importância taxonômica e são característicos de um pequeno número de famílias de dicotiledôneas (Metcalf & Chalk 1983). Ao contrário dos canais, os idioblastos mantêm sua secreção no meio intracelular; e produzem uma grande variedade de substâncias (Fahn 1990).

A presença de canais secretores é uma característica muito importante de Anacardiaceae e está relacionada com a produção de substâncias de uso industrial, medicinal e com efeitos alergênicos (Pell 2004); estas estruturas são encontradas em órgãos vegetativos e reprodutivos.

Esta família é conhecida pela toxicidade de algumas espécies para humanos, ocasionando dermatites (Findlay *et al.* 1974, Parra *et al.* 1993, Fernandez *et al.* 1995, Alé *et al.* 1997, Kullavanijaya & Ophaswongse 1997) e até choque anafilático (Fernandez *et al.* 1995). Quatro das cinco tribos definidas por Engler (1883): Spondiadeae, Anacardieae, Semecarpeae e Rhoeae possuem espécies tóxicas e aparentemente nenhum dos gêneros da tribo Dobineae é tóxico (Mitchell 1990).

Diversas substâncias foram identificadas nos exsudatos de algumas espécies da família por meio de trabalhos químicos, como fenóis (Rao *et al.* 1973, Gross *et al.* 1975, Corbett & Billets 1975, Adawadkar & El Solí 1983, Yalpani & Tyman 1983, Du *et al.* 1984, Oelrichs *et al.* 1997), terpenos (Monaco *et al.* 1982, Bestman *et al.* 1988, Marner *et al.* 1991, Alencar *et al.* 1996, Rossini *et al.* 1996), ésteres (Corthout *et al.* 1992), polissacarídeos (Pinto *et al.* 1995, Paula *et al.* 1998) e proteínas (Joel *et al.* 1978).

Os efeitos alergênicos foram atribuídos a alguns compostos fenólicos existentes nos canais resiníferos de parte das espécies de Anacardiaceae. O composto fenólico tóxico mais comum nesta família é o urochiol, mas outros compostos como: cardol, cardanol e ácidos anacárdicos já foram encontrados em algumas espécies (Aguilar-Ortigoza *et al.* 2003). Alguns destes compostos tóxicos também são potencialmente úteis para o tratamento de câncer e de doenças de pele e virais (Mitchell 1990).

Segundo Metcalfe & Chalk (1983), a secreção dos canais de Anacardiaceae é quimicamente diversa e os canais de algumas espécies já foram considerados laticíferos (Venning 1948, Metcalfe & Chalk 1983, Luo & Xu 1984).

Os canais de órgãos vegetativos de Anacardiaceae podem produzir: resina, goma-resina, goma ou látex. A partir dos trabalhos de Fahn & Evert (1974), Joel & Fahn (1980 a, b), Nair *et al.* (1983), Bhatt & Mohan Ram (1992) e Vassilyev (2000), pode-se dizer que os canais secretores em algumas espécies desta família apresentam exsudato de natureza heterogênea, constituído por uma fração lipofílica e uma hidrofílica (polissacarídeos e proteínas); esta secreção heterogênea é denominada de goma-resina por alguns autores. Canais de outras espécies de Anacardiaceae foram relatados como resiníferos por Morretes (1967), Paula & Alves (1973), Gibson (1981) e Sawidis *et al.* (2000) e como gomosos, em *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. (Venkaiah 1992).

Idioblastos são células secretoras classificadas de acordo com as substâncias que secretam, embora células que contêm uma mistura de diferentes substâncias também existam (Fahn 1990). Estas estruturas têm significado taxonômico importante (Metcalfe & Chalk 1983, Baas & Gregory 1985). Idioblastos taníferos foram descritos para os órgãos vegetativos de várias espécies de Anacardiaceae (Paviani 1965, Szabó 1971, Paula & Alves 1973, Gibson 1981, Metcalfe & Chalk 1983, Naranjo & Pernía 1990). Segundo Fahn (1990), existem células contendo substâncias que ainda não foram identificadas em Anacardiaceae.

O objetivo deste trabalho é localizar e caracterizar anatomicamente os canais e idioblastos secretores presentes nos ápices caulinares de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G.Forst. e *Tapirira guianensis* Aubl. e evidenciar as principais classes de substâncias que compõem o exsudato destas estruturas secretoras por meio do estudo histoquímico.

Material e Métodos

Material

Ápices caulinares com primórdios foliares medindo até 0,5 mm e folhas jovens medindo até 0,8 mm de comprimento de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. foram coletados em três áreas de cerrado do estado de São Paulo (SP): Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, Fazenda Palmeira da Serra em Pratânia e distrito de Rubião Júnior em Botucatu. Os ápices vegetativos de *Spondias dulcis* G.Forst. foram coletados em um fragmento florestal na Fazenda Santa Eliza (Campinas) (SP). Os ápices foram obtidos de indivíduos masculinos e femininos de *T. guianensis* e *L. molleoides* e de indivíduos femininos de *S. dulcis*. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *A. humile* St.Hil.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 13; Moji Guaçu, 09-IX-2003, *A. Lacchia* 8; 06-X-2004, *A. Lacchia*, 18, 19, 20, 21; *L. molleoides* (Vell.). Engl.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 16-VIII-2004, *A. Lacchia* 11,12; Pratânia, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 14, 15, 16, 17; *S. dulcis* G. Forst.: BRASIL, SÃO PAULO, Campinas, 15-II-2005, *A. Lacchia* 20, 21, 22; *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7; Pratânia, 03-IX-2002, *A. Lacchia* 1, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 13-X-2002, *A. Lacchia* 3, 18-III-2004, *A. Lacchia* 10. O material botânico foi identificado pelo professor Jorge Tamashiro, da Universidade Estadual de Campinas.

Métodos

Os ápices caulinares das quatro espécies supracitadas foram fixados em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1:18 v/v) por 24 horas (Johansen 1940) e em FNT (Tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) por 48 horas (Lillie 1965). Após esses períodos, alguns materiais foram desidratados em série butílica e incluídos em "Paraplast" e outros desidratados em série etílica e incluídos em resina plástica (Historesin Leica), seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983). Após a inclusão, os materiais foram seccionados transversalmente e longitudinalmente com 12 a 14 µm de espessura em micrótomo rotativo (Microm HM340E).

Para o estudo estrutural, as secções foram coradas com a tripla coloração de Flemming (safranina 1% em etanol 50%, violeta cristal 1% e laranja G 1% em óleo de cravo; Johansen 1940), com safranina 1% em etanol 50% e azul de astra 1% (Gerlach 1984) ou com azul de toluidina (Feder & O'Brien 1968). Todas as lâminas foram montadas em resina sintética (Permout).

Materiais frescos e fixados em FAA foram utilizados para os testes histoquímicos que evidenciam polissacarídeos totais e compostos fenólicos hidrossolúveis e materiais frescos e fixados em FNT, para os testes que evidenciam substâncias lipofílicas. Os tratamentos realizados em todas as espécies foram: vermelho de rutênio para detecção de mucilagens ácidas (Gregory & Baas 1989), ácido tânico e cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato & Lillie 1973); reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent; pararosanilina, CI 42510) para polissacarídeos totais (Jensen 1962), preto de Sudão B (CI 26150) e vermelho de Sudão IV para lipídios totais (Pearse 1985), sulfato azul do Nilo (CI 51180) para lipídios ácidos e neutros (Cain 1947), acetato de cobre e ácido rubeânico para ácidos graxos (Ganter & Jollés 1969, 1970) e cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940). O reagente de Nadi para óleos essenciais e oleorresinas (David & Carde, 1964) não foi aplicado em material fresco e fixado de *L. molleoides* (aroeira) devido a grande toxicidade de seus compostos. O teste com dicromato de potássio para detecção de compostos fenólicos (Gabe 1968) foi realizado apenas em *L. molleoides* e *T. guianensis* e o azul de alciação para detecção de mucopolissacarídeos ácidos (Pearse 1986) somente em *S. dulcis* e *T. guianensis*. Tricloreto de antimônio para detecção de

esteróides (Mace *et al.* 1974), reagente de Wagner para alcalóides (Furr & Mahlberg 1981) e vermelho neutro (em luz ultravioleta) para lipídios (Kirk 1970) foram aplicados apenas em *T. guianensis*.

Ápices caulinares frescos de *A. humile* e de *S. dulcis* foram observados em autofluorescência em luz azul e em luz ultravioleta.

Para o controle dos testes que detectam substâncias lipofílicas, o material botânico foi colocado em solução composta por metanol/clorofórmio/água/HCL (66:33: 4:1 v/v; High 1984) por 48 horas. Após este período, o material foi fixado em FNT e posteriormente tratado com os reagentes e corantes já mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

A coloração do exsudato do lume dos canais, das células epiteliais e dos idioblastos foi observada em material fresco e em material fixado em FAA e FNT, sem tratamento, para uma correta avaliação dos testes histoquímicos.

As fotomicrografias foram realizadas em microscópio (Olympus BX51), utilizando-se filme Kodak Pro Image ASA 100 e as escalas das figuras obtidas por meio de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Resultados

Anatomia e distribuição dos canais secretores (figuras 1-23)

Os canais secretores ocorrem associados ao floema primário e na medula dos primórdios caulinares e foliares e das folhas jovens de *A. humile* (figuras 1-2), *S. dulcis* (figuras 13-14) e *T. guianensis* (figuras 18-19). Apenas canais associados ao floema foram encontrados nos primórdios caulinares e foliares de *L. molleoides* (figuras 6-8).

A formação dos canais secretores associados ao floema e a fase secretora iniciam-se muito cedo, antes mesmo da diferenciação dos elementos do protofloema e do protoxilema. Os canais

medulares são formados mais tardiamente e só são observados em primórdios foliares mais desenvolvidos.

Os canais secretores encontrados nas quatro espécies estudadas são constituídos por epitélio unisseriado (figuras 3, 4, 9-11, 15-17, 23). As células epiteliais apresentam modificações morfológicas ao longo de seu desenvolvimento; inicialmente são arredondadas, devido à expansão da parede periclinal voltada para o lume (figuras 9-10) e, posteriormente, apresentam aspecto retangular a cúbico com paredes periclinais retas (figuras 3-4, 11, 17). Em um mesmo estágio de desenvolvimento do canal, as células epiteliais podem estar em uma mesma fase secretora ou em fases diferentes (figura 23).

As células epiteliais dos canais secretores são circundadas por uma a duas camadas de células que constituem a bainha do canal ou camada de células de cobertura (figuras 15, 23); algumas células desta bainha podem ser idioblastos (figura 23).

Anatomia e distribuição dos idioblastos secretores

Os idioblastos secretores são encontrados nos primórdios caulinares, foliares e nas folhas jovens das quatro espécies estudadas. Eles estão presentes no córtex (figuras 1-2, 14, 19-20), associados aos canais do floema (figuras 3, 7-9, 17, 21) e na medula (figuras 2, 7-8, 12-14, 19). Os idioblastos associados aos canais possuem dimensões menores que as células parenquimáticas adjacentes e os demais idioblastos possuem o mesmo tamanho ou são maiores que estas células.

Nos primórdios foliares de *A. humile*, os primeiros idioblastos começam a surgir na porção cortical (figuras 2, 5) e, à medida que o primórdio se desenvolve, eles são encontrados ao redor dos canais e na porção medular (figura 2), caracterizando uma diferenciação centrípeta. Os idioblastos também apresentam diferenciação acrópeta nos primórdios foliares e caulinares.

Histoquímica da secreção dos canais (figuras 24-59)

Parte da secreção dos canais associados ao floema de *A. humile*, *L. molleoides* e *S. dulcis* é exsudada em forma de gotas que se unem, formando uma fase bastante densa e lipofílica

(figuras 9, 16, 24, 36-38); a outra parte é mais fluida, hidrofílica, e não apresenta gotas (figuras 9, 11, 17, 30, 42). Em *T. guianensis*, parte da secreção é em forma de gotas, que ficam dispersas em uma fase mais fluida; esta observação é mais freqüente em material fresco e em material fixado e incluído em resina plástica. Os canais medulares de *A. humile*, *S. dulcis* e *T. guianensis* possuem secreção de aspecto homogêneo e fluido (figuras 16, 22, 33). A fase lipofílica do exsudato dos canais de *L. molleoides* fica muito escura no material incluído em parafina (figura 37), dificultando a interpretação do resultado de alguns testes histoquímicos realizados neste meio de inclusão.

No material fixado, a fase mais densa da secreção contida no lume do canal associado ao floema de *A. humile*, *L. molleoides* e *S. dulcis* apresenta cor amarela (figuras 9, 16, 24, 36, 38) e a outra fase é incolor (figuras 30, 41). Em *T. guianensis*, tanto em material fresco quanto em fixado, a secreção contida no lume do canal é incolor. Nas quatro espécies, as células epiteliais destas glândulas variam de incolor a amarela clara (figuras 24, 30, 36, 41). A secreção do canal medular de *A. humile* é incolor no material fixado em FAA (figura 33) e a de *S. dulcis* é amarela no material fresco e no fixado (figura 51). Em *T. guianensis*, a secreção do canal medular é amarela em material fresco e em fixado. A autofluorescência da secreção dos canais do floema de *A. humile* e de *S. dulcis* em luz azul e ultra-violeta detectou a presença de compostos fenólicos (figuras 25-26, 45-46).

Ácidos graxos, óleos essenciais, compostos fenólicos e mucilagem estão presentes na secreção do lume dos canais associados ao floema de *A. humile* e *S. dulcis*. O exsudato dos canais medulares destas duas espécies é constituído apenas por mucilagem. Em *L. molleoides*, lipídios neutros, compostos fenólicos e mucilagens são substâncias constituintes da secreção dos canais. Lipídios, óleos essenciais e mucilagens estão presentes na secreção do lume dos canais associados ao floema em *T. guianensis*. A secreção dos canais medulares é constituída por substâncias lipofílicas e mucilaginosas. Os resultados dos testes histoquímicos estão sumarizados nas tabelas 1 e 2.

Histoquímica dos idioblastos secretores (figuras 60-71 e 29, 37, 39, 47, 49, 50, 55)

No material fresco, os idioblastos associados ao floema não possuem coloração; no material fixado em FNT, os idioblastos corticais possuem cor que varia de marrom muito claro à marrom escuro e a maior parte dos idioblastos associados aos canais está sem conteúdo. Em material fixado pelo FAA, a secreção dos idioblastos corticais e medulares possui coloração amarelada (figura 29) e novamente a secreção dos idioblastos junto aos canais dificilmente é preservada.

Óleos essenciais e compostos fenólicos hidrossolúveis foram identificados na secreção dos idioblastos corticais mais próximos à epiderme dos primórdios foliares menores; ácidos graxos, óleos essenciais e compostos fenólicos hidrossolúveis estão presentes na secreção dos idioblastos corticais subepidérmicos dos primórdios foliares maiores e em todos os demais idioblastos corticais e medulares tanto dos primórdios foliares quanto dos caulinares e das folhas jovens. Os idioblastos associados aos canais do floema comumente contêm óleos essenciais; a presença de ácidos graxos e compostos fenólicos é rara. O resultado dos testes histoquímicos está sumarizado na tabela 3.

Em *L. moleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis* somente a secreção dos idioblastos associados aos canais foi analisada. Em material fresco, a secreção dos idioblastos das três espécies varia de incolor à amarela clara; no material fixado ela é amarela (figura 62). A secreção dos idioblastos de *L. molleoides* reage positivamente para ácidos graxos e compostos fenólicos hidrossolúveis; e de *S. dulcis* e *T. guianensis*, para óleos essenciais, ácidos graxos e compostos fenólicos hidrossolúveis. O resultado dos testes histoquímicos está sumarizado na tabela 3.

Discussão

Canais secretores

A localização dos canais secretores dos órgãos vegetativos de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G. Forst. e *Tapirira guianensis* Aubl. segue o padrão das espécies de Anacardiaceae; nesta família, os canais estão sempre associados aos feixes

vasculares, mais especificamente ao floema, e podem também estar presentes na medula e córtex (Tabela 4). Nas espécies estudadas e em *Rhus toxicodendron* L. (Vassilyev 2000), os canais secretores do floema iniciam sua formação e já estão em fase secretora antes mesmo da diferenciação do protofloema. Os canais medulares de *A. humile*, *S. dulcis* e *T. guianensis* iniciam seu desenvolvimento mais tardiamente que os canais do floema, como observado também por Harada (1937), em *Rhus succedanea* L.

Segundo a literatura, os canais secretores de órgãos vegetativos de Anacardiaceae podem produzir látex, resina, goma, goma-resina ou óleo resina (Tabela 4).

Muita confusão ainda existe sobre o termo resina e antes de identificar a secreção dos canais, deve-se esclarecer o conceito desta substância, pois há algumas diferenças em relação ao conceito de resina. Segundo Dell & McComb (1978), ela é uma mistura de compostos, incluindo flavonóides, terpenóides e substâncias gordurosas; entretanto, para Langenhiem (1990), resinas são misturas de terpenóides ou compostos fenólicos que podem ser produzidas em ductos ou superfícies especializadas e que em contato com o ar, endurecem. Este mesmo autor define o que chama de “resina terpenóide” como uma mistura de terpenos voláteis e não voláteis, à qual podem ser adicionados alguns constituintes, como álcoois, aldeídos, ésteres e substâncias neutras amorfas.

Para Fahn (1979), resina é uma mistura de terpenos voláteis e não voláteis; este mesmo autor, relatou que outras substâncias podem também ser secretadas com os terpenos, embora não as tenha especificado. Em estudos com *Mangifera indica* L., Joel & Fahn (1980 a, b) designaram os canais do ápice vegetativo e do fruto de resiníferos; nestes canais, a secreção é composta por terpenos, fenóis, proteínas e carboidratos. Apesar de não especificarem quais substâncias podem ser secretadas em adição aos terpenos, provavelmente em seus conceitos, estejam incluídos os polissacarídeos, os fenóis e as proteínas, motivo pelo qual eles chamam esta mistura de resina. Outros autores, quando verificam a presença de polissacarídeos e terpenos em uma mesma secreção, a denominam de goma-resina (Bhatt & Mohan Ram 1992, Nair *et al.* 1983).

Há ainda autores que mencionam canais ou cavidades secretoras de oleorresina (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978). Fahn (1979) diz que óleos essenciais contêm terpenos voláteis de baixo peso molecular; para Dell & McComb (1978), óleos essenciais são terpenóides que contêm mono-, hemi-, sesqui e diterpenos, mas também podem conter outras substâncias como ésteres aromáticos e compostos fenólicos. Se considerarmos resina como uma mistura de terpenos voláteis e não voláteis, não é necessária a utilização do termo oleorresina, pois está implícito no conceito que a resina pode conter terpenos voláteis (óleos essenciais).

Outros autores já denominaram os canais das Anacardiaceae de canais laticíferos (Venning 1948, Luo & Xu 1984), talvez devido à heterogeneidade da secreção. O termo látex é caracterizado por Fahn (1990) como uma suspensão ou, em certos casos, uma emulsão de muitas partículas pequenas em um líquido com índice de refração diferente, que ocorre ou em séries de células ou em uma única célula alongada; estas duas estruturas especializadas recebem a denominação de laticíferos. Ainda para este autor, o látex pode ser constituído por diversas substâncias que diferem em relação às espécies; dentre estas, podem ser citadas: partículas de borracha, ceras, resinas, proteínas, óleos essenciais, mucilagens, grãos de amido, taninos e alcalóides. Se considerarmos o conceito amplo de resina (mistura de terpenos voláteis e não voláteis, fenóis, polissacarídeos e proteínas) e a heterogeneidade da composição da secreção já encontrada nos canais de Anacardiaceae, podemos notar uma semelhança na composição entre o látex produzido em espécies de outras famílias e a resina secretada pelas Anacardiaceae. Mas, como o conceito de látex também está associado à estrutura que o produz (séries de células ou uma única célula; Fahn 1979), seria melhor expandirmos o termo resina a chamarmos os canais presentes em Anacardiaceae de canais laticíferos. Além disso, atualmente, o látex está sendo considerado o protoplasto do laticífero (Demarco *et al.* 2006) e não pode ser confundido com uma secreção presente no lume de um canal (espaço intercelular). Devido a estas dificuldades na interpretação da nomenclatura das substâncias dos canais em Anacardiaceae, propomos dois novos termos: resina *stricto sensu* e resina *lato sensu*.

O termo resina *stricto sensu* refere-se às resinas compostas apenas por terpenos voláteis e não voláteis e o termo resina *lato sensu* refere-se às resinas compostas por terpenos voláteis e não voláteis e outras substâncias diversas, como polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos.

Os canais associados ao floema de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis* têm secreção heterogênea. Fahn & Evert (1974) também observaram o mesmo fato em canais do floema de *Rhus glabra* L. Em *Rhus toxicodendron* L., os canais associados ao floema apresentam exsudato heterogêneo, produzido em diferentes fases de secreção (Vassilyev 2000). Nas espécies estudadas, não é possível inferir se estes canais possuem fases de secreção distintas ou uma única fase em que secretariam substâncias quimicamente diversas.

Secreções quimicamente distintas estão presentes nos canais das espécies investigadas. Nos canais medulares de *A. humile* e *S. dulcis* só há mucilagem e nos canais associados ao floema de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, bem como no canal medular de *T. guianensis* a secreção é heterogênea composta por lipídios e compostos fenólicos.

Utilizando os novos termos propostos, os canais associados ao floema das quatro espécies e os canais medulares de *T. guianensis* são resiníferos (*lato sensu*), enquanto os canais da medula de *A. humile* e *S. dulcis* são mucilaginosos. A presença de canais em um mesmo órgão de uma mesma espécie produzindo secreções quimicamente distintas está sendo descrita pela primeira vez na literatura.

Os resultados obtidos para a secreção dos canais do floema de *L. molleoides*, através dos testes histoquímicos, corroboram com os resultados obtidos para a secreção destes mesmos canais por Carmello *et al.* (1995), por meio de testes histoquímicos sem material controle. Porém, para a composição da secreção dos canais de *S. dulcis* há muitas contradições entre os testes histoquímicos realizados neste trabalho e os testes histoquímicos realizados por Sant'Anna-Santos *et al.* (2006) para esta mesma espécie. Estes autores não diferenciaram os canais do floema dos canais medulares, quanto às substâncias que compõem as suas secreções, desta forma, infere-se que estes autores não

tenham conseguido notar tal diferença; estes ainda relatam que não foi possível detectar a presença de lipídios neutros (resultado positivo rosa) na secreção dos canais pelo sulfato azul do Nilo e sugerem que a coloração obtida na secreção (resultado positivo azul) pode indicar a presença de lipídios ácidos ou de compostos basófilos; em nosso trabalho, através da metodologia descrita por Cain (1947), mesma metodologia utilizada por estes autores, conseguiu-se detectar a presença de lipídios neutros na secreção dos canais associados ao floema. Ainda segundo Sant'Anna-Santos *et al.* (2006), não foi possível a detecção de polissacarídeos pela reação PAS na secreção do lume dos canais; neste trabalho, polissacarídeos foram encontrados tanto no lume dos canais associados ao floema quanto no lume dos canais medulares pela mesma reação.

Estudos químicos do exsudato dos canais de Anacardiaceae são abundantes na literatura; entretanto, a maioria destes trabalhos analisa apenas uma classe de substâncias presente na secreção, não caracterizando todos os seus componentes (Rao *et al.* 1973, Gross *et al.* 1975, Corbett & Billets 1975, Joel *et al.* 1978, Monaco *et al.* 1982, Adawadkar & El Solí 1983, Yalpani & Tyman 1983, Du *et al.* 1984, Bestman *et al.* 1988, Marner *et al.* 1991, Corthout *et al.* 1992, Pinto *et al.* 1995, Alencar *et al.* 1996, Rossini *et al.* 1996, Oelrichs *et al.* 1997, Paula *et al.* 1998). Aliado a isto, existe apenas um estudo histoquímico (Sant'Anna-Santos *et al.* 2006) e poucos trabalhos em que alguns corantes e reagentes foram utilizados para a detecção dos compostos do exsudato dos canais, sem controle específico para tais substâncias (Paula & Alves 1973, Fahn & Evert 1974, Paula & Heringer 1978, Joel & Fahn 1980 a, b, Carmello *et al.* 1995, Vassilyev 2000). Há ainda alguns autores que identificam os canais como resiníferos sem terem realizado nenhum estudo químico ou histoquímico que comprove a natureza de sua secreção. Todos estes fatos descritos dificultam a tentativa de comparações entre as espécies no que diz respeito à secreção dos canais.

Verificou-se que *T. guianensis* e *S. dulcis*, pertencentes a uma mesma tribo (Spondiadeae), apresentam diferenças em relação aos compostos dos canais dos órgãos vegetativos. Os exsudatos dos canais do floema e da medula de *T. guianensis* são semelhantes, sendo constituídos por

substâncias lipídicas e mucilaginosas; mas em *S. dulcis*, estes são quimicamente distintos: predominantemente lipídicos nos associados ao floema e exclusivamente mucilaginosos nos medulares. Em *A. humile* pertencente à tribo (Anacardiaceae), os canais associados ao floema e medulares também possuem secreção quimicamente distinta. Desta forma, a especialização dos canais na produção de secreções quimicamente distintas parece ser uma característica variável para as tribos definidas por Engler (1892) e não restrita a um determinado táxon.

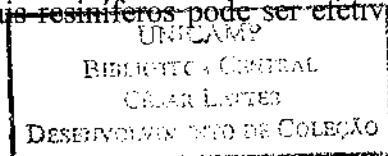
A presença de canais produzindo exsudatos diferentes em um mesmo órgão em *A. humile* e *S. dulcis* deixa clara a importância dos testes histoquímicos para esta família, pois a metodologia utilizada nos estudos químicos analisa apenas a ocorrência de substâncias e não o seu sítio de produção; portanto, não detectariam a ocorrência de canais que produzem exsudatos quimicamente distintos em um mesmo órgão.

Funções das resinas

As resinas são sintetizadas em quantidades significativas por cerca de 10% das famílias existentes. Embora resinas produzidas por estruturas secretoras internas sejam muito comuns, é muito difícil realizar experimentos sobre os efeitos de sua ocorrência nas plantas (Dell & McComb 1978).

Langenheim (1990) sugeriu que a complexa mistura de substâncias presentes nas resinas faz destas um versátil componente defensivo para as plantas; os compostos individuais têm o potencial para serem tóxicos ou dissuasivos em várias concentrações e as frações voláteis influenciam a viscosidade da resina e, portanto, o potencial de envolver os organismos que atacam as plantas. Ainda segundo este autor, os diterpenóides, que facilmente polimerizam, podem rapidamente selar os ferimentos das plantas, impedindo invasões microbianas.

Para Joel (1980), o fato de que certas resinas são venenosas para os seres humanos (tais como a resina de *R. toxicodendron*) combinado com diferenças de densidade dos ductos entre diferentes órgãos e plantas leva à hipótese de que o sistema de canais resiníferos pode ser efetivo



como mecanismo de defesa contra o ataque de pragas. Em frutos de *Mangifera indica* L., Joel (1980) relatou uma significativa correlação entre a resistência do fruto e os vários caracteres do sistema de ductos presente nos mesmos. Nestes frutos, os ductos resiníferos conferem proteção contra o movimento vertical de insetos ovopositores e contra o movimento das larvas de diferentes tipos de pragas no exocarpo (Joel 1980).

A variação na concentração dos compostos é uma propriedade defensiva particularmente importante das resinas, pois insetos são capazes de se adaptar a qualquer composto simples e, de fato, algumas espécies podem utilizá-lo como um atrativo para o acasalamento ou seqüestrar substâncias para usar em sua própria defesa (Langenheim 1990).

Segundo Farrell *et al.* (1991), as plantas produtoras de látex e resina têm sido mais bem sucedidas que os grupos relacionados que não os produzem; para estes autores, a presença do látex e da resina está relacionada com o sucesso das plantas no ambiente.

Idioblastos

Idioblastos secretores estão presentes em órgãos vegetativos de muitas espécies de Anacardiaceae (Tabela 5). Nos órgãos vegetativos, os idioblastos podem ser encontrados no córtex, medula e associados aos canais secretores (no floema); em *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, estas células seguem este padrão de distribuição da família.

Embora Fahn (1979) se refira a numerosas investigações dos idioblastos secretores, ele propôs que muitos problemas relacionados à estrutura e função destas células permanecem sem solução.

Idioblastos são caracterizados como taníferos para muitas espécies de Anacardiaceae (Tabela 5), mas em muitas destas, nenhum teste histoquímico foi realizado para comprovar a presença de tanino. Desta forma, muitos idioblastos podem ter sido erroneamente identificados. Por meio do estudo histoquímico dos ápices vegetativos de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, idioblastos contendo secreção heterogênea (ácidos graxos, óleos essenciais e compostos fenólicos)

estão sendo descritos pela primeira vez nesta família. Devido à heterogeneidade da secreção encontrada nos idioblastos das espécies estudadas, pode-se dizer que estas células produzem resina (*lato sensu*). Idioblastos resiníferos já foram descritos para muitas famílias, mas não para Anacardiaceae (Metcalf & Chalk 1983). De acordo com a composição da secreção destes idioblastos, provavelmente sua função seja a mesma atribuída à secreção dos canais. Além dessa função, os idioblastos podem também ser responsáveis pelos efeitos alergênicos causados por espécies desta família, pois compostos fenólicos, que são as principais substâncias tóxicas de Anacardiaceae, são encontrados em abundância nos idioblastos e muitas vezes não estão presentes na secreção dos canais como em *T. guianensis*.

Referências Bibliográficas

- ADAWADKAR, P.D. & EL SOLÍ, M.A. 1983. An urushiol derivative from poison sumac. *Phytochemistry* 22:1280-1281.
- AGUILAR-ORTIGOZA, C.J., SOSA, V. & AGUILAR-ORTIGOZA, M. 2003. Toxic phenols in various Anacardiaceae species. *Economic Botany* 57:354-364.
- ALENCAR, J.W., MATOS, F.J.A., MACHADO, M.I.L. & CRAVEIRO, A.A. 1996. Essential oil from *Astronium fraxinifolium* Schott. (Anacardiaceae) in different growth stages. *Journal of Essential Oil Research* 8:177-178.
- ALÉ, S.I., FERREIRA, F., GONZÁLEZ, G. & EPSTEIN W. 1997. Allergic contact dermatitis caused by *Lithraea molleoides* and *Lithraea brasileinsis*: identification and characterization of the responsible allergens. *American Journal of Contact Dermatitis* 8:144-149.
- BASS, P. & GREGORY, M. 1985. A survey of oil cells in the dicotyledons with comments on their replacement by and joint occurrence with mucilage cells. *Israel Journal of Botany* 34:167-186.
- BHATT, J.R. & MOHAN RAM, H.Y. 1992. Development and ultrastructure of primary secretory ducts in the stem of *Semecarpus anacardium* (Anacardiaceae). *IAWA Bulletin* 13:173-185.

- BESTMAN, H., CLASSEN, B., KOBOLD, U., VOSTROWSKY, O., KLINGAUF, F. & STEIN, U. 1988. Stem volatile constituents from leaves of *Rhus typhina*. *Phytochemistry* 27:85-90.
- CAIN, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 88:383-392.
- CORBETT, M. & BILLETS, S. 1975. Characterization of poison oak urushiol. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 64:1715-1718.
- CARMELLO, S.M., MACHADO, S.R. & GREGÓRIO, E.A. 1995. Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 18:95-103.
- CORTHOUT, J., PIETERS, L., CLAEYS, M., VAN DEN BERGHE, D. & VLIETNINCK, A. 1992. Antiviral caffeoyl esters from *Spondias mombin*. *Phytochemistry* 31:1979-1981.
- DAVID, R. & CARDE, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus de L'Academie des Sciences (Paris), Série D* 258:1338-1340.
- DELL, B. & McCOMB, A.J. 1978. *Advances in botanical research*. v. 6, Academic Press, New York.
- DEMARCO, D., KINOSHITA, L.S. & CASTRO, M. de M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 29:133-144.
- DEN OUTER, R.W. & VAN VEENENDAAL, W.L.H. 1986. Distribution and development of secretory ducts in trichoscypha (Anacardiaceae). *Acta Botanica Neerlandica* 35:425-435.
- DU, Y., OSHIMA R., IWATSUKI, H. & KUMANOTANI, J. 1984. High resolution of gas liquid chromatographic analysis of urushiols of Lac tree (*Rhus vernicifera*) without derivitization. *Journal of Chromatography* 295:179-186.
- ENGLER, A. 1883. Anacardiaceae. In A.P. & A.C. De Candolle (Eds.), *Monographie Phanerogamarum* 4:171-546. G. Masson, Paris.

- ENGLER, A., 1892. Anacardiaceae. In: ENGLER, A & PRANTL, K (Eds). Die Naturlichen Pflanzenfamilien. Leipzig: Englemann, 3:138-178.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. 4th ed. Pergamon Press, New York.
- FAHN, A. & EVERT, R.F. 1974. Ultrastructure of secretory ducts of *Rhus glabra* L. American Journal of Botany 61:1-14.
- FARRELL, B.D., DUSSOURD, D.E. & MITTER, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? American Naturalist 138:881-900.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. American Journal of Botany 55:123-142.
- FERNANDEZ, C., FIANDOR, A., MARTINEZ-GARATE, A. & MARTINEZ QUESADA, J. 1995. Allergy to pistachio: crossreactivity between pistachio nut and other Anacardiaceae. Clinical and Experimental Allergy 25:1254-1259.
- FINDLAY, G.H., WHITING, D.A., EGGERS, S.H., & ELLIS, R.P. 1974. *Smodium* (African poison ivy) dermatitis: history, comparative plant chemistry and anatomy, clinical and histological features. British Journal of Dermatology 90:535-541.
- FURR, M. & MAHLBERG, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. Journal of Natural Products 44:153-159.
- GABE, M. 1968. Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.
- GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969, 1970. Histologie normale et pathologique. v. 1 e 2, Gauthier – Villars, Paris.
- GERLACH, D. 1984. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. 3rd ed., Georg Thieme, Stuttgart.
- GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. Journal of Microscopy 132:81-85.

- GIBSON, A.C. 1981. Vegetative anatomy of *Pachycormus* (Anacardiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 83:273-284.
- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. Israel Journal of Botany 38:125-174.
- GROSS, M., BAER, H. & FALES, H. M. 1975. Urushiols of poisonous Anacardiaceae. Phytochemistry 14:2263-2266.
- HARADA, M. 1937. On the distribution and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. Botanical Magazine 51:846-56.
- HIGH, O.B. 1984. Lipid histochemistry. Oxford University Press, New York.
- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- JOEL, D.M. 1980. Resin ducts in the mango fruit: A defence system. Journal of Experimental Botany 31:1707-1718.
- JOEL, D.M. & FAHN, A., 1980a. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). II. Resin secretion in the primary stem ducts. Annals of Botany 46:779-783.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980b. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). III. Secretion of protein- polysaccharide mucilage in fruit. Annals of Botany 46:785-790.
- JOEL, M.D., MARBACH, I. & MAYER, A.M. 1978. Laccase in Anacardiaceae. Phytochemistry 17:796-797.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book, New York.
- KIRK, JR. P.W. 1970. Neutral red as lipid fluorochrome. Stain Technology 45: 1-4.
- KULLAVANIJAYA, P. & OPHASWONGSE, S. 1997. A study of dermatitis in the lacquerware industry. Contact Dermatitis 36:244-246.

- LANGENHEIM, J.H. 1990. Plant Resins. *American Scientist* 78:16-24.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LUO, D. & XU, Y.Y. 1984. Preliminary study on the blocked laticiferous canals in the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. *Scientia Silvae Sinicae* 20(4):418-422.
- MACE, M.E. & HOWELL, C.R. 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursors in roots of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany* 52:2423-2426.
- MARNER, F.J., FREYER, A. & LEX, J. 1991. Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia lentiscus*. *Phytochemistry* 30(11):3709-3712.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. *Anatomy of the dicotyledons*. Second edition. v. 2. Wood structure and conclusions of the general introduction. Clarendon Press, Oxford.
- MITCHELL, J.D. 1990. The poisonous Anacardiaceae genera of the world. *Advances in Economic Botany* 8:103-129.
- MONACO, P., PREVITERA, L. & MANGONI, L. 1982. Terpenes in *Pistacia* plants: a possible defense role for monoterpenes against gall-forming aphids. *Phytochemistry* 21:2408-2410.
- MORRETES, B. L. 1967. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do Cerrado II. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 305(Bot. 22):207-44.
- NAIR, G.M.; VENKAIAH, K. & SHAH, J.J. 1983. Ultrastructure of gum-resin ducts in cashew (*Anacardium occidentale*). *Annals of Botany* 51:297-305.
- NARANJO, H.L. & PERNÍA, N.E. 1990. Anatomia y Ecología de los organos subterráneos de *Anacardium humile* ST. HIL. (Anacardiaceae). *Revista Forestal Venezolana*. 24:55-76.
- OELRICHS, P.B., MCLEOD, J.K., SEAWRIGHT, A.A. & NG, J.C. 1997. Isolation and characterization of urushiol components from the Australian native cashew (*Semecarpus australiensis*). *Natural Toxins* 5:96-98.

- PAULA, J.E. & ALVES, J.L.H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). *Acta Amazonica* 3:39-53.
- PAULA, J.E. & HERINGER, P.E. 1978. Estudo anatômico do fruto *Anacardium curatellifolium* St. Hil. Com vistas a sua forma e às bolsas oleíferas. *Brasil Florestal* 9:33-39.
- PAULA, R. C. M., HEATLEY, F. & BUDD, P. M. 1998. Characterization of *Anacardium occidentale* exudates polysaccharide. *Polymer International* 45:27-35.
- PARRA, F.M., CUEVAS, M., LEZUAN, A., ALONSO, M.D., BERISTAIN, A.M. & LOSADA, E. 1993. Pistachio nut hypersensitivity: identification of pistachio nut allergens. *Clinical and Experimental Allergy* 23:996-1001.
- PAVIANI T. I. 1965. Contribuição ao conhecimento do gênero *Schinus* L. Anatomia de quatro espécies e uma variedade. *Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica de Santa Maria* 11:91-110.
- PEARSE, A.G.E. 1985. *Histochemistry theoretical and applies*. v. 2, 4th ed., C. Livingstone, Edinburgh.
- PELL, S.K. 2004. *Molecular Systematics of the cashew family (Anacardiaceae)*. Dissertation, Department of Biological Sciences, Faculty of the Louisiana State University, Louisiana.
- PINTO, G.L., MARTINEZ, M., MENDOZA, J.A., OCANDO, E. & RIVAS, C. 1995. Comparison of three Anacardiaceae gum exudates. *Biochemical Systematics and Ecology* 23:151-156.
- PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. 1973. Mayer's tannic acid- ferric chloride stain for mucins. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 21:56-64.
- RAO, N.S.P., ROW, L.R. & BROWN, R.T. 1973. Phenolic constituents of *Semecarpus anacardium*. *Phytochemistry* 12:671-681.

- ROSSINI, C., MENENDEZ, P., DELLACASSA, E. & MOYNA, P. 1996. Essential oils from leaves of *Schinus molle* and *S. lentiscifolius* of Uruguayan origin. *Journal of Essential Oil Research* 8:71-73.
- SANT'ANNA-SANTOS, B.F., THADEO, M., MEIRA, R.M.S.A. & ASCENSÃO, L. 2006. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Revista Árvore* 30:481-489.
- SANT'ANNA, W. 1975. Anatomia foliar da *Spondias tuberosa* Arruda. *Acta Biologica Paranaense* 4:35-43.
- SAWIDIS, T., DAFNIS, S. & WERYZKO-CHMIELEWSKA, E. 2000. Distribution, development and structure of resin ducts in *Pistacia lentiscus* var. *chia* Duhamel. *Flora* 195:83-94.
- SZABÓ, L. 1971. Development of balsam canals and the localization of tannin in some organs of Sumac (*Cotinus coggygria* Scop). *Agrobotanika* 11:219-233.
- TEWFIC, H.A. & HABIB, A. 1977. Studies on gland development and distribution in Anacardiaceae: *Mangifera indica*. *Egyptian Journal of Horticulture* 4:3-8.
- TORRES, M. & JÁUREGUI, D. 1999. Caracterización anatómica foliar de cuatro especies de árboles frutales: *Anacardium occidentale* L. (meyer); *Mangifera indica* L. (mango); *Spondias purpurea* L. (ciruela de huesito) y *Psidium guajava* L. (guayaba). *Ernstia* 9:155-173.
- VASSILYEV, A.E. 2000. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron*. *International Journal of Plant Sciences* 161:615-630.
- VENKAIAH, K. 1992. Development, ultrastructure and secretion of gum ducts in *Lannea coromandelica* (Hout) Merrill (Anacardiaceae). *Annals of Botany* 69:449-457.
- VENNING, F.D. 1948. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. *American Journal of Botany* 35:637-644.
- YALPANI, M. & TYMANN, J.H.P. 1983. The phenolic acids of *Pistacia vera*. *Phytochemistry* 22:2263-2266.

Tabela 1. Testes histoquímicos em canais secretores dos ápices vegetativos de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Spondias dulcis* G.Forst.

Tratamentos	Substância a ser evidenciada	Cor (resultado positivo)	Canais Ah floema		Canais Ah medula		Canais Lm floema		Canais Sd floema		Canais Sd medula	
			ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)
preto de Sudão B	lipídios totais	azul a preto	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
vermelho de Sudão	lipídios totais	laranja a vermelho	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
sulfato azul do Nilo	lipídios neutros	rosa	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-
acetato de cobre e ac.rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
reagente de Nadi	óleos essenciais	azul	-	+	+	-	NR	NR	-	+	-	-
dicromato de potássio	compostos fenólicos	castanho avermelhado	NR	NR	NR	NR	-	SR	NR	NR	NR	NR
cloreto férrico (FNT)	compostos fenólicos	marrom a preto	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
cloreto férrico (FAA)	compostos fenólicos	marrom a preto	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
azul de Alcão	mucopolissacarídeos ácidos	azul	NR	NR	NR	NR	NR	NR	-	+	-	+
reação PAS	polissacarídeos totais	rosa a vermelho	-	+	+	+	+	+	-	NO	-	+
ácido tânico e cloreto férrico	mucilagens	preto	-	+	-	+	+	+	-	NO	-	+
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho	-	NO	-	+	+	+	-	+	-	+

Ah=*Anacardium humile*, Lm=*Lithraea molleoides*; Sd=*Spondias dulcis*; ce=célula epitelial, ()=figura, +=positivo, -=negativo, NR=não realizado; SR=sobreposição de cor; NO=secreção não observada

Tabela 2. Testes histoquímicos dos canais secretores dos ápices vegetativos de *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamentos	Substância a ser evidenciada	Cor (resultado positivo)	Canais (floema)		Canais (medula)	
			ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)
vermelho neutro	lipídios totais	amarelo	-	+(54)	-	NO
preto de Sudão B	lipídios totais	azul a preto	-	+	-	+(57)
vermelho de Sudão	lipídios totais	laranja a vermelho	-	-	-	NO
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	+(55)	+(48)	+	+
sulfato azul do Nilo	lipídios neutros	rosa	-	-	-	-
acetato de cobre e ac.rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	-	-	-	-
reagente de Nadi	óleos essenciais	azul	-	+	-	NO
reagente de Wagner	alcalóides	vermelho	-	-	-	-
triclóreto de antimônio	esteróides	vermelho alaranjado	-	-	-	-
dicromato de potássio	compostos fenólicos	castanho avermelhado	-	-	-	-
clóreto férrico (FNT)	compostos fenólicos	marrom a preto	-	-	-	-
clóreto férrico (FAA)	compostos fenólicos	marrom a preto	-	-	-	-
sulfato ferroso em formalina	compostos fenólicos	marrom a preto	-	-	-	-
azul de Alcião	mucopolissacarídeos ácidos	azul	-	-	-	-
reação PAS	polissacarídeos totais	rosa a vermelho	-	+	-	+
ácido tânico e clóreto férrico	mucilagens	preto	-	+	-	+(59)
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho		+(56)	-	+(58)

ce=célula epitelial, ()=figura, +=positivo, -=negativo, NO= secreção não observada

Tabela 3. Testes histoquímicos em idioblastos secretores dos ápices vegetativos de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. *Spondias dulcis* G. Forst, *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamentos	Substância a ser detectada	Cor (resultado positivo)	Idioblastos Ah		Idioblastos Lm (Fig.)	Idioblastos Sd (Fig.)	Idioblastos Tg (Fig.)
			(ed)/(eb)/ medula (Fig.)	canais (Fig.)			
preto de Sudão B	lipídios totais	azul a preto	+	-	+(37)	+(47)	+
vermelho de Sudão	lipídios totais	laranja a vermelho	-	-	-	-	+
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	+	-	+(39)	+(49)	+(55)
sulfato azul do Nilo	lipídios neutros	rosa	-	-	-	-	-
acetato de cobre e ac.rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	+(66)	+(raros)	+(67)	+	+
reagente de Nadi	óleos essenciais	azul	+(61, 65)	+(29)	NR	+(50)	+(69)
reagente de Wagner	alcalóides	vermelho	NR	NR	NR	NR	-
dicromato de potássio	compostos fenólicos	castanho avermelhado	NR	NR	+	NR	+(70)
cloreto férrico (FNT)	compostos fenólicos	marrom a preto	+	+	+	+	-
cloreto férrico (FAA)	compostos fenólicos	marrom a preto	+(63-64)	+(60)	+(44)	+(68)	+(71)
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho	+(F)	+(F)	+(F)	+(F)	+(F)
reação PAS	polissacarídeos totais	rosa a vermelho	-	-	-	-	-
ácido tânico e cloreto férrico	mucilagens	preto	+(F)	+(F)	+(F)	+(F)	+(F)

ed=epiderme adaxial, eb=epiderme abaxial, NR=testes não realizados, ()=figura, +=positivo, -=negativo, +(F)=falso positivo.

Tabela 4. Distribuição e secreção de canais em órgãos vegetativos de Anacardiaceae.

Espécies	Canais (caule)	Canais (folha)	Canais (pecíolo)	Canais (raiz)	secreção
<i>Anacardium humile</i> (neste trabalho)	(pc) floema 1° (pc) medula	pf (floema 1°) pf (medula)			resina (<i>lato sensu</i>) mucilagem
<i>Anacardium nanum</i> (Morretes 1967)	-	floema 1°	-	-	resina
<i>Anacardium occidentale</i> (Nair et al. 1983)	floema 1°	-	-	-	goma resina
<i>Anacardium occidentale</i> "cavidades" (Torres & Jáuregui, 1999)	-	(nc) = floema 1° e medula	floema 1° e medula	-	
<i>Anacardium spruceanum</i> (Paula & Alves 1973)	floema 1°, 2°, córtex e medula lenho (bolsas)	(nc) = floema 1°	floema 1°	-	resina
<i>Cotinus coggygria</i> (Szabó 1971)	floema 1° (ápices)	-	-	-	polifenol/ bálsamo natural
<i>Lannea coromandelica</i> (Venkaiah 1992)	floema 1°	-	-	-	goma
<i>Lithraea molleoides</i> (Carmello et al. 1995)	floema 1°	floema 1°	-	-	Lipídios, pectinas, polissacarídeos e compostos fenólicos
<i>Lithraea molleoides</i> (neste trabalho)	(pc) floema 1°	pf (floema 1°)			resina (<i>lato sensu</i>)
<i>Mangifera indica</i> (Venning 1948)	floema 1° e medula	-	-	-	látex

<i>Mangifera indica</i> (Tewfic & Habib 1977)	floema 1°, 2° e medula	(nc) = floema 1° e medula		floema 1° e 2°	
<i>Mangifera indica</i> (Joel & Fahn 1980 b)	floema 1° ápices	--	-	-	resina (terpenos, fenóis, proteínas e carboidratos)
<i>Mangifera indica</i> "cavidades" (Torres & Jáuregui, 1999)	-	(nc) = floema 1° e medula	floema 1°	-	
<i>Pachycormus discolor</i> (Gibson 1981)	floema 1° e 2°	floema 1°	-	floema 1° e 2°	resina
<i>Pistacia lentiscus</i> (Sawidis et al. 2000)	floema 1° e 2°	(nc)/(pl) = floema 1° (pf) = mesofilo	(floema 1°)	floema 2°	resina
<i>Pleiogynium solandri</i> (Venning 1948)	floema 1° e medula	(nm) = floema 1°	-	-	látex
<i>Rhus glabra</i> (Fahn & Evert 1974)	floema 2°	-	-	-	lipídios polissacarídeos gotas de lipídios (células epiteliais)
<i>Rhus succedanea</i> (Harada 1937)	floema 1°, 2° e medula	(nc)/ = floema 1°	floema 1° e medula	floema	resina
<i>Rhus toxicodendron</i> (Vassilyev 2000)	floema 1° e 2°	-	-	-	glicoproteínas e terpenos
<i>Rhus verniciflua</i> (Luo & Xu 1984)	floema 2°	-	-	-	látex
<i>Schinus lentiscifolius</i> (Paviani 1965)	floema 1°	(nc), (m)	floema 1°	-	
<i>Schinus molle</i> (Paviani 1965)	floema 1° e 2°	(nc), (m)	floema 1°	-	
<i>Schinus polygamus</i> (Paviani 1965)	floema 1°	(nc), (m)	floema 1°	-	
<i>Schinus terebinthifolius</i> (Venning 1948)	floema 1° e medula	-	-	-	látex
<i>Schinus terebinthifolius</i> (Paviani 1965)	floema 1° e 2°	(nc), (m)	floema 1° e medula	-	
<i>Schinus terebinthifolius</i> (variedade) (Paviani 1965)	floema 1° e 2°		floema 1°	-	
<i>Semecarpus anacardium</i> (Bhatt & Mohan Ram 1992)	floema 1°	-	-	-	goma-resina

<i>Spondia dulcis</i> (Venning 1948)	floema 1° e medula	-	-	-	látex
<i>Spondias dulcis</i> (Sant'Anna-Santos <i>et al.</i> 2006)	-	floema 1° e medula			goma-resina
<i>Spondias dulcis</i> (neste trabalho)	(pc) floema 1° (pc) medula	(pf) floema 1° (pf) medula	-	-	resina (senso lato) mucilagem
<i>Spondias purpurea</i> L. "cavidades" (Torres & Jáuregui 1999)	-	(nc) = floema 1°	floema 1° e medula	-	
<i>Spondias tuberosa</i> (Sant'anna 1975)	-	(nc), (pl)	-	-	
<i>Tapirira guainensis</i> (neste trabalho)	(pc) floema 1° (pc) medula floema 1°, 2°, córtex e medula	(pf) floema 1° (pf) medula (nc)/(nl)/ (rq)/(pl) = floema 1°	(nc) = floema 1° e medula	floema 1° e 2°	resina (senso lato) resina (senso lato) lipídios (floema 1° e córtex) não lipídios (floema 2° e medula)
(Den Outer & van Vaenendaal 1986)					

(nc) = nervura central, (nm) = nervuras maiores, (m) = mesofilo, (nl) = nervuras laterias, (rq) = raque, (pl) = peciólulo e (pf) = primórdio foliar, (pc) = primórdio caulinar.

Tabela 5. Distribuição e secreção de idioblastos em órgãos vegetativos de Anacardiaceae.

Espécies	Idioblastos associados aos canais (caule/folha)	Idioblastos outros (caule/folha)	Idioblastos (secreção)
<i>Anacardium humile</i> (neste trabalho)	(av epígeos) (pf), (pc), (fj)	(pf), (pc), (fj) = córtex e medula	resina (<i>lato sensu</i>)
<i>Anacardium humile</i> (Naranjo & Pernía 1990)	(av) = hipógeo	(av) hipógeos (escassos)	taninos
<i>Anacardium spruceanum</i> (Paula & Alves 1973)	(c) (lf) = (nc)	(c) = (pt), córtex e medula (p) = medula (lf) = (pp) (nc) = córtex	taninos
<i>Cotinus coggygria</i> (Szabó 1971)	(pf)	(pf) = (ed), (eb) e (h)	taninos
<i>Lithraea molleoides</i> (neste trabalho)	(pf), (pc), (fj)	(pf), (pc), (fj) = córtex e medula	resina (<i>lato sensu</i>)
<i>Pachycormus discolor</i> (Gibson 1981)	-	(pf) = (eb), (ed), (tc) (p); (r)	taninos
<i>Pistacia lentiscus</i> (Sawidis <i>et al.</i> 2000)	(lf) = numerosos	(lf) -	compostos fenólicos
<i>Schinus lentiscifolius</i> (Paviani 1965)	(c) = bainha perimedular	(c) = (bainha) perimedular e córtex	taninos
<i>Schinus molle</i> (Paviani 1965)	(c) = bainha perimedular	(c) = (bainha) perimedular e córtex	taninos
<i>Schinus polygamus</i> (Paviani 1965)	(c) = no	(c) (medula) = em grupos (córtex)	taninos
<i>Schinus terebinthifolius</i> (Paviani 1965)	(c) = no	(c) = medula (escassos) e (córtex)	taninos
<i>Schinus terebinthifolius</i> (variedade) (Paviani 1965)	(c) = bainha externa e interna aos canais	(c) (bainha) perimedular e cortical	taninos
<i>Spondias dulcis</i> (Sant' Anna-Santos <i>et al.</i> 2006)	(pc)	(pc) = córtex	taninos
<i>Spondias dulcis</i> (neste trabalho)	(pf), (pc), (fj)	(pf), (pc), (fj) = córtex e medula	resina (<i>lato sensu</i>)
<i>Tapirira guainensis</i> (neste trabalho)	(pf), (pc), (fj)	(pf), (pc), (fj) = córtex e medula	resina (<i>lato sensu</i>)

(c) = caule, (lf) = lâmina foliar, (m) = mesófilo, (av) = ápice vegetativo, (pf) = primórdio foliar, (fj) = folha jovem, (eb) = epiderme abaxial, (ed) = epiderme adaxial, (tc) = tecido parenquimático central, (p) = pecíolo, (r) = raque, (h) = hipoderme, (nc) = nervura central.

Figuras 1-5. Distribuição e estrutura dos canais e idioblastos secretores de *Anacardium humile* St.Hil. Secções transversais. 1-2. Canais associados ao floema, canais medulares e idioblastos corticais em primórdios foliar e caular. 2. Idioblastos medulares em primórdios mais desenvolvidos. 3. Canal associado ao floema com epitélio unisseriado composto por células de paredes periclinais retas e idioblastos associados; notar secreção no lume do canal. 4. Canal medular com epitélio unisseriado e idioblastos medulares. 5. Primórdios foliares em início de desenvolvimento com idioblastos corticais. Barras = 300µm (1-2), 30µm (3-4), 75µm (5).

Figuras 6-12. Distribuição e estrutura dos canais e idioblastos secretores de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. Notar secreção no lume dos canais. Secções transversais. 6-7. Primórdios foliares com canais associados ao floema. 8. Primórdio caular com canais associados ao floema e idioblastos. 9-11. Canais associados ao floema com epitélio unisseriado. 9. Células epiteliais com paredes periclinais côncavas e secreção heterogênea no lume do canal. 10. Células epiteliais com paredes distendidas. 11. Células epiteliais com paredes periclinais retas. 12. Idioblastos medulares no primórdio caular. Barras = 300µm (6), 75µm (7-8), 30µm (9-12).

Figuras 13-17. Distribuição e estrutura dos canais e idioblastos secretores de *Spondias dulcis* G.Forst. Notar secreção no lume dos canais. 13. Secção longitudinal. 14-17. Secções transversais. 13. Primórdios foliares e caular com canais associados ao floema e medulares. 14. Primórdio caular com canais associados ao floema, canais medulares e idioblastos. 15. Canal associado ao floema com epitélio unisseriado e bainha de células parenquimáticas. 16. Secções distintas no lume do canal associado ao floema e do canal medular. 17. Canal associado ao floema com epitélio unisseriado, células epiteliais de paredes periclinais retas e idioblastos. Barras = 300µm (13-14), 30µm (15-17).

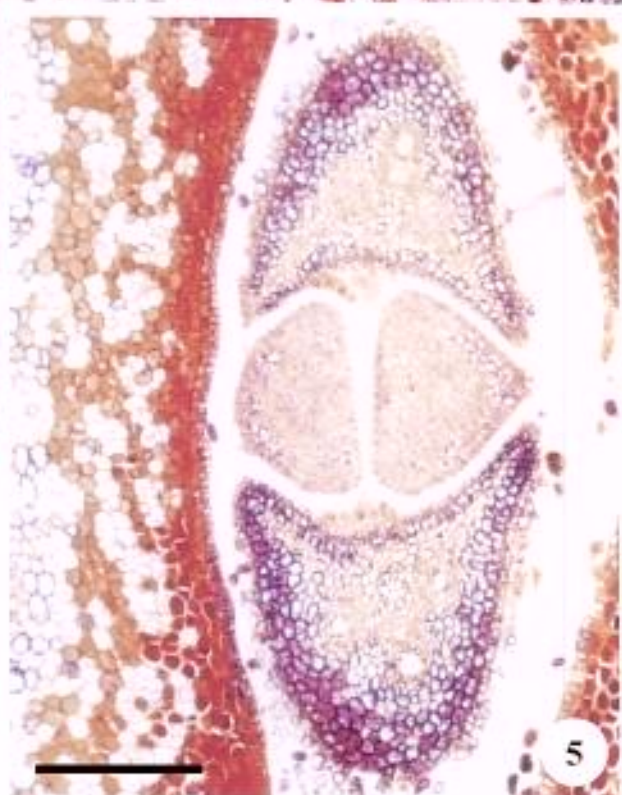
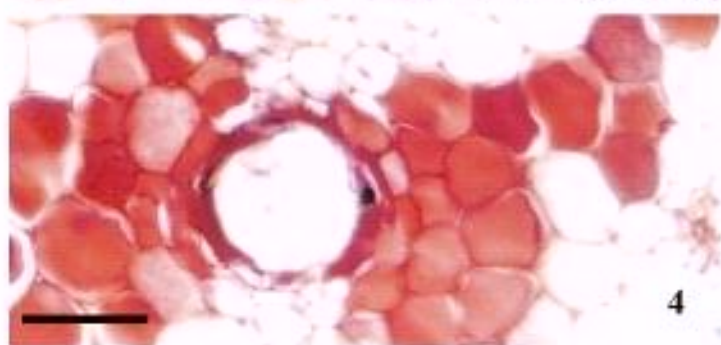
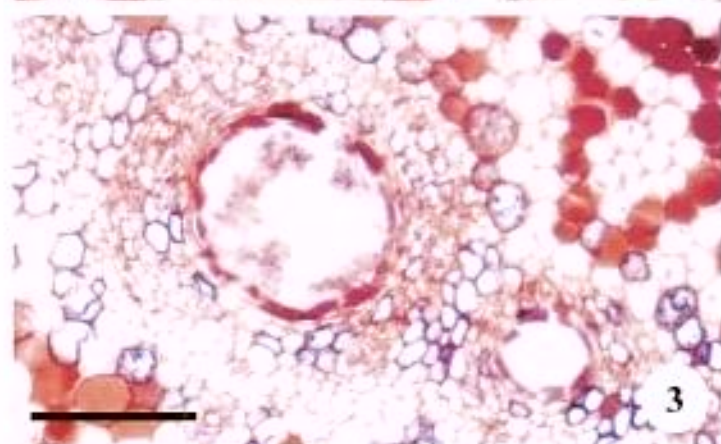
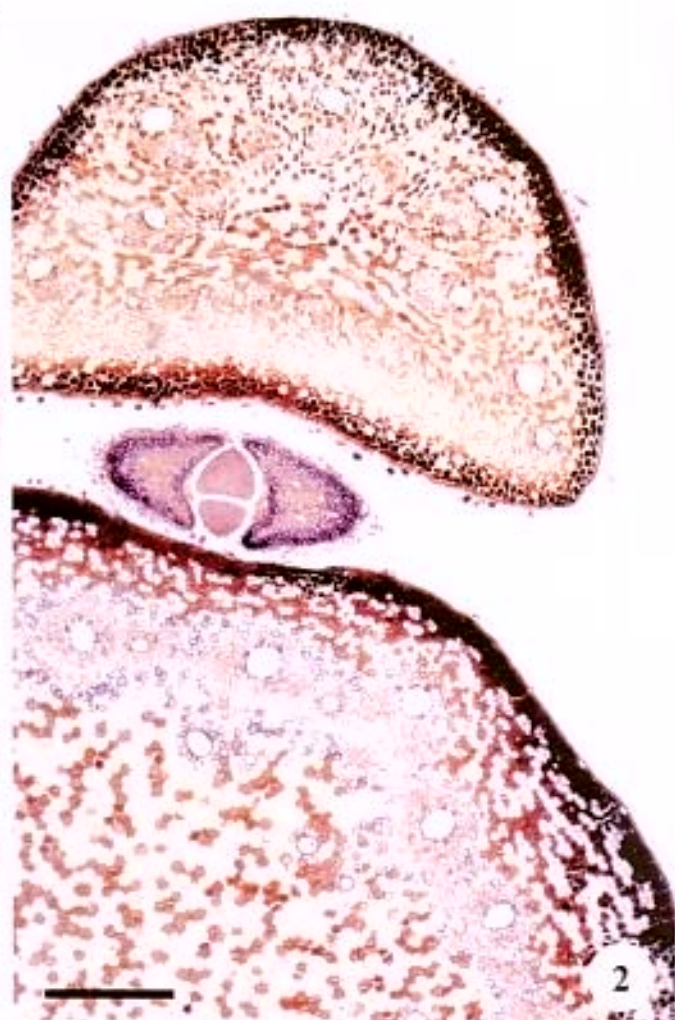
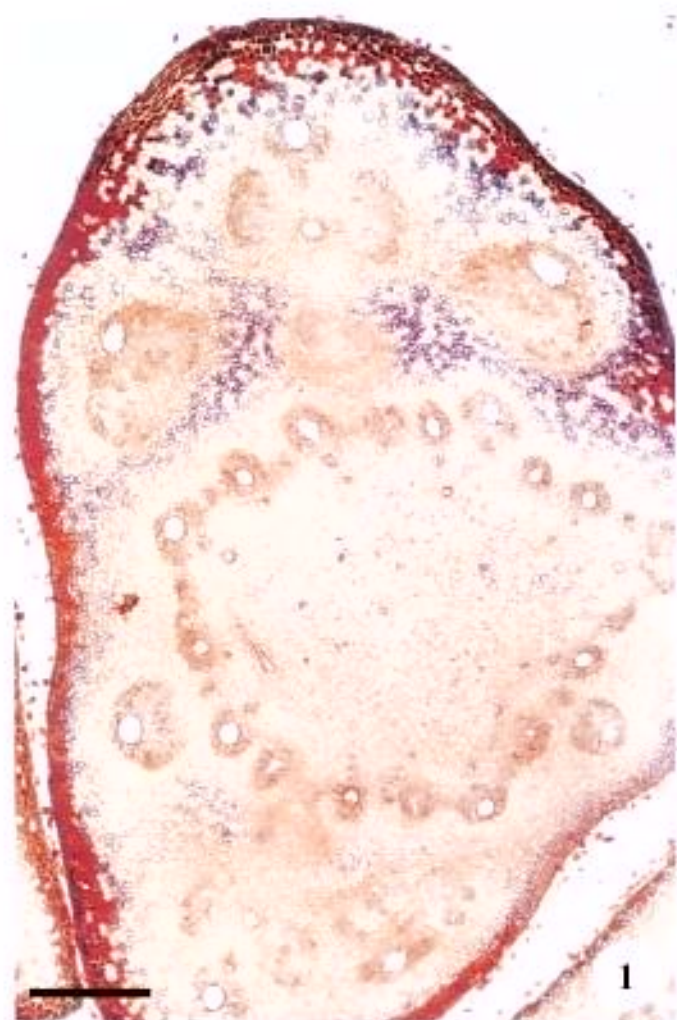
Figuras 18-23. Distribuição e estrutura dos canais e idioblastos secretores de *Tapirira guianensis* Aubl. Notar secreção no lume dos canais 18, 21-22. Secções longitudinais. 19, 20, 23. Secções transversais. 18. Primórdios foliares e caulinar com canais associados ao floema e canais medulares. 19. Primórdio caulinar com canais associados ao floema, canais medulares e idioblastos. 20-21. Primórdios foliares com canais associados ao floema e idioblastos. 22-23. Canais medulares. 23. Canal com epitélio unisseriado, bainha de células parenquimáticas e idioblastos. Barras = 300µm (18), 150µm (19-20), 75µm (21-22), 30µm (23).

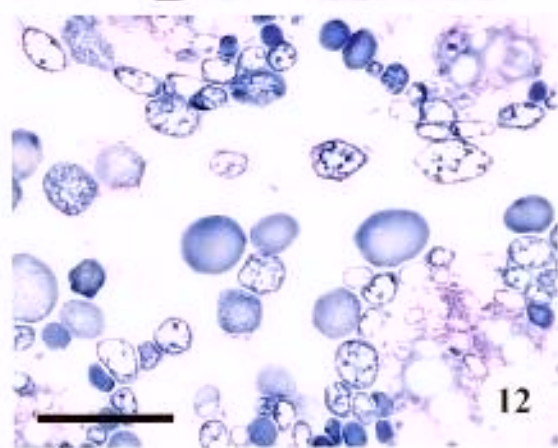
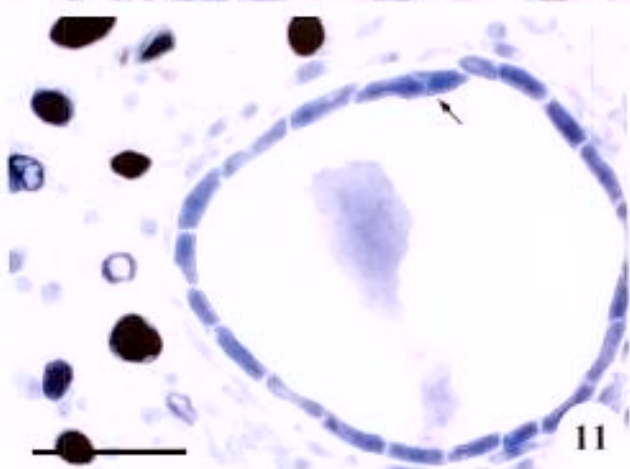
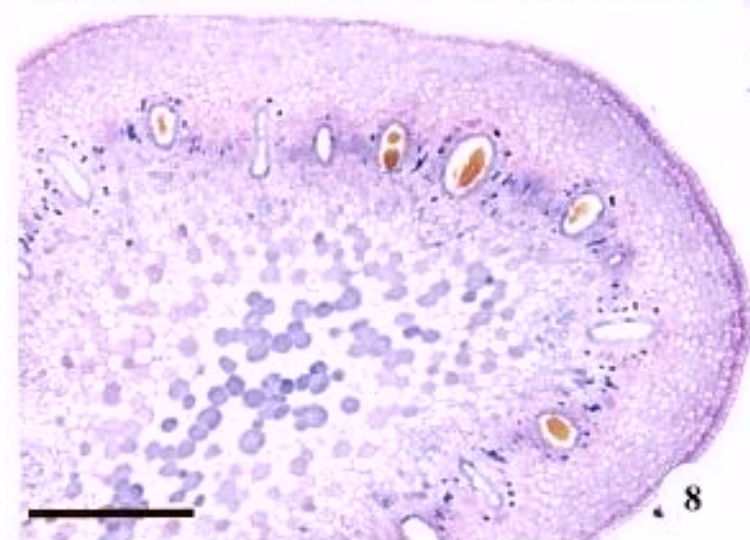
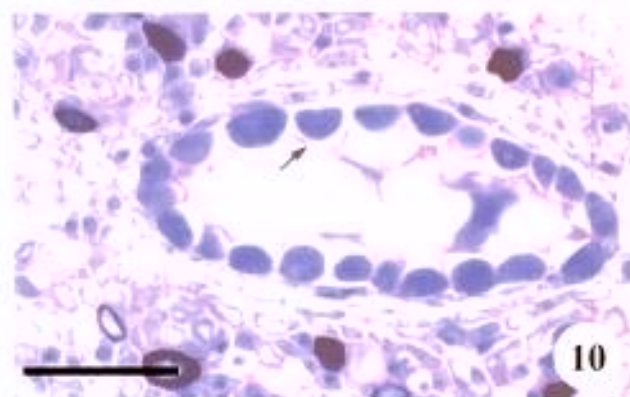
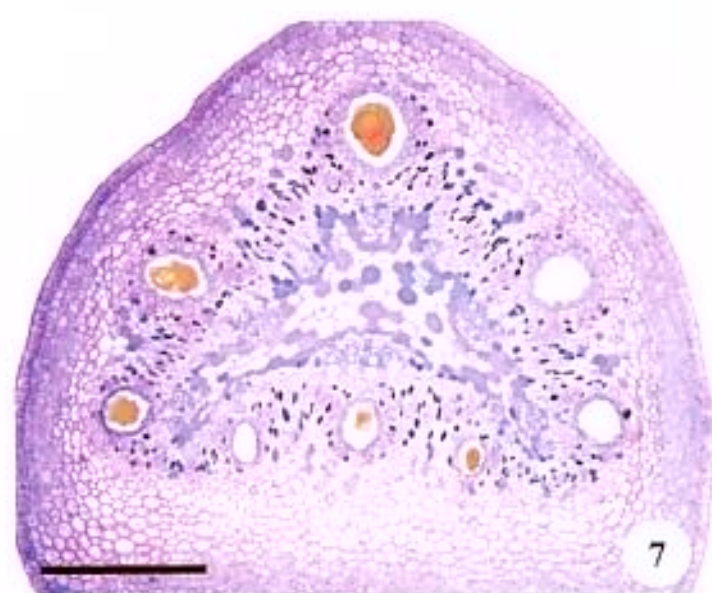
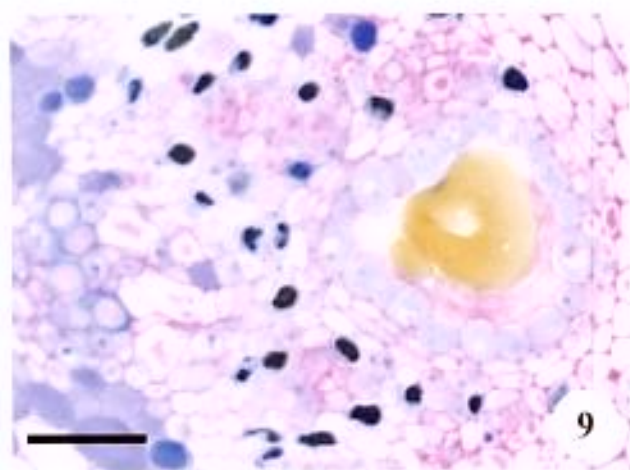
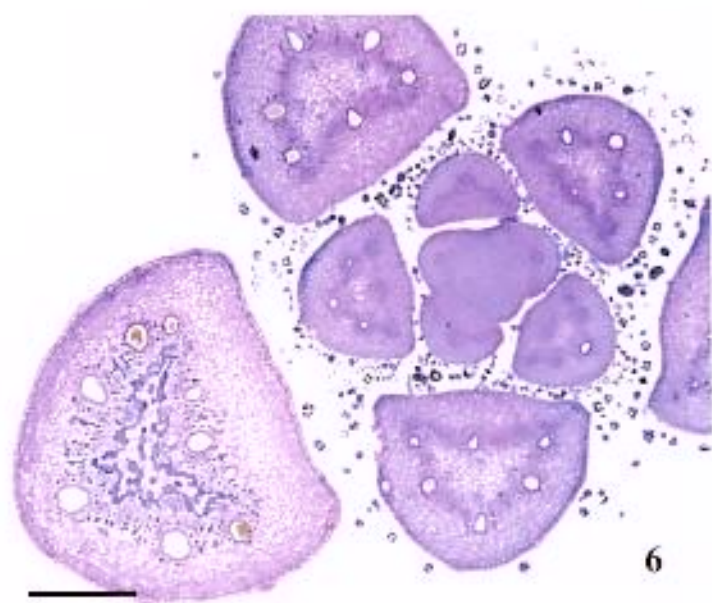
Figuras 24-35. Testes histoquímicos e autofluorescência (25-26) em canais e idioblastos secretores de *Anacardium humile* St.Hil. 24-35. Secções transversais. 24-32. Canais associados ao floema. 33-35. Canais medulares. 24, 27, 28. Material fixado em FNT. 30-35. Material fixado em FAA. 25, 26, 29. Material fresco. 24, 30, 33. Material sem tratamento histoquímico. 25. Autofluorescência em luz azul. 26. Autofluorescência em luz UV. 27. Teste com preto de Sudão B. 28. Teste com sulfato azul do Nilo. 29. Teste com reagente de Nadi. 31. Reação PAS. 32. Teste com cloreto férrico. 34. Teste com ácido tânico e cloreto férrico. 35. Teste com vermelho de rutênio. Barras = 30 µm (24-35).

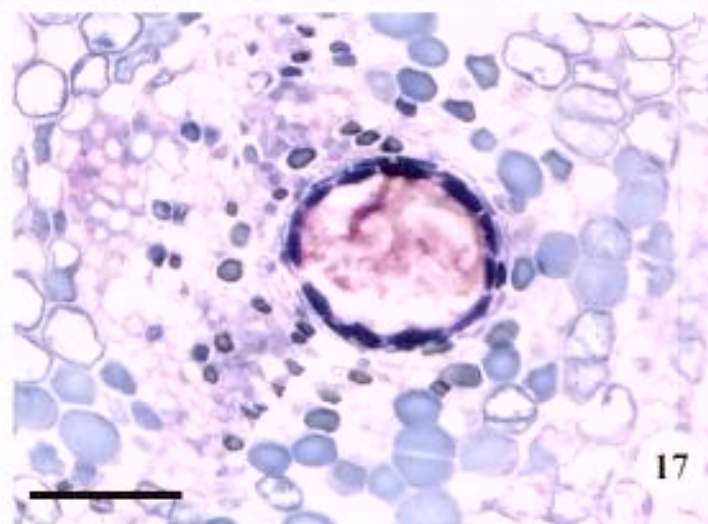
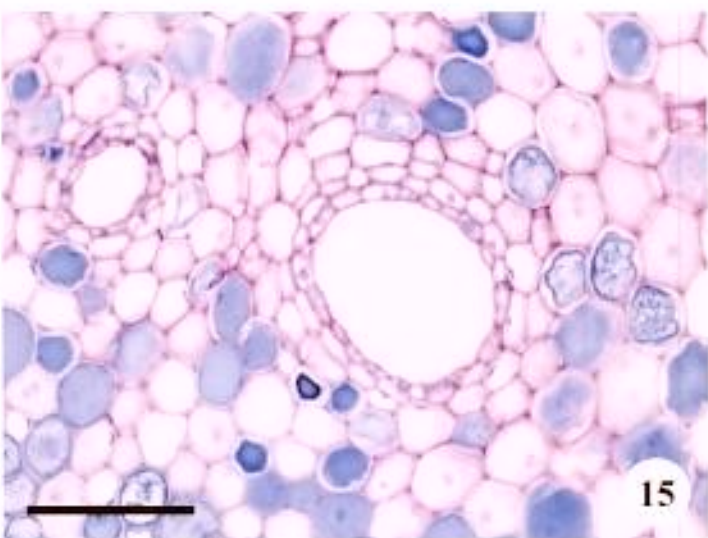
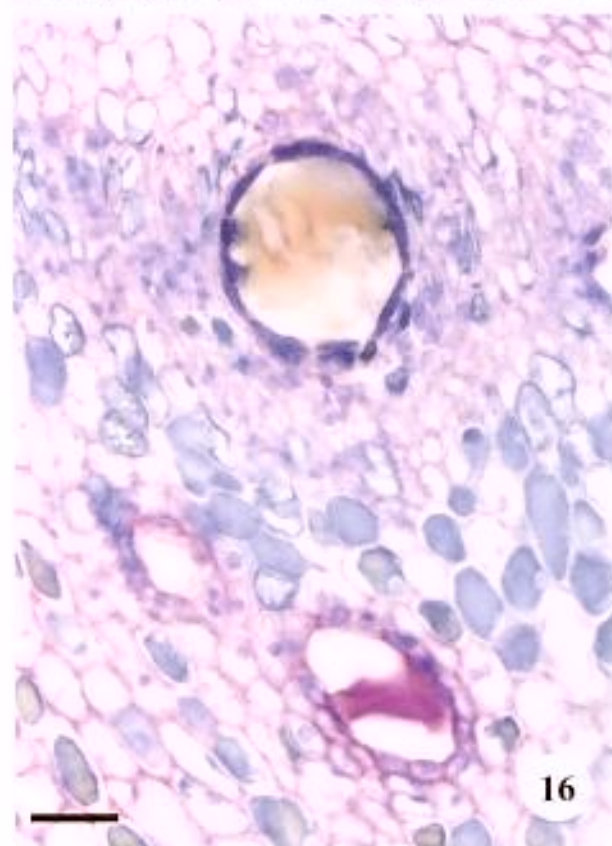
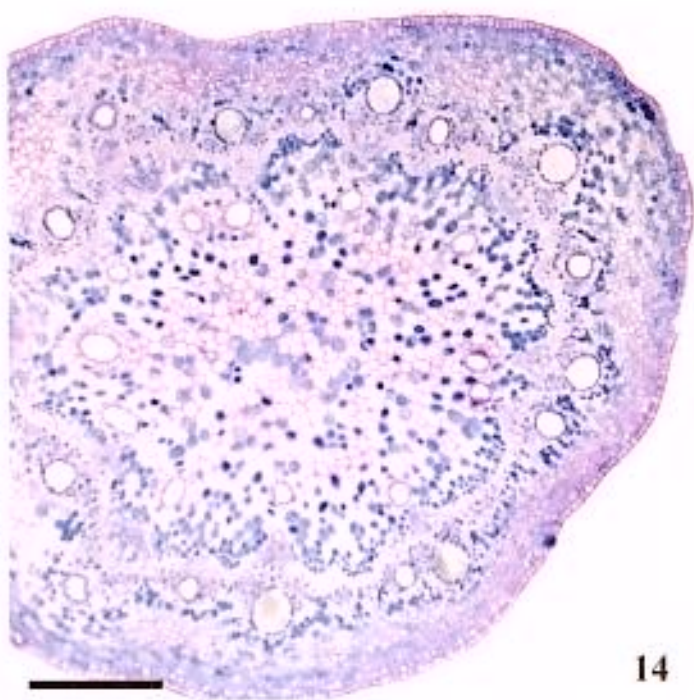
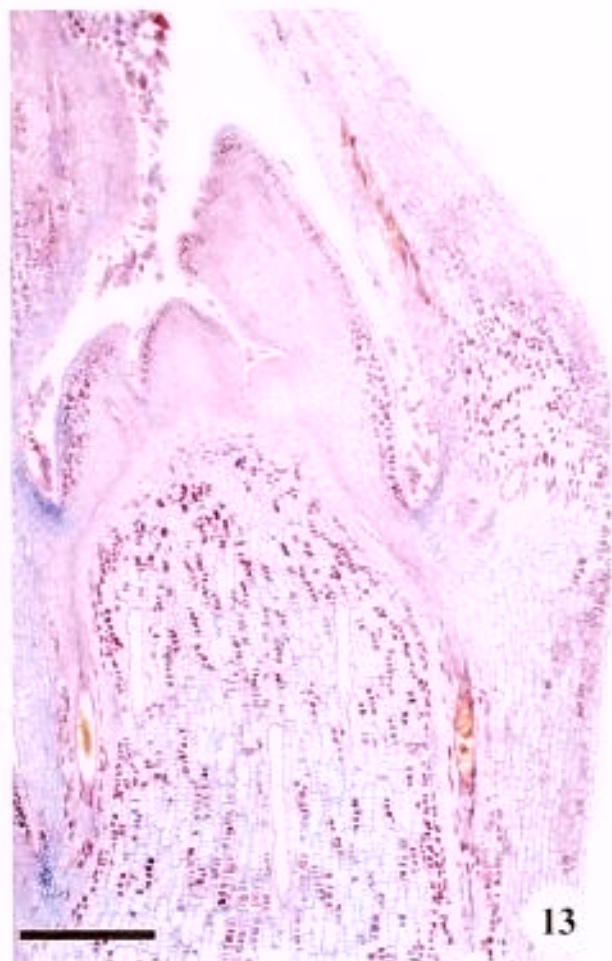
Figuras 36-47. Testes histoquímicos e autofluorescência em canais secretores associados ao floema e idioblastos de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (36-44) e *Spondias dulcis* G.Forst. (45-47). 36-46. Secções transversais. 48. Secção longitudinal. 36-40 e 47. Material fixado em FNT. 41-44. Material fixado em FAA. 45-46. Material fresco. 36, 38 e 41. Material sem tratamento histoquímico. 37. Teste com preto de Sudão B. 39. Teste com sulfato azul do Nilo. 40, 44. Teste com cloreto férrico. 42. Reação PAS. 43. Teste com ácido tânico e cloreto férrico. 45. Autofluorescência em luz azul. 46. Autofluorescência em luz UV. Barras = 30 µm (37-47), 75µm (48).

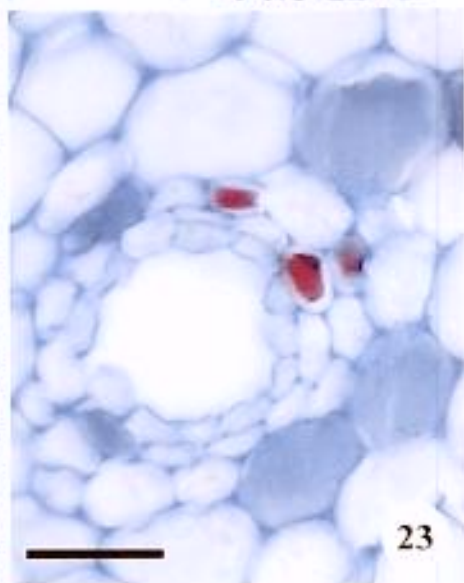
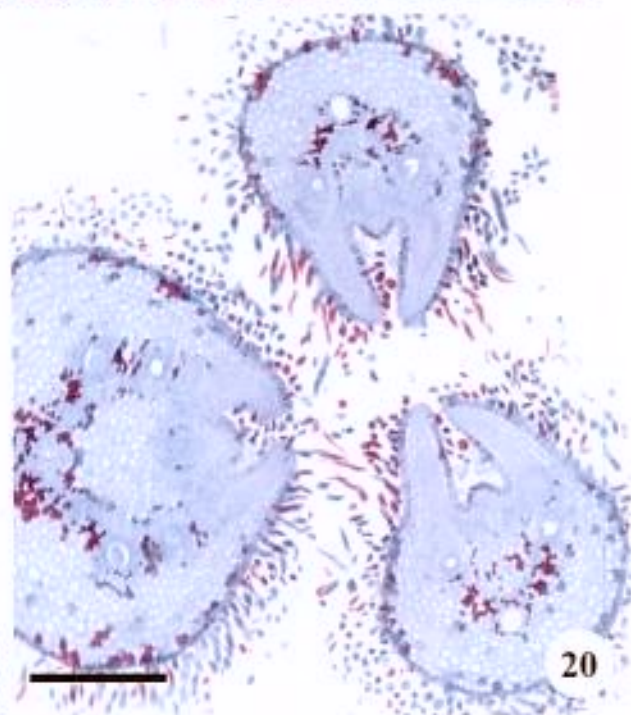
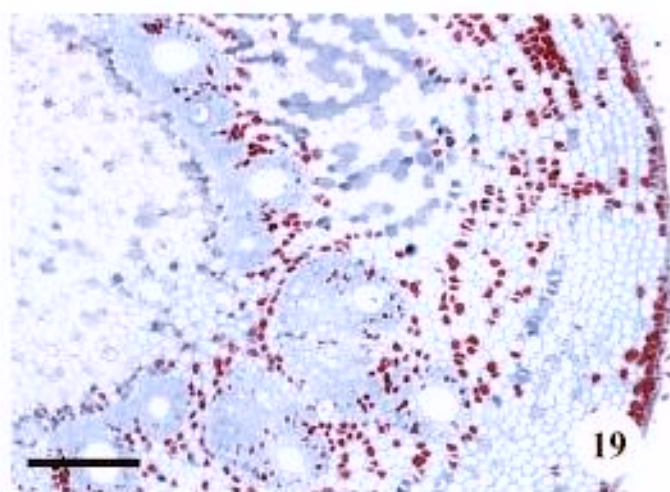
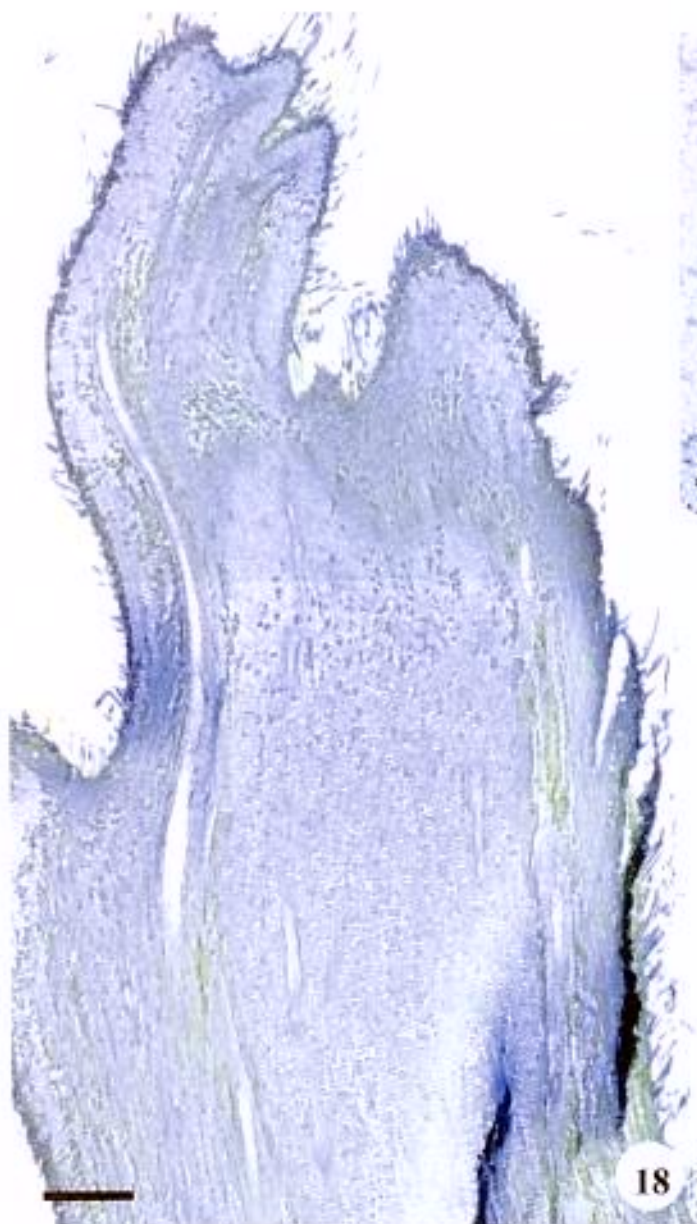
Figuras 48-59. Testes histoquímicos em canais e idioblastos secretores de *Spondias dulcis* G.Forst. (48-53) e *Tapirira guianensis* Aubl. (54-59). 48-50, 54-57. Canais associados ao floema. 51-53, 57-59. Canais medulares. 48-51, 53-58. Secções transversais. 52, 59. Secções longitudinais 48, 49, 55. Material fixado em FNT. 52, 56, 58, 59. Material fixado em FAA. 50, 52, 53, 55, 57. Material fresco. 48. Teste com vermelho de Sudão. 49, 55. teste com sulfato azul do Nilo. 50. Teste com reagente de Nadi. 51. Material sem tratamento histoquímico. 52. Teste com Azul de alcião. 53. Reação PAS. 54. Teste com vermelho neutro. 56, 58. Teste com vermelho de rutênio. 57. Teste com preto de Sudão B. 59. Teste com ácido tânico e loreto férrico. Barras = 30 μm (48-51, 53,56,58), 75 μm (52, 54,55, 59).

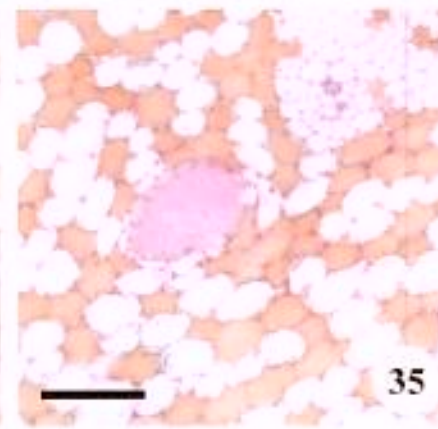
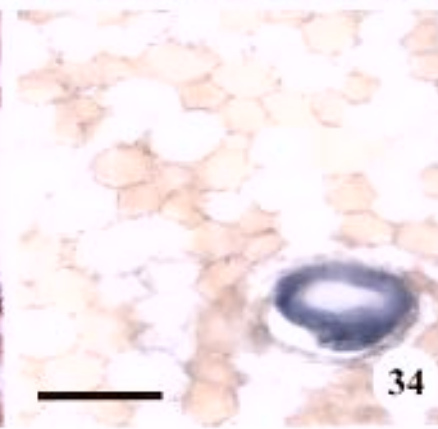
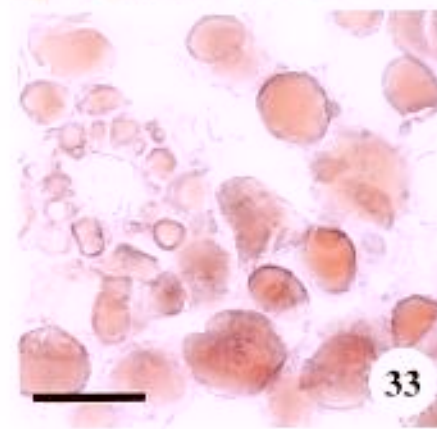
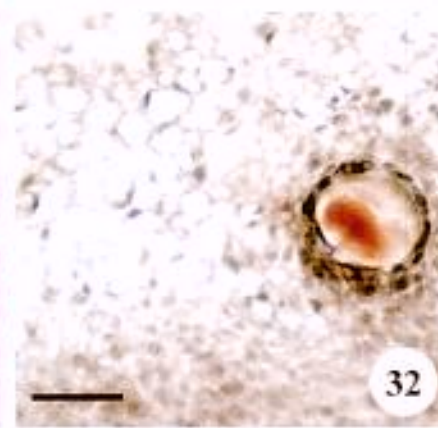
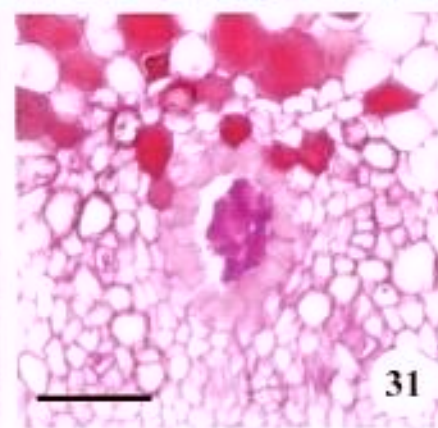
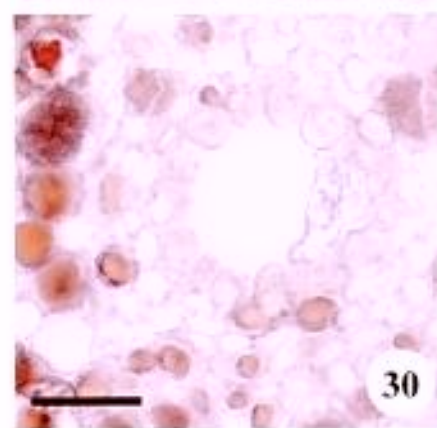
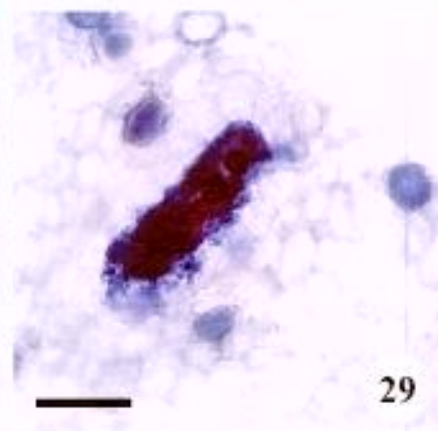
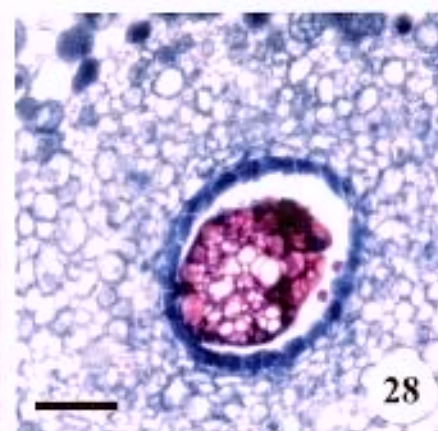
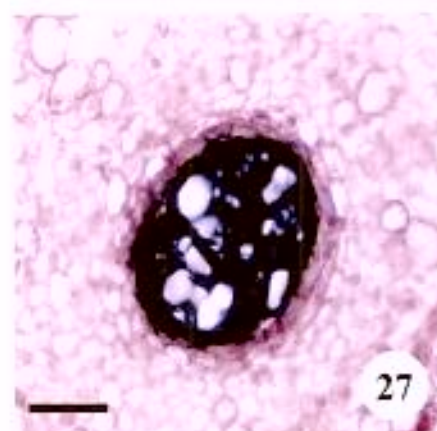
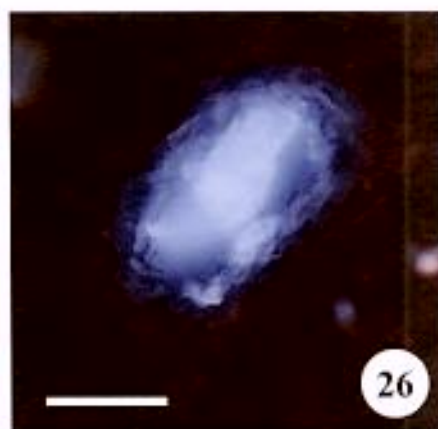
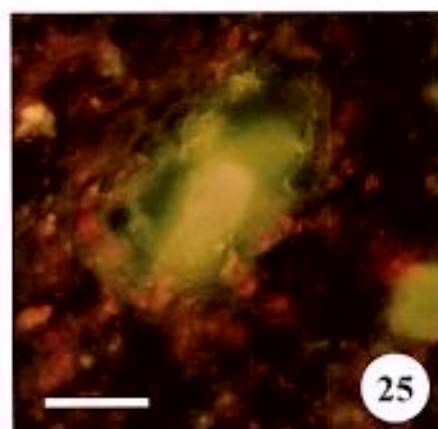
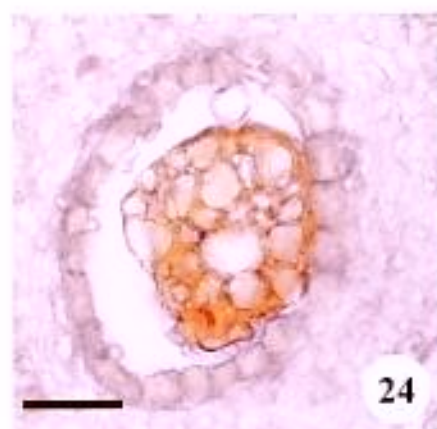
Figuras 60-71. Testes histoquímicos em idioblastos do ápice vegetativo de *Anacardium humile* St.Hil. (60-66), *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (67), *Spondias dulcis* G.Forst. (68) e *Tapirira guianensis* Aubl. (69-71) 60-66, 67-71. Secções transversais. 66. Secção longitudinal. . 60, 67-71. Idioblastos associados aos canais. 61-63. Idioblastos corticais. 64-66. Idioblastos medulares. 60-62, 65, 69-71. Material fresco. 62-64. Material fixado em FAA. 67. Material fixado em FNT. 62. Material sem tratamento histoquímico. 61, 63, 64,71. Teste com cloreto férrico. 61, 65, 70. Teste com reagente de Nadi. 66-67. Testes com acetato de cobre e ácido rubeânico. 71. Teste com dicromato de potássio. Barras = 75 μm (61-64, 71-72), 50 μm (65-66), 150 μm (67), 30 μm (68-70).

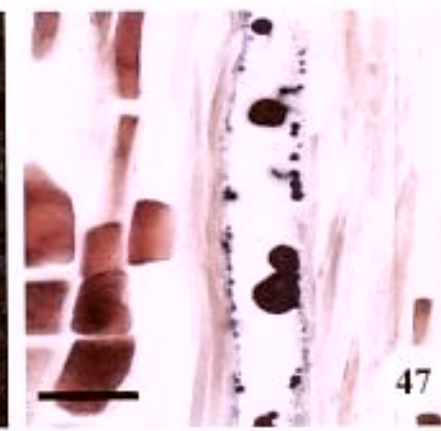
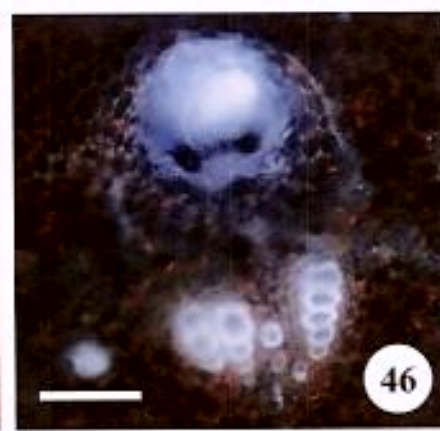
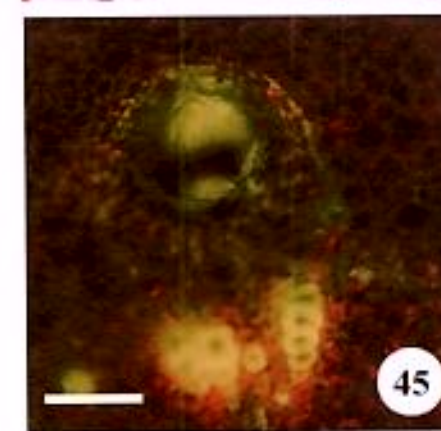
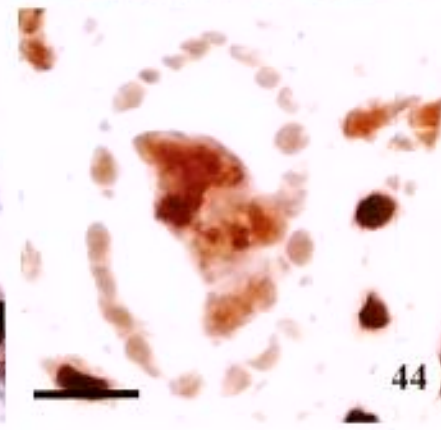
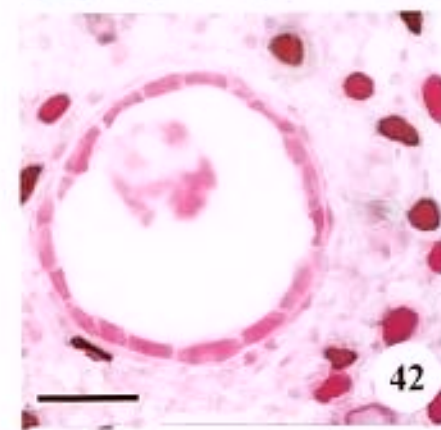
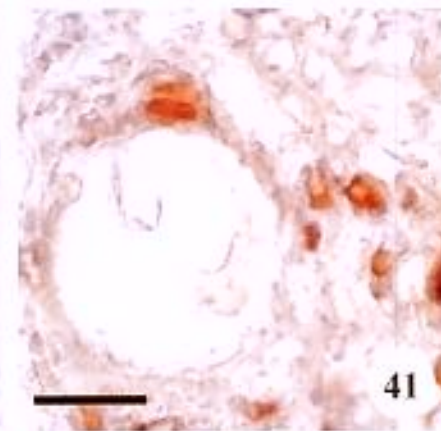
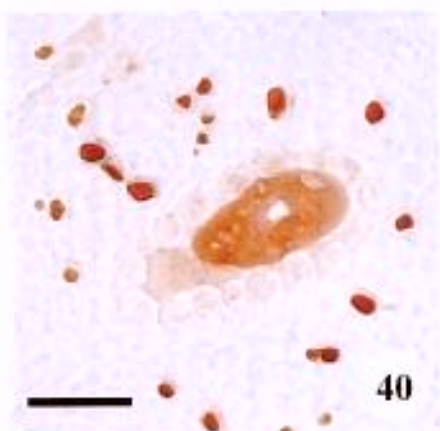
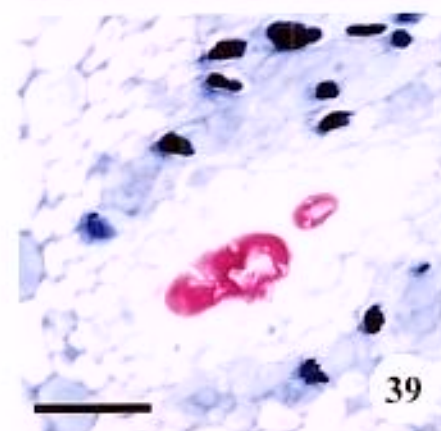
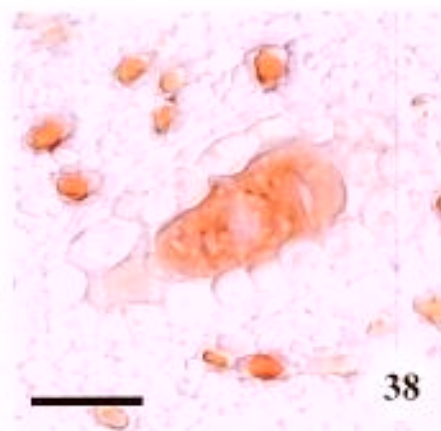
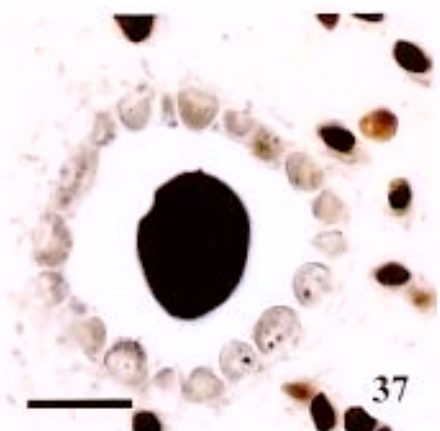
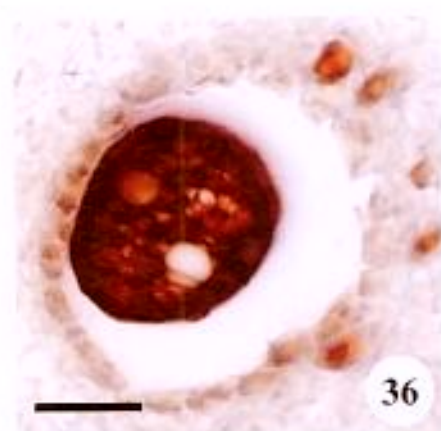


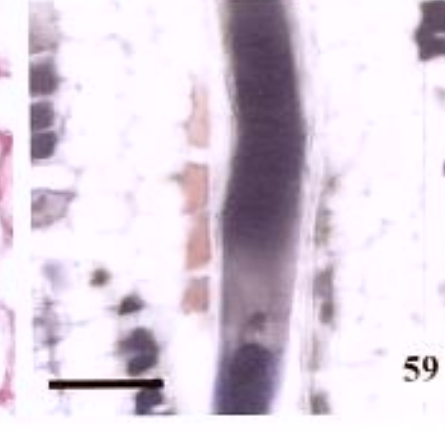
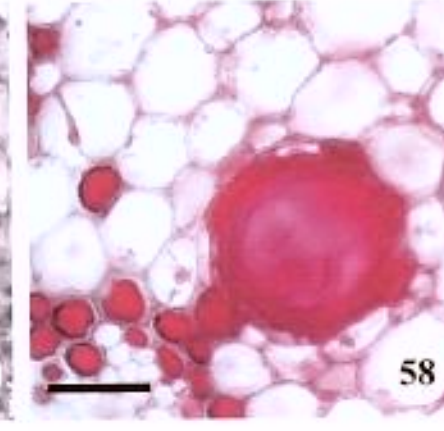
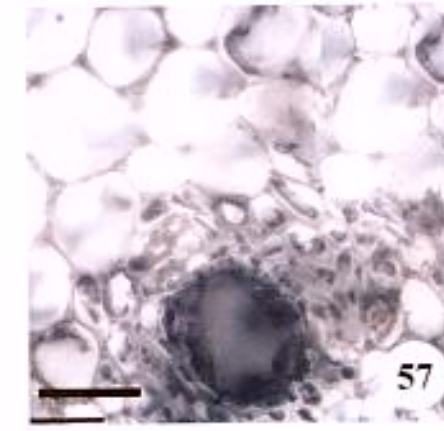
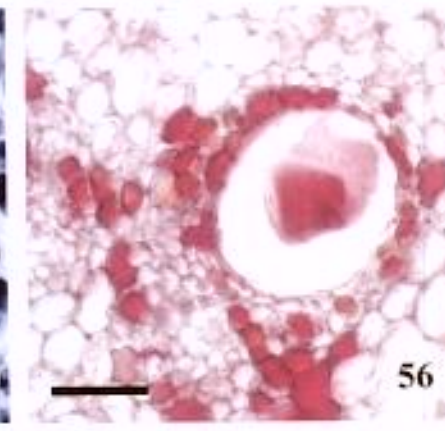
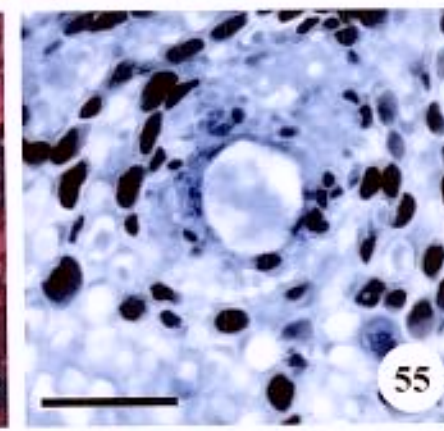
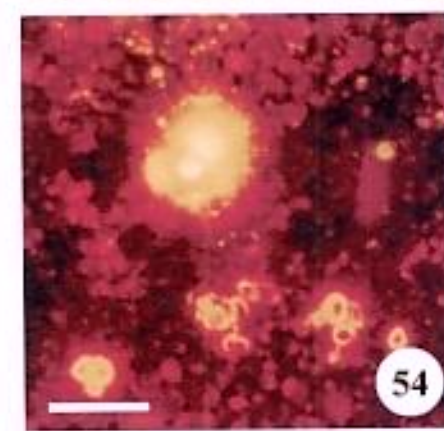
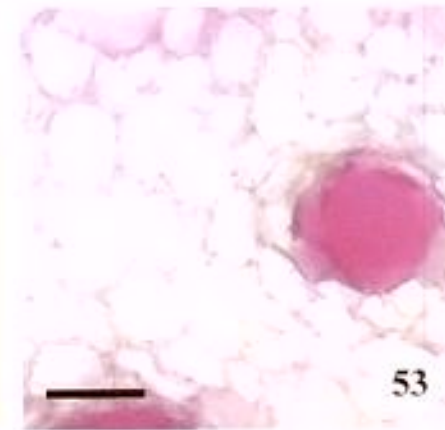
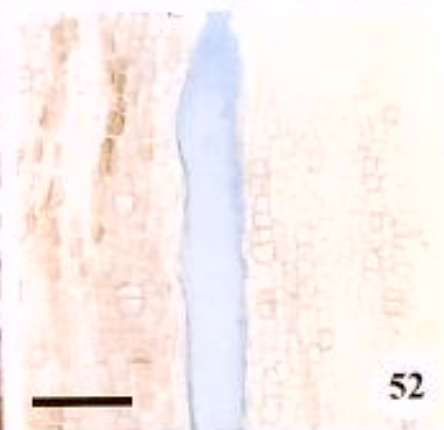
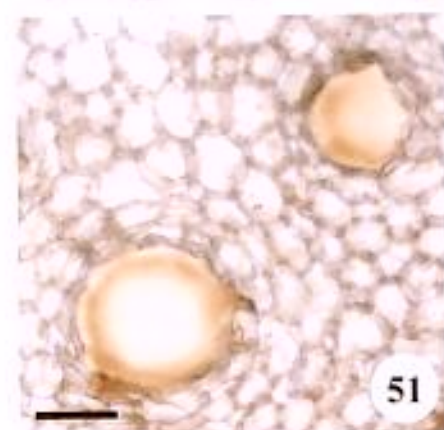
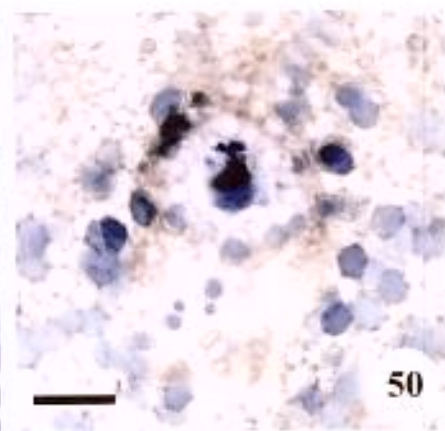
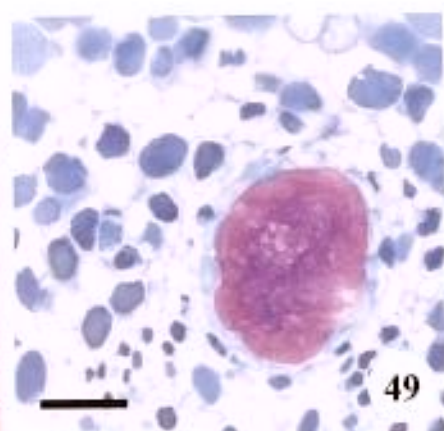
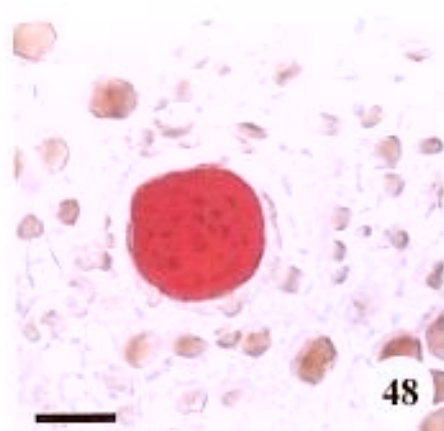


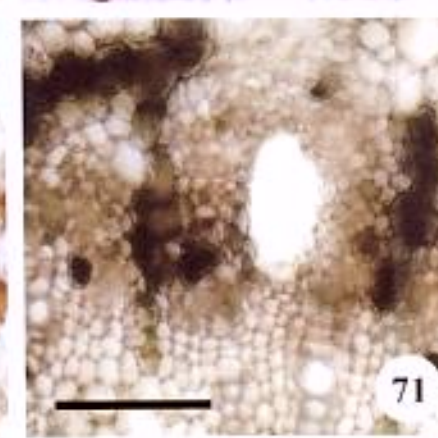
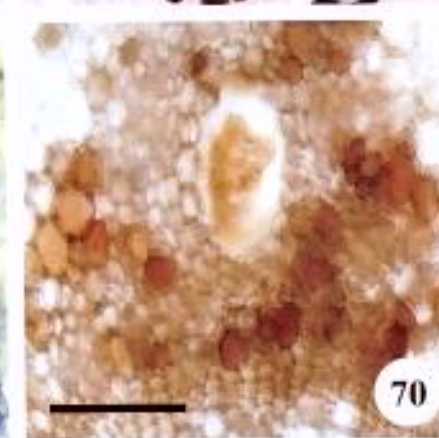
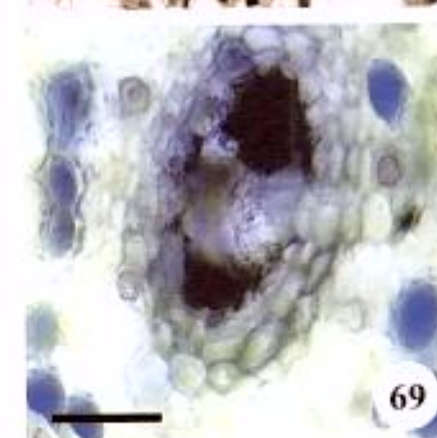
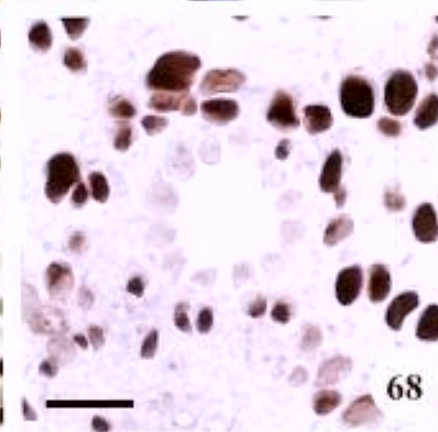
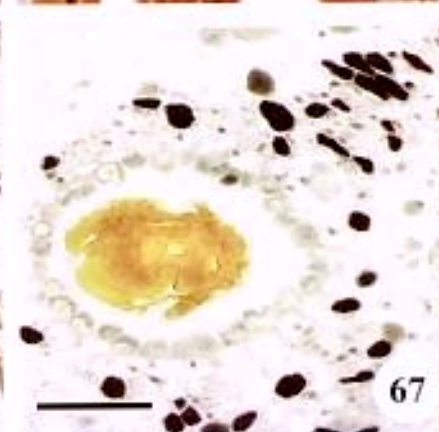
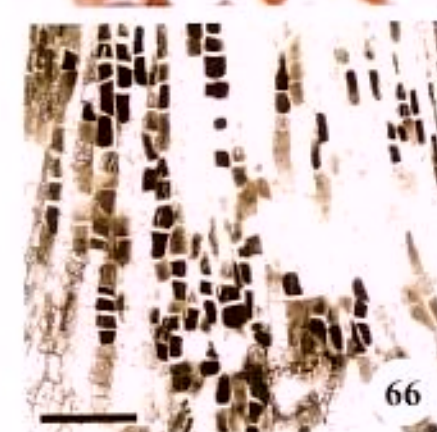
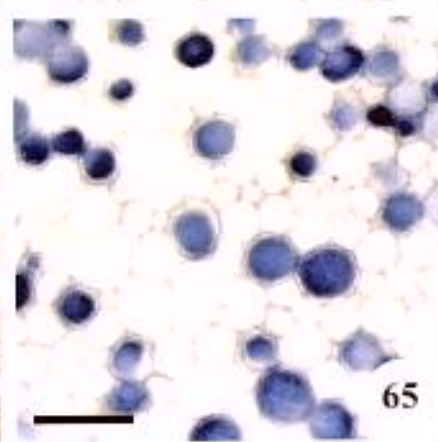
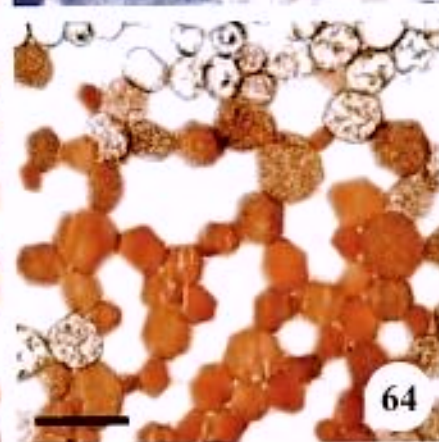
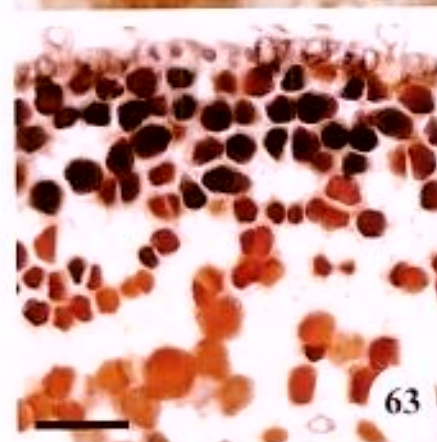
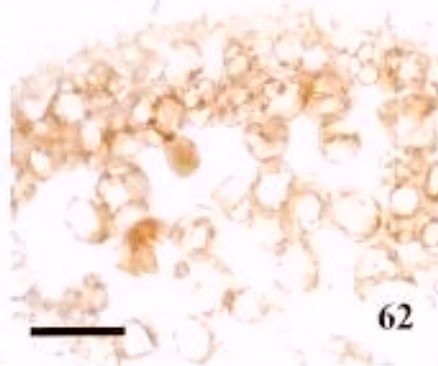
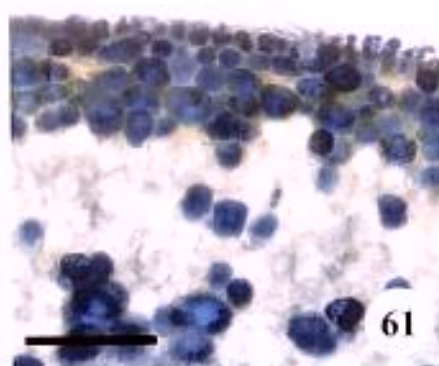
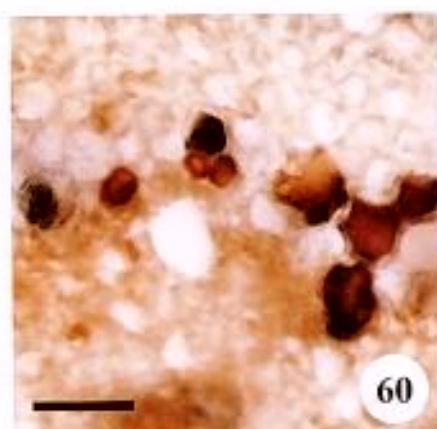












Canais resiníferos em flores e frutos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, distribuição e histoquímica

ANA LACCHIA^{1,2}, SANDRA MARIA CARMELLO GUERREIRO^{2,3}

Título resumido: Canais resiníferos em flores e frutos de Anacardiaceae

-
1. Parte da tese de doutorado de Ana Paula Stechhahn Lacchia, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
 2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.
 3. Autor para correspondência: smcg@unicamp.br

Resumo - (Canais resiníferos em flores e frutos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, distribuição e histoquímica). Anacardiaceae é economicamente importante devido aos seus frutos e sementes comestíveis, plantas produtoras de verniz e madeira valiosa e espécies utilizadas na medicina popular. A principal característica da família é a presença de canais secretores que são encontrados tanto em órgãos vegetativos como reprodutivos. Flores, frutos e o pedúnculo dos frutos de *Anacardium humile* St-Hil., flores de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., e flores e frutos de *Tapirira guianensis* Aubl. foram estudados a fim de caracterizar a anatomia, distribuição e histoquímica da secreção dos canais. Em *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* os canais estão associados ao floema da pétala, sépala, receptáculo, pedicelo florais e mesófilo ovariano; apenas no pistilódio das flores estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis* são encontrados alguns canais. Canais também são encontrados no fruto e pedúnculo de *A. humile* e no fruto de *T. guianensis*. Os canais têm epitélio unisseriado; os florais de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* são resiníferos (*lato sensu*), os do fruto e pedúnculo de *A. humile* são resiníferos (*stricto sensu*) e os do fruto de *T. guianensis* são resiníferos (*lato sensu*).

Palavras-chave: Anacardiaceae, canais, resina, histoquímica.

Introdução

Anacardiaceae é economicamente importante devido aos seus frutos e sementes comestíveis, plantas produtoras de verniz e madeira valiosa e espécies utilizadas na medicina popular (Pell 2004).

Uma das características de Anacardiaceae é a presença de canais ou cavidades geralmente associados ao floema (Metcalf & Chalk 1950), que está relacionada com a produção de substâncias de uso industrial, medicinal e com efeitos alergênicos (Pell 2004).

Os canais secretores têm considerável importância taxonômica e são característicos de um pequeno número de famílias de dicotiledôneas (Metcalf & Chalk 1983). Segundo Metcalf & Chalk (1983), a secreção dos canais de Anacardiaceae é quimicamente diversa.

Poucos são os estudos para a detecção da natureza do exsudato, ou mesmo para a investigação da estrutura e do modo de formação dos canais ou cavidades presentes nos frutos e nas flores. Os estudos sobre os canais ou cavidades secretoras nesta família concentram-se nos órgãos vegetativos. Os estudos e as comparações entre os canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos são muito importantes, pois quando comparações foram feitas entre canais e cavidades nestes órgãos, na maioria das vezes, foram encontradas diferenças, quer na composição da secreção ou no modo de formação dos canais. Joel e Fahn (1980) estudando os canais secretores presentes no fruto de *Mangifera indica* L. puderam constatar que estes canais além de secretarem resina como nos órgãos vegetativos secretam também polissacarídeos e proteína. Venning (1948) estudando diferentes órgãos desta mesma espécie pôde constatar que nos ápices os canais se formam de forma esquizolisígena, nas flores e no pedicelo de forma lisígena e nos frutos de forma esquizógena.

Alguns trabalhos em Anacardiaceae relatam a presença de canais nas flores femininas de espécies desta família (Harada 1937, Venning 1948, Lozano 1986, von Teichman 1987, von Teichman & van Wyk 1994, 1996, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000), mas apenas em *Mangifera indica* descreve-se o tipo de secreção destes canais, referido neste caso como látex (Venning 1948).

Nos frutos de Anacardiaceae, o sistema secretor, bastante desenvolvido é representado por canais ou cavidades que ocupam quase todo o mesocarpo, o que levou Barroso *et al.* (1991) a denominá-lo de mesocarpo lacunar; canais também foram encontrados no exocarpo de *Mangifera indica* (Joel & Fahn 1980).

Canais estão descritos para os frutos de algumas espécies de Anacardiaceae (Harada 1937, Lozano 1986, von Teichman, 1987, 1998, von Teichman & van Wyk, 1991, 1996, Pienaar & von Teichman 1998, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005) e cavidades já foram descritas para frutos de espécies do gênero *Anacardium*, para frutos de *Protorhus namaquensis* Sprague e *Schinus terebinthifolius* Raddi (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978, von Teichman & van Wyk 1994, Machado & Carmello-Guerreiro 2001). Oleorresina foi caracterizado como produto de secreção das cavidades dos frutos de *Anacardium curatellaefolium* St.Hil. (Paula & Heringer 1978) e *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Paula & Alves 1973), e resina como produto de secreção dos canais do fruto de *M. indica* (Joel & Fahn 1980) e *Spondias mombin* L. (Lozano 1986)

O objetivo deste trabalho é localizar e caracterizar anatomicamente os canais secretores presentes nas flores hermafroditas e estaminadas e nos frutos e pedúnculos de *Anacardium humile* St.Hil.; nas flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl e nas flores pistiladas e estaminadas e nos frutos de *Tapirira guianensis* Aubl. além de caracterizar as principais classes de substâncias que compõem o exsudato destas estruturas secretoras.

Material e Métodos

Material

Flores estaminadas e hermafroditas de *Anacardium humile* St.Hil., flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. e frutos de *A. humile* e

T. guianensis foram coletados em três áreas de cerrado do estado de São Paulo (SP): Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, Fazenda Palmeira da Serra em Pratânia e distrito de Rubião Júnior em Botucatu. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *A. humile* St.Hil.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 13; Moji Guaçu, 09-IX-2003, *A. Lacchia* 8; 06-X-2004, *A. Lacchia*, 18, 21; *L. molleoides* (Vell.). Engl.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 16-VIII-2004, *A. Lacchia* 11,12; Pratânia, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 14, 15, 16, 17; *S. dulcis* G.Forst.: BRASIL, SÃO PAULO, Campinas, 15-II-2005, *A. Lacchia* 20, 21, 22; *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7; Pratânia, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 18-III-2004, *A. Lacchia* 10.

Métodos

O material botânico supracitado foi fixado em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1:18 v/v/v) por 24 horas (Johansen 1940) e em FNT (Tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) por 48 horas (Lillie 1965). Para o estudo estrutural, botões florais, flores estaminadas e hermafroditas de *A. humile*, flores pistiladas de *T. guianensis* e *L. molleoides* em botão, pré-antese, antese e pós-antese e flores estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis* em antese foram isolados, desidratados em série butílica e incluídos em “Paraplast” e flores e frutos de *T. guianensis* e frutos de *A. humile* foram desidratados em série etílica e incluídos em resina plástica (Historesin Leica), seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983). Após a inclusão, os materiais foram seccionados transversalmente e longitudinalmente com 12 a 14 µm de espessura em micrótomo rotativo (Microm HM340E).

Para o estudo estrutural, os botões e as flores e de *A. humile* foram corados com a tripla coloração de Flemming (safranina 1% em etanol 50%, violeta cristal 1% e laranja G 1% em óleo de cravo; Johansen 1940), os botões e as flores de *L. molleoides* e *T. guianensis* com safranina 1% em etanol 50% e azul de astra 1% (Gerlach 1984) e as flores e os frutos de *T. guianensis* e os frutos de

A. humile com azul de toluidina (Feder & O'Brien 1968). Todas as lâminas foram montadas em resina sintética (Permout)

Inflorescências com flores hermafroditas e masculinas de *A. humile* nos estádios de botão, pré-antese, antese e pós-antese, flores femininas em antese de *L. molleoides* e flores femininas e masculinas em antese de *T. guianensis* foram utilizadas na aplicação de testes histoquímicos. Apenas quatro testes histoquímicos foram aplicados nas flores de *L. molleoides* devido a pequena quantidade de flores obtidas dos indivíduos desta espécie.

Materiais frescos e fixados em FAA foram utilizados para os testes histoquímicos que evidenciam polissacarídeos totais e compostos fenólicos hidrossolúveis e materiais frescos e fixados em FNT, para os testes que evidenciam lipídios totais e compostos fenólicos lipossolúveis. Os tratamentos realizados foram: vermelho de rutênio para detecção de mucilagens ácidas (Gregory & Baas 1989), ácido tânico e cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato & Lillie 1973); reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent; pararosanilina, CI 42510) para polissacarídeos totais (Jensen 1962), preto de Sudão B (CI 26150) e vermelho de Sudão IV para lipídios totais (Pearse 1985), sulfato azul do Nilo (CI 51180) para lipídios ácidos e neutros (Cain 1947), acetato de cobre e ácido rubeânico para ácidos graxos (Ganter & Jollés 1969, 1970), e cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940).

Para o controle dos testes que detectam substâncias lipofílicas, o material botânico foi colocado em solução composta por metanol/clorofórmio/água/HCL (66:33: 4:1 v/v; High 1984) por 48 horas. Após este período, o material foi fixado em FNT e posteriormente tratado com os reagentes e corantes já mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

A coloração do exsudato do lume dos canais, das células epiteliais e dos idioblastos foi observada em material fresco e em material fixado em FAA e FNT, sem tratamento, para uma correta avaliação dos testes histoquímicos.

As fotomicrografias foram realizadas em microscópio Olympus BX51 utilizando-se filme Kodak Pro Image ASA 100 e as escalas das figuras foram obtidas por meio de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Resultados

Distribuição e estrutura dos canais secretores em flores (figuras 1-25).

Na inflorescência de *Anacardium humile* St.Hil. os canais secretores são encontrados na bráctea associados ao floema dos feixes vasculares (figura 1). Na flor estaminada e hermafrodita desta espécie e na flor pistilada e estaminada de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. os canais são associados ao floema dos feixes vasculares da bractéola (figuras 1, 9), pétala (figuras 2, 11, 12, 18), sépala (figuras 2-5, 9, 10), receptáculo (figuras 3, 4, 9, 10, 13, 21, 22) e pedicelo (figuras 3, 4, 8, 19, 20, 21). No ovário da flor hermafrodita de *A. humile* e da flor pistilada de *L. molleoides* e *T. guianensis*, os canais são encontrados no tecido fundamental associados ao floema dos feixes vasculares (figuras 7, 10, 14, 21, 23, 24) próximos ao feixe vascular dorsal. Em *T. guianensis* canais isolados também podem ser observados próximos à epiderme externa ovariana. O pistilódio da flor estaminada de *A. humile* não possui canais (figura 4) e o pistilódio da flor estaminada de *L. molleoides* e *T. guianensis* possuem canais em menor quantidade do que o ovário das flores pistiladas destas espécies (figuras 16, 22 e 25).

Os canais da sépala, pétala, bráctea, receptáculo e pedicelo das espécies estudadas já estão desenvolvidos e em estágio secretor desde o botão (figura 2, 5, 8, 9), enquanto os canais do ovário das flores hermafroditas e pistiladas de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* iniciam seu desenvolvimento mais tardiamente.

Os canais do ovário da flor hermafrodita de *A. humile* iniciam seu desenvolvimento na flor em pré-antese (figura. 6); em todas as fases subseqüentes da flor os canais estão restritos à região do feixe dorsal e não se observa secreção no lume destes (figura 15). Os canais do ovário da flor

pistilada de *L. molleoides* iniciam sua diferenciação na flor em botão (figura 14) e já estão totalmente diferenciados na flor em pré-antese (figura 15), e os do ovário da flor pistilada de *T. guianensis* começam a ser formados a partir da flor em antese e estão bem desenvolvidos no estágio de flor em pós-antese (figura 21, 23, 24). Os canais da flor são formados por epitélio secretor unisseriado e ao redor de poucos canais pode-se observar a presença de uma camada concêntrica de células parenquimática achatadas.

Os canais da flor de *L. molleoides* podem possuir diferentes fases de secreção em uma mesma peça floral, uma vez que, o exsudato destes possui coloração diferenciada (azul ou laranja) dependendo do canal observado (figuras 11-12). Sem coloração ou tratamento histoquímico, a cor natural do exsudato é alaranjada, desta forma, a coloração com azul de astra e safranina não cora o exsudato de uma das fases de secreção do canal.

Histoquímica dos canais secretores em flores (figuras 26-37)

Em *A. humile* a secreção dos canais florais é constituída por duas frações: uma hidrofílica que é preservada em material fixado em FAA e uma fração lipofílica que é preservada tanto em material fixado em FAA, quanto em material fixado em FNT. Esta fração lipofílica possui uma coloração amarela muito forte em material fixado (figura 26).

A fração hidrofílica da secreção reage positivamente para polissacarídeos e compostos fenólicos e a fração lipofílica reage positivamente para lipídios ácidos e neutros. Todos os canais presentes nas diversas partes florais (pétala, sépala, pedicelo, receptáculo) reagem ou coram positivamente para as mesmas substâncias. O resultado dos testes histoquímicos está sumarizado na Tabela 1.

Em *L. molleoides* alguns canais apresentam secreção hidrofílica e outros lipofílica até mesmo em uma mesma peça floral. A secreção lipofílica possui coloração amarela em material fixado e a secreção hidrofílica é incolor em material fixado em FAA. A secreção hidrofílica dos canais florais reage positivamente para polissacarídeos (figura 31) e compostos fenólicos e a secreção lipofílica

dos canais reage positivamente para lipídios neutros (figuras 32, 33). Dificilmente a secreção dos canais do mesofilo ovariano é encontrada no lume. O resultado dos testes histoquímicos está representado na Tabela 1.

Em *T. guianensis*, por meio da análise dos testes histoquímicos, pôde-se observar que o produto secretado pelos canais de todas as partes florais é o mesmo e pode ser caracterizado como uma secreção heterogênea. A secreção é constituída por duas frações, uma fração mais densa, caracterizada pela formação de gotas (figura 20) e uma mais fluida (figura 20). Ambas as frações são incolores em material fresco e fixado sem tratamento.

O exsudato encontrado no lume dos canais reagiu positivamente para polissacarídeos e lipídios. O resultado dos testes histoquímicos está sumarizado na Tabela 1.

Distribuição e estrutura dos canais secretores em frutos (figuras 38-52)

Nos frutos de *A. humile*, o sistema secretor é representado por inúmeros canais que ocupam quase todo o mesocarpo (figuras 38, 41-43). Cada canal é constituído por lume, epitélio secretor unisseriado formado por células conspícuas, que variam no formato dependendo do estágio secretor (figura 44). Circundando cada canal secretor ocorrem duas a três camadas de células parenquimáticas achatadas e menores que as epiteliais, dispostas regularmente formando uma bainha com característica meristemática (figura 44).

Quando se inicia o processo de desenvolvimento do fruto, outros canais secretores iniciam sua diferenciação no procâmbio da região de tecido fundamental que originará o mesocarpo (figura 38); na fase 1 do fruto observa-se canais de diâmetro maior e em estágio secretor na região do feixe dorsal (figura 40) e ventral e canais de menor diâmetro, ainda em processo de diferenciação, junto aos feixes vasculares laterais (figura 38). Estes canais de menor diâmetro estão dispostos em duas fileiras, lado a lado, na fileira mais próxima a epiderme externa, os canais estão em início de formação (figura 38) e na outra fileira, os canais já estão em fase de diferenciação mais avançada, onde a visualização do lume e secreção já é possível (figura 38).

O fruto no estágio 2 apresenta todos os canais do mesocarpo totalmente diferenciados e em estágio secretor (figuras 41-42), estes canais permanecem com as mesmas características até amadurecimento do fruto (estádio 4) (figura 43).

O pedúnculo desta espécie corresponde ao pedicelo da flor intumescido e desta forma, os canais encontrados neste órgão são os mesmos que se desenvolveram no pedicelo. A maior parte dos canais do pedúnculo do fruto ocorre nas camadas subepidérmicas e apresenta um arranjo em anel; outros canais de diâmetro menor também podem ser observados internamente a este e apenas um ou dois canais estão localizados no parênquima central deste órgão (figura 45); todos os canais do pedúnculo estão em fase secretora. Os canais do pedúnculo são constituídos por lume, epitélio secretor unisseriado formado por células de diferentes formatos, dependendo do seu estágio secretor. As células observadas são globosas ou retangulares e achatadas (figura 46). Ao redor do epitélio observa-se de uma a quatro camadas de células parenquimática achatadas que constituem uma bainha (figura 46). Em alguns canais, a bainha pode conter idioblastos secretores junto as células parenquimática (figura 47).

Em *T. guianensis* os canais secretores estão dispostos na porção mediana do mesocarpo (figuras 48, 49); também se pode observar a presença de alguns canais isolados, mais próximos ao epicarpo. Os canais secretores são formados por epitélio unisseriado com células quadrangulares à retangulares (figura 50) e algumas vezes pode-se observar a presença de uma camada de células adjacentes organizadas. A anastomose dos canais secretores é um evento muito comum nestes frutos (figuras 48, 49). Nos frutos mais maduros é comum a presença de idioblastos ao redor dos canais (figuras 51, 52).

Histoquímica dos canais secretores em frutos

Em *A. humile*, a secreção dos canais em todas as fases do fruto e do pedúnculo reagiu positivamente somente para substâncias lipofílicas. A secreção dos canais em material fixado sem tratamento tem cor amarela. Os resultados dos testes histoquímicos estão sumarizados na tabela 2.

Em *T. guianensis*, a secreção dos frutos reage positivamente para polissacarídeos e lipídios. No material fixado e incluído em resina plástica os testes histoquímicos com preto de Sudão B e vermelho de Sudão foram negativos e no material fresco os testes para polissacarídeos não puderam constatar a presença de substâncias hidrofílica na secreção dos mesmos. Os resultados dos testes histoquímicos estão descritos na tabela 2.

Discussão

Como nos órgãos vegetativos, os canais secretores dos órgãos reprodutivos em Anacardiaceae estão sempre associados ao floema dos feixes vasculares e nas flores podem estar presentes na pétala, sépala, pedicelo e receptáculo (Tabela 3). Em todas as espécies estudadas os canais secretores estão presentes nestas mesmas peças florais. Em *Anacardium humile* St. Hil. e em *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., os canais secretores também foram observados nas bractéolas florais. Em todas as flores de Anacardiaceae estudadas, os canais secretores estão no tecido fundamental do ovário flores pistiladas ou hermafroditas; em flores hermafroditas estão restritos à região do feixe dorsal diferentemente do que ocorre em outras espécies, onde os canais estão associados também aos feixes laterais do ovário.

Nas flores estaminadas de *L. molleoides* e *Tapirira guianensis* Aubl. poucos canais secretores estão presentes no pistilódio, mas em *A. humile* não há nenhum canal secretor neste.

Nos frutos da maioria das espécies de Anacardiaceae, como em *A. humile* e em *T. guianensis* os canais secretores estão localizados no mesocarpo dos frutos (Tabela 4), em *Mangifera indica* os canais estão no exocarpo dos frutos.

Analizando cortes de ovário em vários estádios de desenvolvimento, até o fruto maduro, de *A. humile* observou-se a formação de muitos canais durante os primeiros estádios de desenvolvimento do fruto e nestes órgãos, ainda jovens, os canais já estão completamente formados e em estágio secretor. Este mesmo fato foi observado para espécie *Anacardium curatellaefolium*

St.Hil. (Paula & Heringer 1978), mas não pode ser observado em *Tapirira guianensis* onde os canais já formados no ovário apenas aumentam de diâmetro nos frutos.

Para os frutos de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl, (Paula & Alves 1973), *A. curatellaefolium* (Paula & Heringer 1978) e *Anacardium occidentale* L. (Machado, 1944) está descrita a presença de cavidades e não de canais como em *A. humile*. Em *A. spruceanum* e *A. curatellifolium*, os autores relataram a presença de glândulas unisseriadas revestindo as cavidades (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978).

Em *A. curatellifolium*, os autores relatam a formação esquizolisígena das cavidades e descrevem que após a lise, as células epiteliais se dividem sucessivamente dando origem a glândulas secretoras unisseriadas, multicelulares de até cinco células alongadas ou subglobosas (Paula & Heringer 1978). Na espécie *A. humile*, glândulas unisseriadas também foram observadas por Carmello-Guerreiro & Sacoman (dados não publicados) em cortes à mão livre de material fresco, mas nas nossas investigações não pudemos observar estas estruturas e sim um epitélio unisseriado recobrimdo o lume do canal tanto em frutos de *A. humile* como em frutos de *T. guianensis*.

Machado (1944) disse que as cavidades existentes no fruto de *A. occidentale* são reservatórios onde é secretado e se aloja o exsudato e que as referidas cavidades são revestidas por células secretoras microscópicas. Paula & Alves (1973) estudando a anatomia do fruto maduro de *A. spruceanum* e Paula & Heringer (1978) estudando *A. curatellifolium* admitiram que, as glândulas que revestem as paredes das cavidades são responsáveis pela produção da oleorresina. Em *A. humile* e em *T. guianensis* também são as células epiteliais que revestem os canais as responsáveis pela produção do exsudato depositado no lume dos canais.

Nos frutos de *T. guianensis* pôde-se verificar que em muitos lugares os canais se anastomosam por rompimento das células parenquimáticas presentes entre eles. Dussourd e Denno (1991), estudando a arquitetura de canais secretores presentes em diferentes famílias, entre elas

Anacardiaceae, verificaram que quando os canais secretores são muito grandes e muito ramificados, estes podem se anastomosar e conseqüentemente ocorrer fusão de seus revestimentos.

Devido às dificuldades na interpretação da nomenclatura das substâncias dos canais em Anacardiaceae, foram propostos no capítulo 1 novos termos para resina: resina *stricto sensu* e resina *lato sensu*. O termo resina *stricto sensu* refere-se às resinas compostas apenas por terpenos voláteis e não voláteis e o termo resina *lato sensu* refere-se às resinas compostas por terpenos voláteis e não voláteis e outras diversas substâncias como: polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos.

Os canais florais de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* têm secreção heterogênea, com duas frações de diferentes composições, uma fração hidrofílica e outra lipofílica. Canais com o mesmo tipo de secreção foram encontrados nos canais do floema dos ápices vegetativos destas mesmas espécies (capítulo 1). Fahn e Evert (1974) também observaram o mesmo fato em canais do floema de *Rhus glabra* L. Em *Rhus toxicodendron* L., Vassilyev (2000) relata nos canais do floema a presença de exsudato heterogêneo produzido em diferentes fases de secreção. Em *A. humile* e *T. guianensis* não é possível inferir se estes canais possuem fases de secreções distintas ou uma única fase em que secretariam substâncias quimicamente diversas.

A fase mais viscosa da secreção dos canais florais em *A. humile* e *L. molleoides* é densa e composta por lipídios e a fase mais fluida é composta por polissacarídeos e compostos fenólicos. Em *T. guianensis*, a secreção também é composta por duas frações uma em gotas e outra mais fluida e homogênea que reagem para polissacarídeos e lipídios.

Utilizando os novos termos propostos para resina os canais florais da sépala, pétala, pedicelo, bractéola e bráctea de *A. humile* e os canais destas mesmas peças florais e do mesofilo ovariano de *T. guianensis* e *L. molleoides* são resiníferos (*lato sensu*). Os canais do fruto e do pseudo-fruto de *A. humile* por produzirem apenas lipídios são resiníferos (*sensu stricto*) e os canais do fruto de *T. guianensis* por produzirem lipídios e polissacarídeos são resiníferos (*lato sensu*).

Por meio dos estudos histoquímicos da secreção dos canais em diferentes órgãos de *A. humile* verificou-se que esta espécie possui canais com secreção quimicamente distinta, que depende do órgão estudado. Assim, em ápices caulinares os canais são resiníferos (*lato sensu*) e mucilaginosos (capítulo 1), em flores os canais são resiníferos (*lato sensu*) e nos frutos e pedúnculos os canais são resiníferos (*stricto sensu*). Diferenças na composição da secreção de canais dos órgãos vegetativos e dos órgãos reprodutivos também foram descritas para *Mangifera indica* (Joel & Fahn 1980).

A provável função da resina produzida pelas flores e frutos das espécies estudadas seria a de defesa química. A resina é um versátil componente defensivo para as plantas, cujos compostos individuais têm o potencial para serem tóxicos ou dissuasivos em várias concentrações, e as frações voláteis influenciam na viscosidade da resina e, portanto no potencial de envolver os organismos que atacam as plantas (Langenheim 1990). A resina ainda têm a função de cobrir os ferimentos das plantas devido a sua potencialidade de polimerização (Langenheim 1990, Farrell *et al.* 1991)

Na secreção dos canais florais de *A. humile* e *L. molleoides* foram detectados compostos fenólicos hidrossolúveis compondo a resina. Aos compostos fenólicos existentes nos canais resiníferos de parte das espécies de Anacardiaceae foram atribuídos os efeitos alergênicos provocados por esta família (Aguilar-Ortigoza *et al.* 2003).

Outras muitas funções são dadas aos compostos fenólicos presentes nas secreções vegetais como: defesa contra insetos ou animais herbívoros (aves) e defesa contra fungos e nematóides, (Bennett & Wallsgrove 1994).

Referências Bibliográficas

AGUILAR-ORTIGOZA, C.J., SOSA, V. & AGUILAR-ORTIGOZA, M. 2003. Toxic phenols in various Anacardiaceae species. *Economic Botany* 57:354-364.

BARROSO, G.M. 1991. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. vol. 2. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, Viçosa

- BENNETT, R.N. & WALLSGROVE, R.M. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* 127: 617-633.
- CAIN, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 88:383-392.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2005. Ontogeny and structure of the pericarp and seed coat of *Lithraea molleoides* Vell. Engl. (Anacardiaceae) with taxonomic notes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Brasil 48:599-610.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2000. Estrutura do pericarpo e da semente de *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae) com notas taxonômicas. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 87-96.
- DUSSOURD, D.E. & DENNO, R.F. 1991. Deactivation of plant defense: correspondence between insect behavior and secretory canal architecture. *Ecology* 72:1383-1396.
- FAHN, A. & EVERT, R.F. 1974. Ultrastructure of secretory ducts of *Rhus glabra* L. *American Journal of Botany* 61:1-14.
- FARRELL, B.D., DUSSOURD, D.E. & MITTER, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? *American Naturalist* 138:881-900.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55:123-142.
- GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969, 1970. *Histologie normale et pathologique*. v. 1 e 2, Gauthier – Villars, Paris.
- GERLACH, D. 1984. *Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung*. 3rd ed., Georg Thieme, Stuttgart
- GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.

- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38:125-174.
- HARADA, M. 1937. On the distribution and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. *Botanical Magazine* 51:846-56.
- HIGH, O.B. 1984. *Lipid histochemistry*. Oxford University Press, New York.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). III. Secretion of protein- polysaccharide mucilage in fruit. *Annals of Botany* 46: 785-790.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book, New York.
- LANGENHEIM, J.H. 1990. Plant Resins. *American Scientist* 78:16-24.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LOZANO, N.B. 1986. Desarrollo Y Anatomia del fruto del jobo (*Spondias mombin* L.). *Caldasia* XIV (68-70):465-490.
- MACHADO, O. 1944. Estudos novos sobre uma planta velha, o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Rodriguésia* 17:19-48.
- MACHADO, S.R. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius*. *Acta Botanica Brasilica* 15:189-195.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford Clarendon Press, v.1, 724p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. *Anatomy of the dicotyledons*. Second edition. v. 2. Wood structure and conclusions of the general introduction. Clarendon Press, Oxford.

- PAULA, J.E. & ALVES, J.L.H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). Acta Amazonica 3:39-53.
- PAULA, J.E. & HERINGER, P.E. 1978. Estudo anatômico do fruto *Anacardium curatellifolium* St. Hil. Com vistas a sua forma e às bolsas oleíferas. Brasil Florestal 9:33-39.
- PEARSE, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applies. v. 2, 4th ed., C. Livingstone, Edinburgh.
- PELL, S.K. 2004. Molecular Systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Dissertation, Department of Biological Sciences, Faculty of the Louisiana State University, Louisiana
- PIENAAR, M.E. & VON TEICHMAN, I. 1998. The generic position of *Lithraea brasiliensis* Marchand (Anacardiaceae) evidence from fruit and seed structure. Botanical Journal of the Linnean Society 126:327-337.
- PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. 1973. Mayer's tannic acid- ferric chloride stain for mucins. Journal of Histochemistry and Cytochemistry 21:56-64.
- VASSILYEV, A.E. 2000. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron*. International Journal of Plant Sciences 161:615-630.
- VENNING, F.D. 1948. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. American Journal of Botany 35:637-644.
- VON TEICHMAN, I. 1987. Development and structure of the pericarp of *Lannea discolor* (Sonder) Engl. (Anacardiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 95:125-135.
- VON TEICHMAN, I. 1998. Micromorphological structure of the fruit and seed of *Smodium argutum* (Anacardiaceae), as an adaptation to its natural habitat. S. Afr. J. Bot 64:121-127.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1991. Taxonomic position of *Rhus problematodes* (Anacardiaceae): Evidence from fruit and seed structure. S. Afr. J. Bot. 57:29-33.

- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1994. The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae) - evidence from fruit structure. *Annals of Botany* 73:175-184.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1996. Taxonomic significance of pericarp and seed structure in *Heeria argentea* (Thunb) Meisn (Anacardiaceae), including reference pachychalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* 122:335-352.

Tabela1. Testes histoquímicos em flores de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamentos/ Substância a ser evidenciada	Cor (resultado positivo)	Canais (<i>A. humile</i>)		Canais (<i>L. molleoides</i>)		Canais (<i>T. guianensis</i>)	
		ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)
preto de Sudão B	azul a preto	-	+	-	+	-	-
lipídios totais							
sulfato azul do Nilo	azul	+	+	+	+	+	+
lipídios ácidos							
sulfato azul do Nilo	rosa	-	+	-	+	-	-
lipídios neutros							
acetato de cobre e ac.rubeânico	verde-escuro	-	-	-	-	-	-
ácidos graxos							
cloreto férrico (FNT)	marrom a preto	-	-	-	-	-	-
compostos fenólicos							
cloreto férrico (FAA)	marrom a preto	-	+	+	+	-	-
compostos fenólicos							
sulfato ferroso em formalina	marrom a preto	NR	NR	NR	NR	-	+
compostos fenólicos							
reação PAS	rosa a vermelho	+	+	+	+	+	+
polissacarídeos totais							
ácido tânico e cloreto férrico	preto	NO	NO	NO	NO	-	+
mucilagens							
vermelho de rutênio	rosa a vermelho	NO	NO	-	+	-	+
mucilagens ácidas							

ce=célula epitelial, ()=figura, +=positivo, -=negativo, NO=secreção não observada, NR=teste não realizado.

Tabela 2. Testes histoquímicos em fruto e pedúnculo de *Anacardium humile* St.Hil. e em freuto de *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamentos/ Substância a ser evidenciada	Cor (resultado positivo)	Canais/fruto (<i>A. humile</i>)		Canais/pedúnculo (<i>A. humile</i>)		Canais/fruto (<i>T. guianensis</i>)	
		ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)	ce (Fig.)	lume (Fig.)
preto de Sudão B lipídios totais	azul a preto	-	+	-	+	-	+
vermelho de Sudão lipídios totais	laranja a vermelho	-	+	-	+	-	+
sulfato azul do Nilo lipídios ácidos	azul	+	-	+	NO	+	+
sulfato azul do Nilo lipídios neutros	rosa a vermelho	-	+	-	NO	-	-
acetato de cobre e ac.rubeânico	verde-escuro	-	-	-	-	-	-
ácidos graxos							
cloreto férrico (FNT) compostos fenólicos	marrom a preto	-	-	-	-	-	-
cloreto férrico (FAA) compostos fenólicos	marrom a preto	-	-	-	-	-	-
sulfato ferroso em formalina	marrom a preto	NR	NR	NR	NR	-	-
compostos fenólicos							
reação PAS polissacarídeos totais	rosa a vermelho	-	-	-	-	+	+
ácido tânico e cloreto férrico	preto	-	-	-	-	-	+
mucilagens							
vermelho de rutênio mucilagens ácidas	rosa a vermelho	-	-	-	-	-	+

ce=célula epitelial, ()=figura, +=positivo, -=negativo, NO=secreção não observada, NR=teste não realizado.

Tabela 3. Distribuição e secreção dos canais em flores de Anacardiaceae.

Espécies	Canais secretores (s, pt, p, f, b, r)	Canais secretores do mesofilo	Secreção
<i>Anacardium humile</i> (neste trabalho)	s, pt, p, br, r		
<i>Astronium graveolens</i> Carmello-Guerreiro e Paoli, 2000)	ND	flor feminina	ND
<i>Heeria argentea</i> (Von Teichman e Van Wyk, 1996)	ND	flor feminina	ND
<i>Lithraea molleoides</i> (neste trabalho)	s, pt, p, b, r = floema 1°	flor feminina flor masculina e (1-2) no pistilódio (floema 1°)	(lipídios neutros e ácidos) pt (lipídios e polissacarídeos) outros látex
<i>Mangifera indica</i> (Venning, 1948)	s, pt, p = floema 1°		
<i>Protorhus namaquensis</i> (Von Teichman e Van Wyk, 1994)	ND	flor feminina	ND
<i>Rhus succedanea</i> (Harada, 1937)	s, pt, p = floema 1° e f flor masculina	flor feminina	ND
<i>Smodingium argutum</i> (Von Teichman, 1997)	ND	flor feminina	ND
<i>Spondias mombin</i> (Lozano, 1986)	ND	flor feminina	ND
<i>Tapirira guianensis</i> (neste trabalho)	s, pt, p, r = floema 1°	flor feminina flor masculina e (1-2) no pistilódio	lipídios, polissacarídeos

s= sépala; pt= pétala; p= pedicelo; br= bractéola, f = filete, r= receptáculo

Tabela 4. Distribuição e secreção de canais e cavidades em frutos de Anacardiaceae.

Espécies	Canais secretores (localização)	Cavidades (localização)	Pedúnculo (canais/ cavidades)	Secreção (canais/ cavidades)	Trabalho
<i>Anacardium curatellifolium</i>	-	mesocarpo	canais	oleorresina	(Paula & Heringer, 1978)
<i>Anacardium humile</i>	mesocarpo		canais	resina	(neste trabalho).
<i>Anacardium spruceanum</i>	-	mesocarpo	canais	oleorresina	(Paula & Alves, 1973)
<i>Astronium graveolens</i>	mesocarpo	-	SP	ND	Carmello-Guerreiro & Paoli, 2000)
<i>Heeria argentea</i>	mesocarpo	-	SP	ND	(Von Teichman & Van Wyk, 1996)
<i>Lanea discolor</i>	mesocarpo	-	SP	ND	(Von Teichman, 1987)
<i>Lithraea brasiliensis</i>	mesocarpo	-	SP	ND	(Pienaar & Von Teichman, 1998)
<i>Lithraea molleoides</i>	mesocarpo	-	SP	ND	Carmello-Guerreiro & Paoli, 2005)
<i>Mangifera indica</i>	exocarpo	-	SP	resina (terpenos, fenóis, proteínas, polissacarídeos)	(Fahn, 1980)
<i>Pistacia chinensis</i>	mesocarpo	-	SP	ND	Bunge
<i>Protorhus namaquensis</i>	mesocarpo	mesocarpo	SP	ND	(Von Teichman & Van Wyk, 1994)
<i>Rhus problematodes</i>	mesocarpo	-	SP	ND	(Von Teichman & Van Wyk, 1991)
<i>Rhus succedanea</i>	mesocarpo	-	SP	ND	(Harada, 1937)
<i>Schinus terebinthifolius</i>	-	mesocarpo	SP	ND	(Machado & Carmello-Guerreiro, 2001)
<i>Smodium argutum</i>	mesocarpo	-	SP	ND	(Von Teichman, 1998)
<i>Spondias mombin</i>	mesocarpo	-	SP	resina	(Lozano, 1986)
<i>Tapirira guianensis</i>	mesocarpo	-	SP	resina	(neste trabalho).

- = ausente, SP = sem pedúnculo, ND = não descrita

Figuras 1-8. Anatomia e distribuição dos canais secretores em flores de *Anacardium humile* St.Hil. 1-5 e 8. Secção longitudinal. 6 e 7. Secção transversal. 1-8. Material fixado em FAA. 2-3, 5-8. Flor hermafrodita. 4. Flor masculina. 2-3, 8. Botão. 4. Flor em pós-antese. 6. Flor em pré-antese. 7. Flor em antese. 1. Gemas florais com bráctea da inflorescência e bractéola com canais secretores. 2. Canais da sépala, pétala em estágio secretor ativo. 3 e 4. Canais na sépala, pedicelo e receptáculo. 5. Detalhe de um canal secretor da sépala. 6. Canais do mesofilo ovariano em início de diferenciação. 7. Canais do mesofilo ovariano em diferenciação e canais já diferenciados. 8. Detalhe de um canal do pedicelo com epitélio unisseriado e secreção no lume. Barras = 300µm (1, 4), 50µm (2), 30µm (3, 6), 75µm (5, 7, 8).

Figuras 9-16. Anatomia e distribuição dos canais secretores em flores de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. 9, 10, 13. Secção longitudinal. 11, 12, 14-16. Secção transversal. Material fixado em FAA. 9-15. Flor pistilada. 16. Flor estaminada. 9, 14. Botão. 10, 13. Flor em pós-antese. 11, 12, 15. Flor em pré-antese. 16. Flor em antese. 9. Canais com secreção no lume no receptáculo e na sépala. 10. Canais no receptáculo, sépala, bractéola e mesofilo ovariano. 11 e 12. Canais da pétala com secreções lipofílica e hidrofílica respectivamente. 13. Canais do receptáculo com secreção hidrofílica (azul) e lipofílica (laranja). 14. Canais em formação (R). 15. Canais diferenciados com epitélio unisseriado. 16. Pistilódio com um único canal secretor (seta). Legendas: R= receptáculo, S= sépala, N= nectário, MO= mesofilo ovariano. Barras: = 300µm (9,10), 75µm (11,14-16), 50µm (12).

Figuras 17-25. Anatomia e distribuição dos canais secretores em flores de *Tapirira guianensis* Aubl. 17, 21, 22, 23, 25. Secção longitudinal. 18, 19, 20, 24. Secção transversal. 17-25. Material fixado em FAA. 17-21, 23, 24. Flor pistilada. 22, 25. Flor estaminada. 17. Flor em pré-antese. 18-21, 23, 24. Flor em pós-antese. 22, 25. Flor em antese. 17. Canais no receptáculo. 18. Canal da pétala. 19.

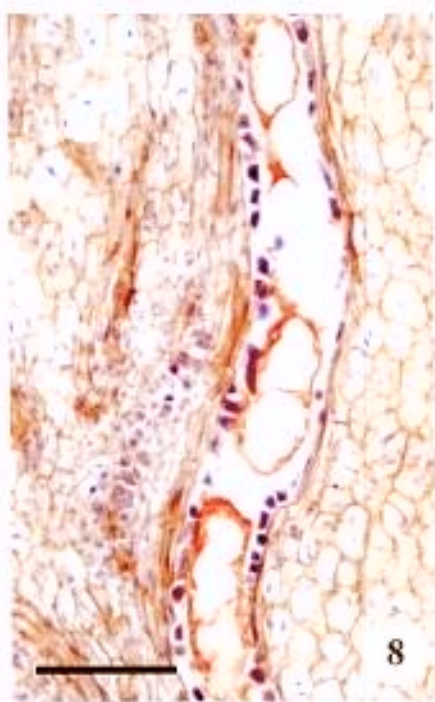
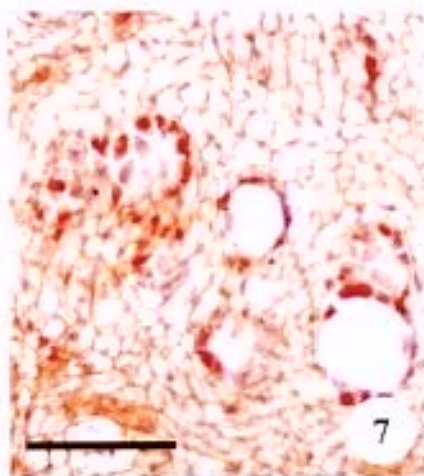
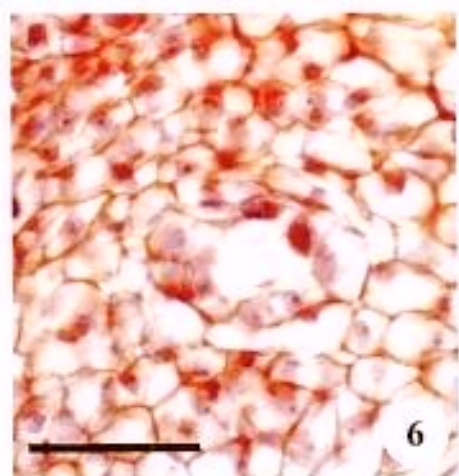
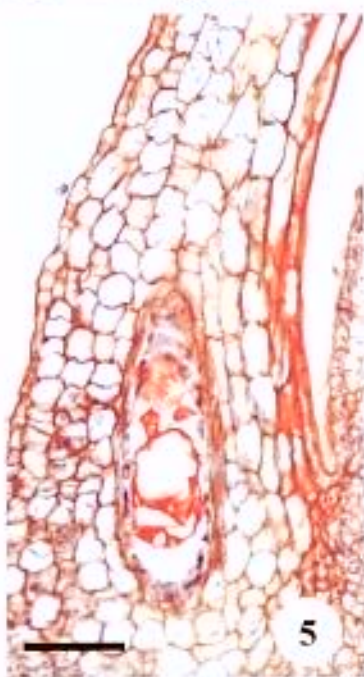
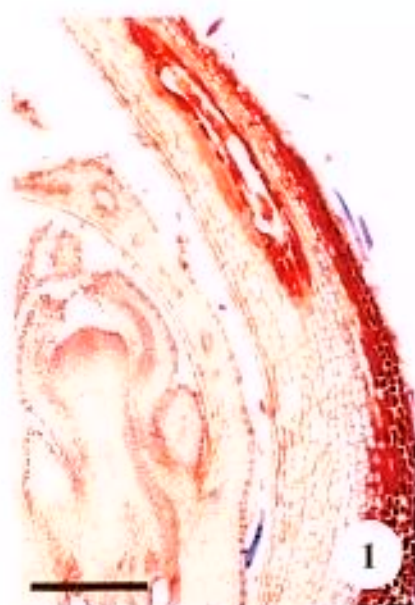
Canais do pedicelo. 20. Detalhe da figura 19, canal com secreção de duas frações (gotas e fluida). 21. Canais no mesofilo ovariano, no receptáculo e no pedicelo. 22 Canais no receptáculo. 23 e 24. Canais no mesofilo ovariano com epitélio unisseriado. 25. Detalhe da figura 22 com canais secretores no pistilódio. Barras = 300 μ m (17, 21), 30 μ m (18, 20, 24), 75 μ m (19, 23, 25), 250 μ m (22).

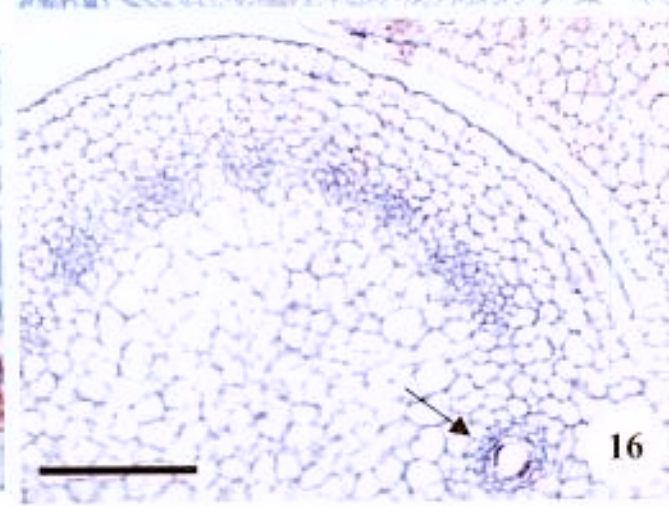
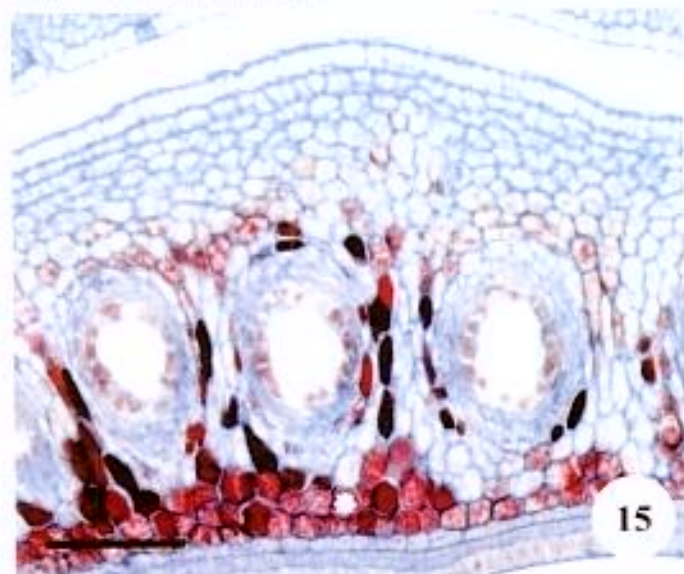
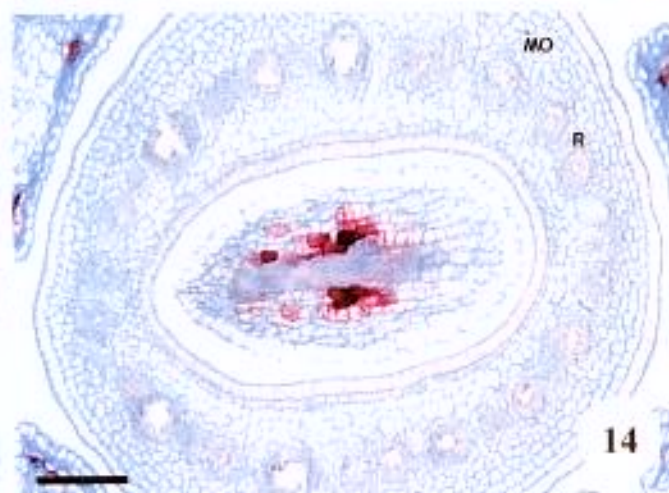
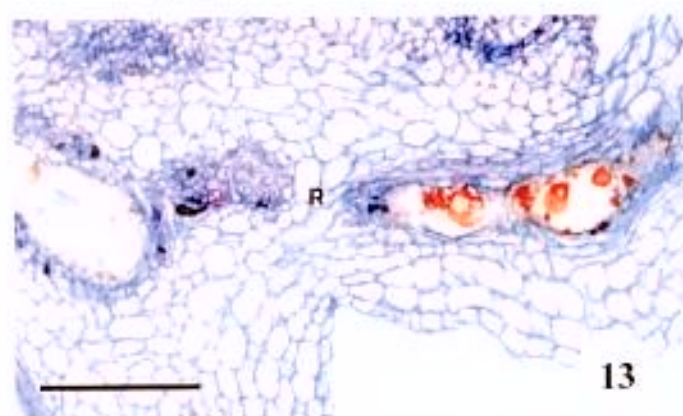
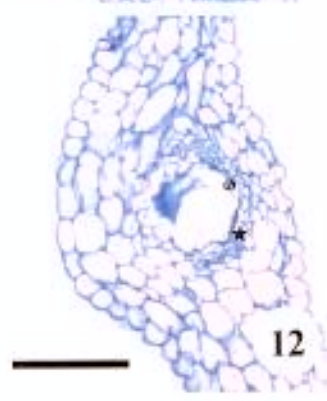
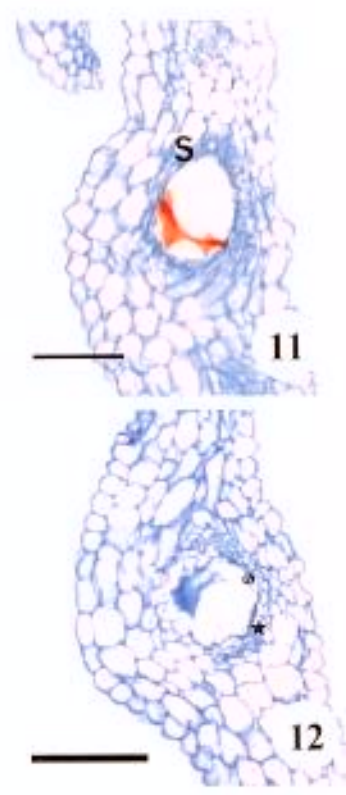
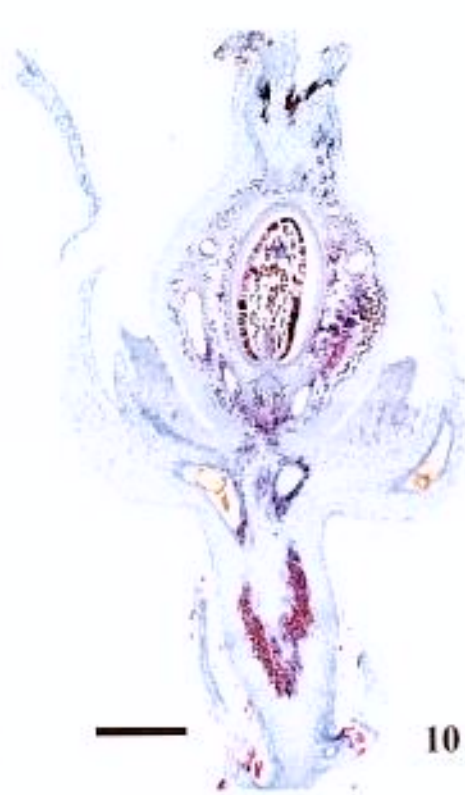
Figuras 26-37. Testes histoquímicos em canais secretores florais de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. 26-30, 34. Secção longitudinal. 31-33, 35-37. Secção transversal. 26, 29, 30, 32-34, 36. Material fixado em FNT. 27, 28, 31, 35, 37. Material fixado em FAA. 26, 29, 30. Flor estaminada. 27, 28. Flor hermafrodita. 31-37. Flor pistilada. 26- 30. *A. humile*. 31-34. *L. molleoides*. 35-37. *T. guianensis*. 26, 34. Canal da sépala. 27, 36. Canal do receptáculo. 28, 37. Canal do pedicelo. 29, 30, 31, 32. Canal da pétala. 33, 35. Canal do mesofilo ovariano. 26. Material sem tratamento histoquímico. 27. Reação PAS. 28. Teste com cloreto férrico. 29, 30, 32, 33, 36. Teste com sulfato azul do Nilo. 34. Teste com preto de Sudão B. 35. Teste com ácido tânico e cloreto férrico. 37. testes com vermelho de rutênio. Barras = (26-29) 75 μ m, (30) 30 μ m, (31) 50 μ m, (33, 34, 32) 75 μ m, (35-37) 30 μ m.

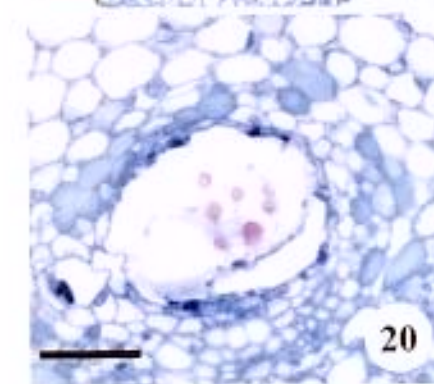
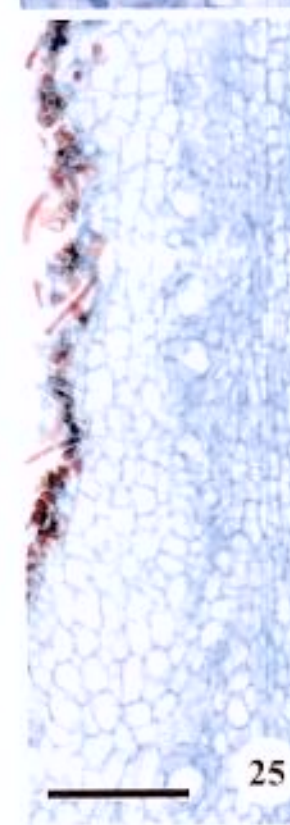
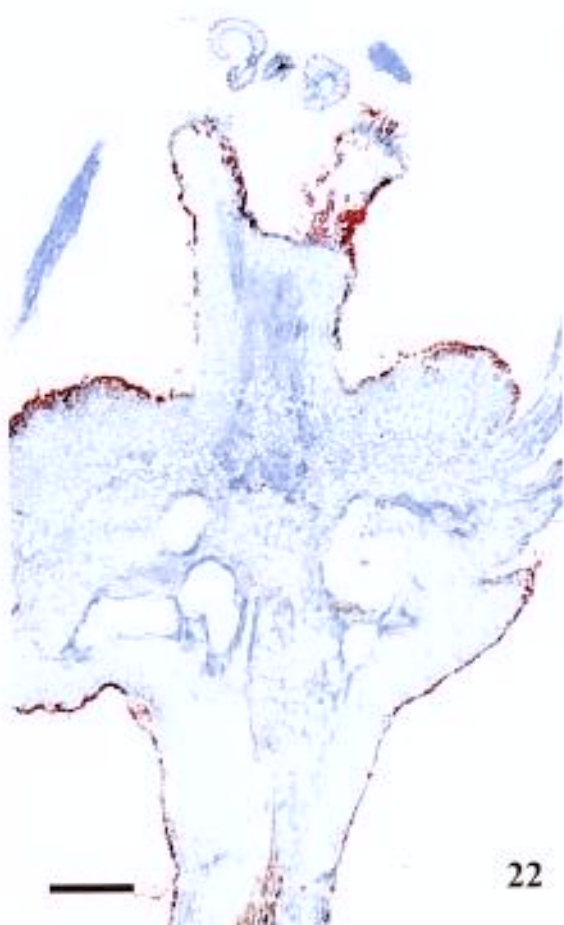
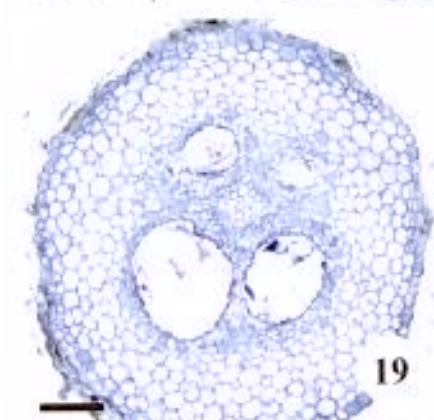
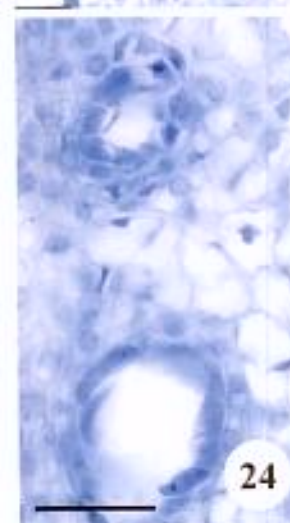
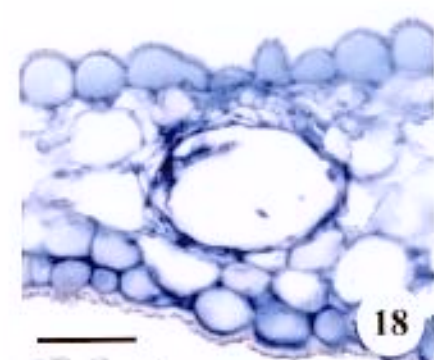
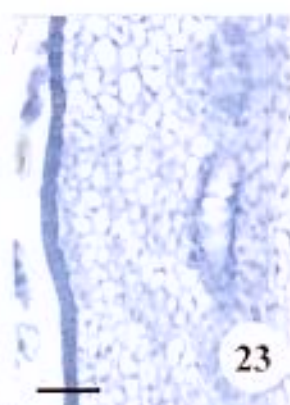
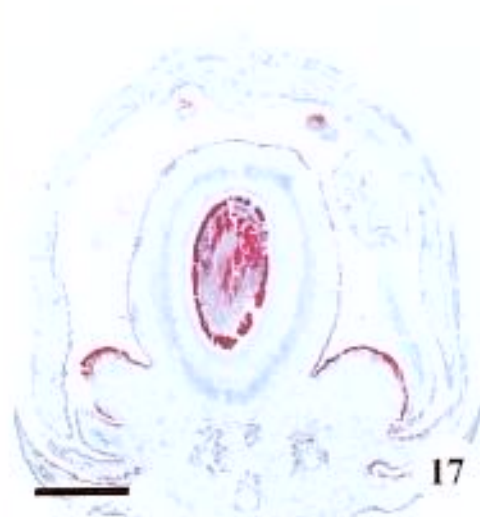
Figuras 38-44. Anatomia e distribuição dos canais secretores em frutos de *Anacardium humile* St.Hil. 38, 40, 42-44. Secção transversal. 39, 41. Secção longitudinal. 38-40. Frutos em estágio 1. 41, 42, 44. Fruto em estágio 2. 43. Fruto em estágio 4. 38. Canais junto aos feixes vasculares do mesocarpo; canais de diâmetro maior na região próxima ao feixe dorsal. 39. Canais no mesocarpo. 40, 41, 42, 43. Canais do mesocarpo em estágio secretor. 44. Canal secretor com células epiteliais de diferentes formatos evidenciando diferentes fases secretoras e bainha de células parenquimáticas. Barras = 250 μ m (38, 43), 150 μ m (39), 75 μ m (40, 44), 300 μ m (41), 300 μ m (42).

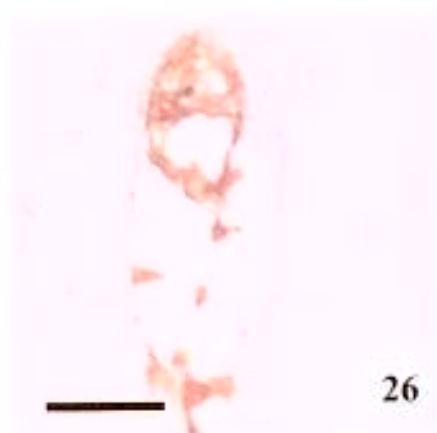
Figuras 45-52. Anatomia e distribuição dos canais secretores em pedúnculo de *Anacardium humile* St.Hil e em frutos de *Tapirira guianensis* Aubl. 45-47. *A. humile*, 48-52. *T. guianensis*. 45, 47-52. Secção transversal. 46. Secção longitudinal. 45-47. Pedúnculo em estágio 1. 48. Fruto em estágio 1. 49, 50. Fruto em estágio 2. 51, 52. Fruto em estágio 4. 45. Canais secretores formando um anel, e canais no tecido parenquimático central. 46. Canal secretor com células epiteliais de parede periclinal reta ou côncava. 47. Canal com bainha de células parenquimáticas. 48. Canais no mesocarpo e canal de dimensão menor próximo ao epicarpo. 49. Canais no mesocarpo. 50. Canal com epitélio unisseriado e secreção em gotas. 51. Canal com secreção em gotas e idioblastos ao redor. 52. Canal com secreção de aspecto homogêneo e gotas não coradas. Barras=250µm (45), 75µm (46), 150µm (47,49). 75µm (48), 30µm (50-52)

Figuras 53-64. Testes histoquímicos em canais secretores do fruto e pedúnculo de *Anacardium humile* St-Hil. e em canais secretores do fruto de *Tapirira guianensis* Aubl. 53-57. *A. humile*. 58-64. *T. guianensis*. 53-56, 58-64. Frutos. 57. Pedúnculo. 53-64. 53, 54 e 56. Fruto em estágio 2. 55. Fruto em estágio 4. 57. Pseudo-fruto em estágio 2. 58, 59, 62. Fruto em estágio 2. 60, 61, 63, 64. Fruto em estágio 4. Secção transversal. 53-57, 62. Material fixado em FNT. 58-61. Material fixado em FAA. 63-64. Material fresco. 53. Material sem tratamento histoquímico. 54, 57, 63. Teste com preto de Sudão B. 55, 64. Teste com vermelho de Sudão. 56, 62. Teste com sulfato azul de Nilo. 58. Reação PAS. 59, 60, 61. Teste com vermelho de rutênio. Barras = 300µm (53, 54, 55), 150µm (56), 75µm (57,60, 63), 30µm (58,59, 61,62, 64).

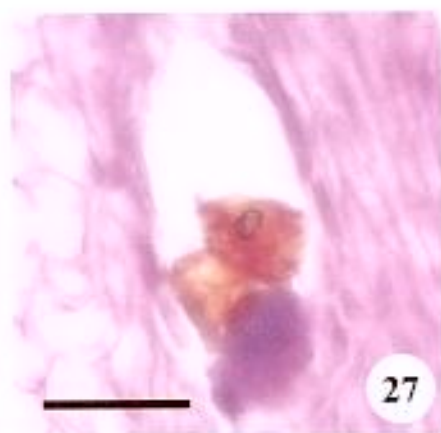




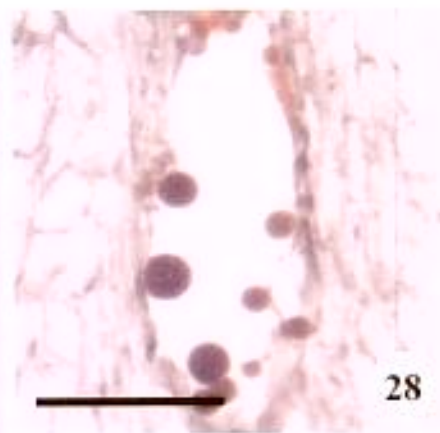




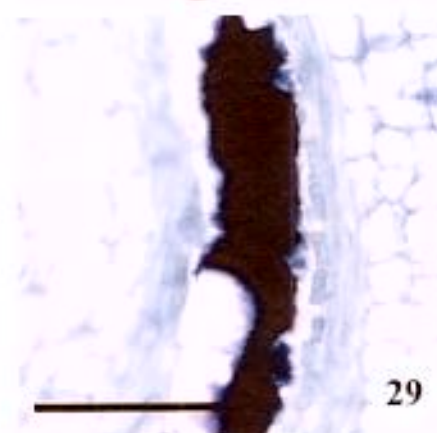
26



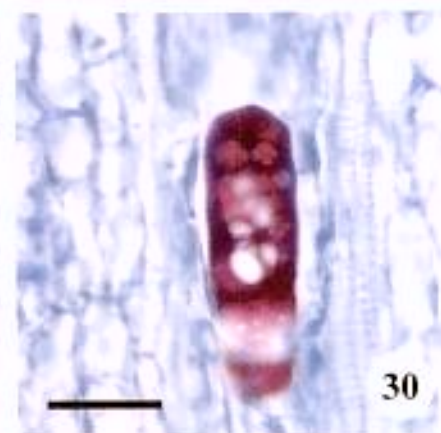
27



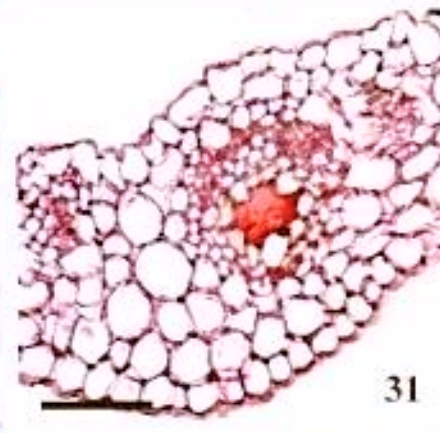
28



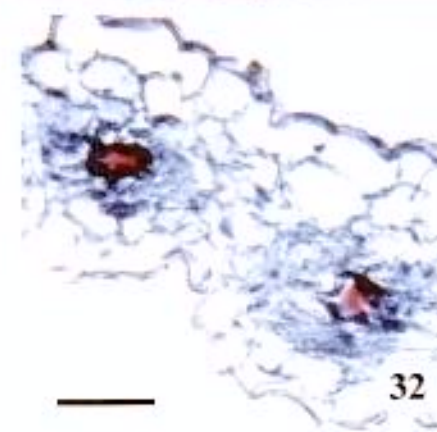
29



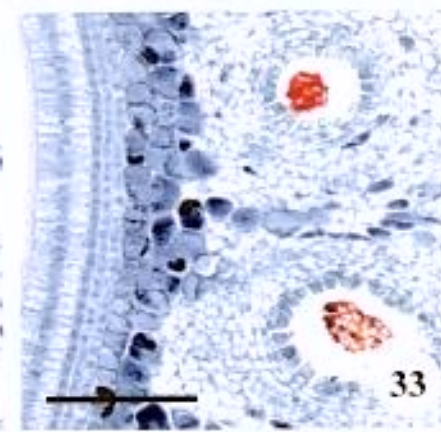
30



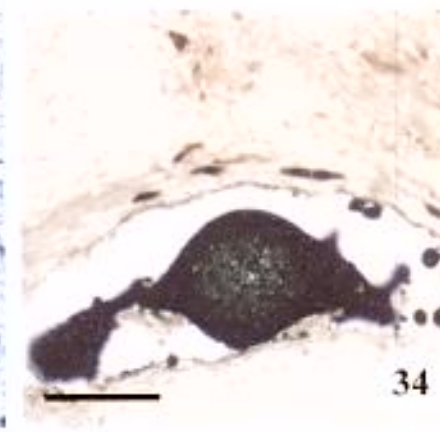
31



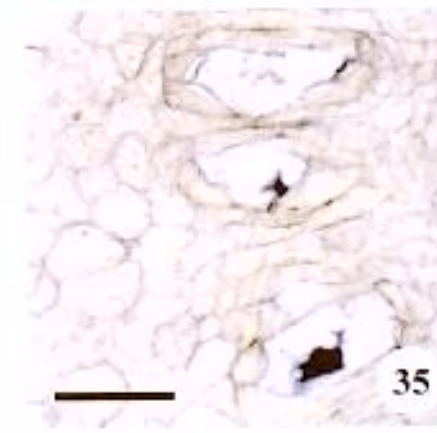
32



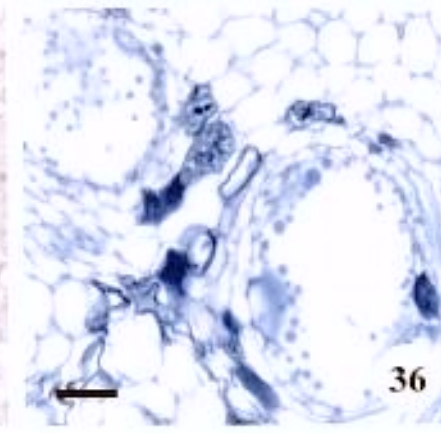
33



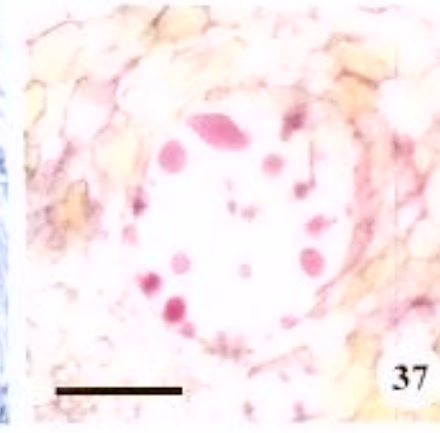
34



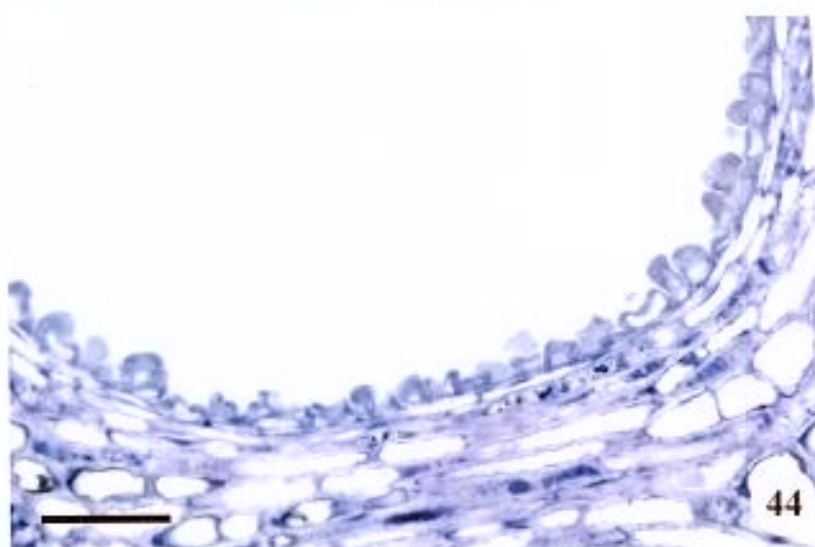
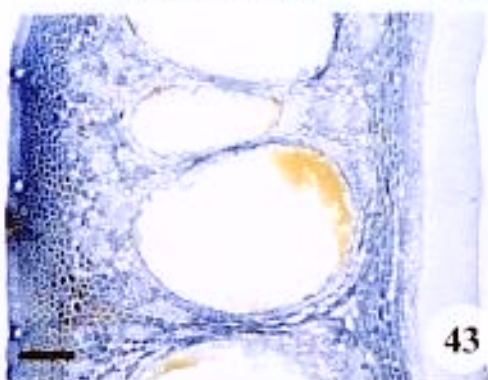
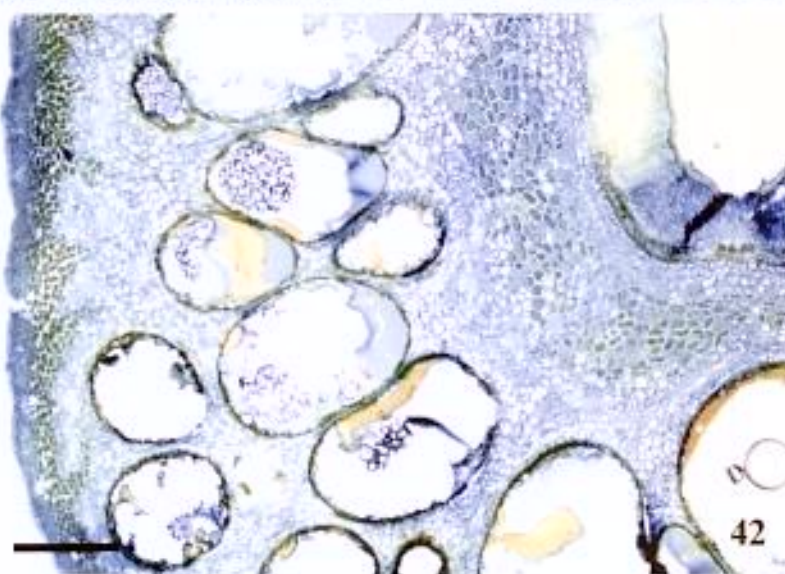
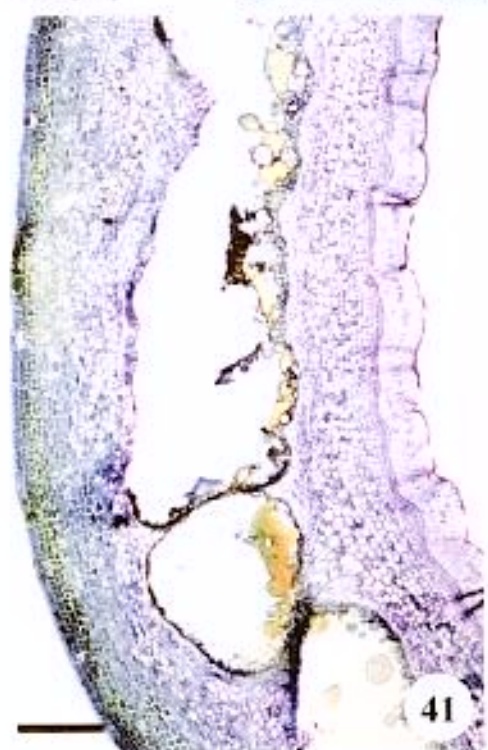
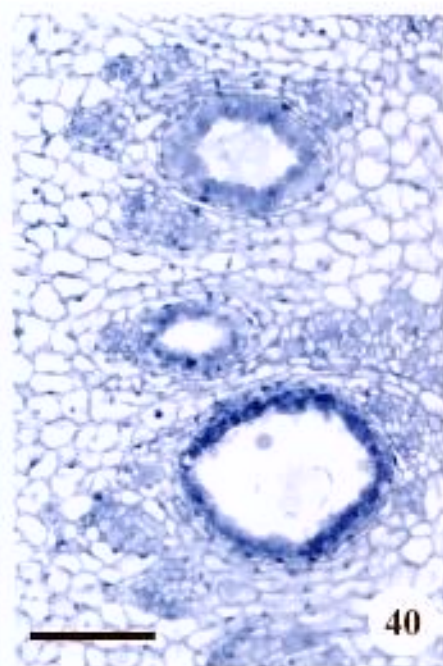
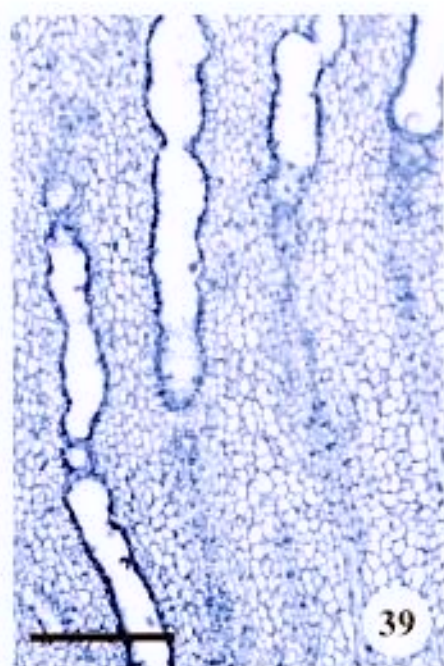
35

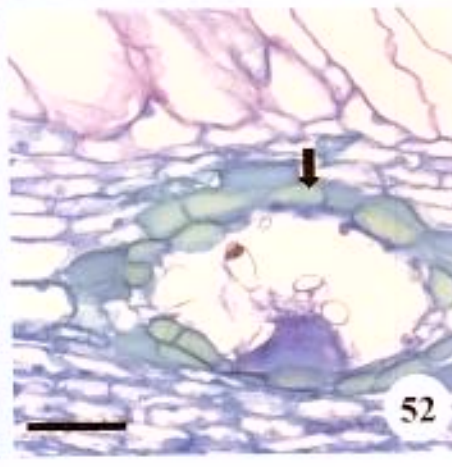
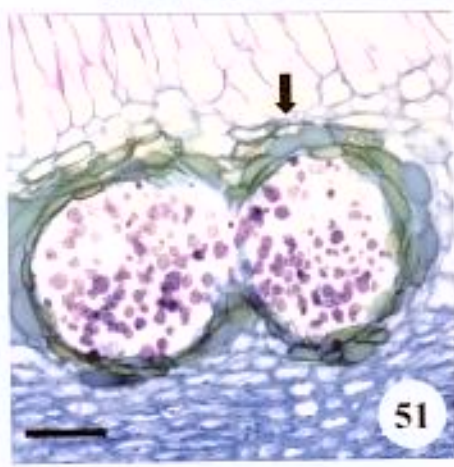
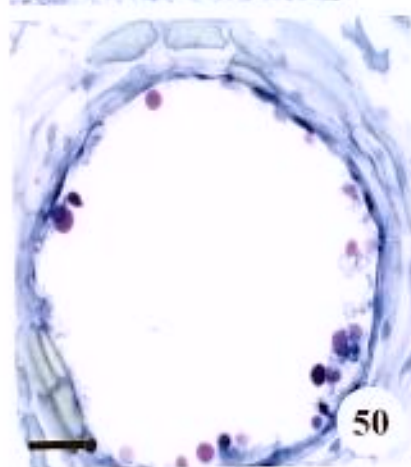
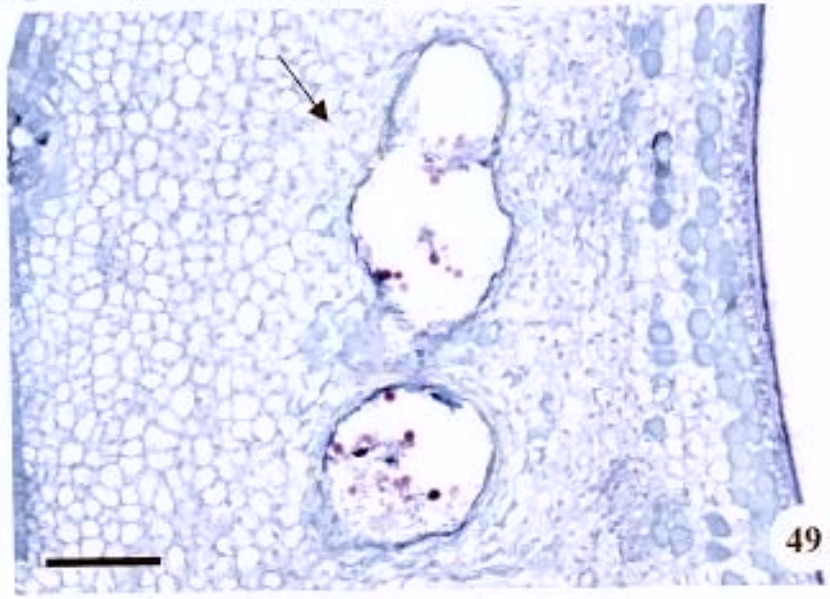
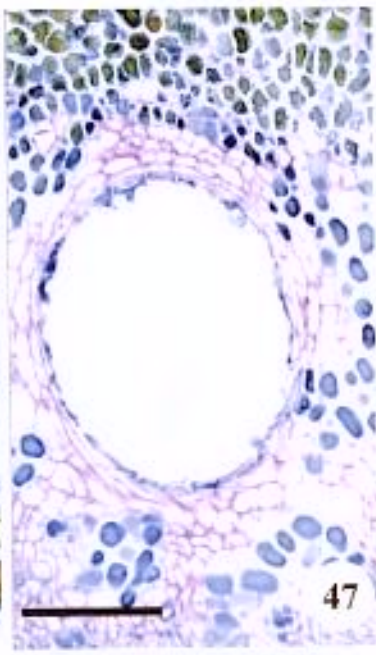
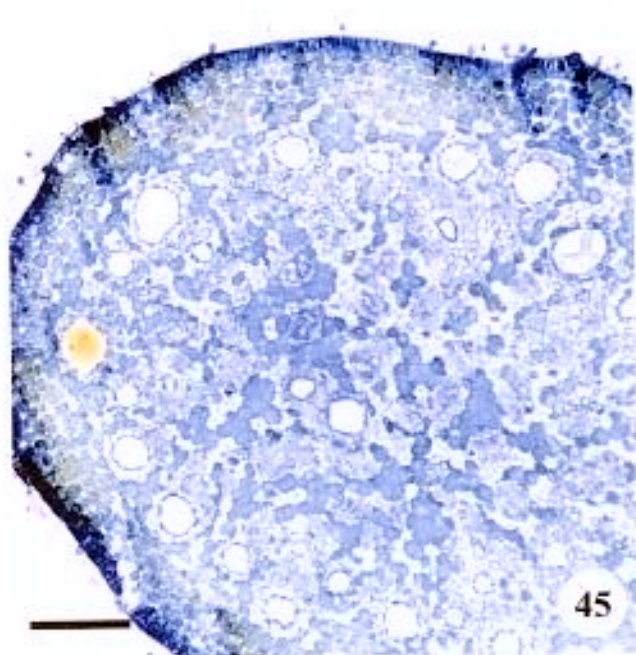


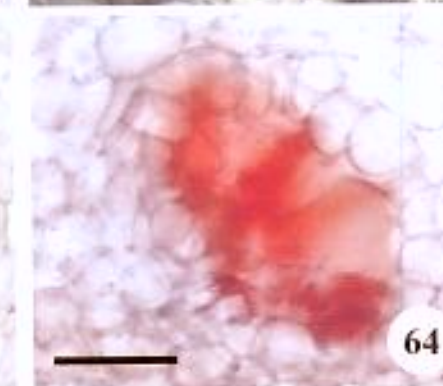
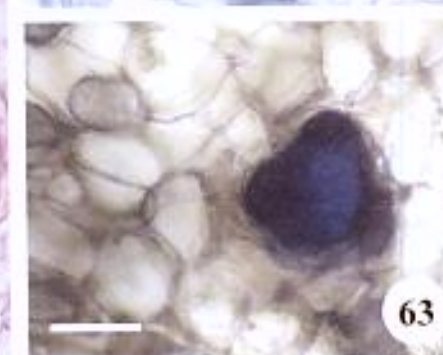
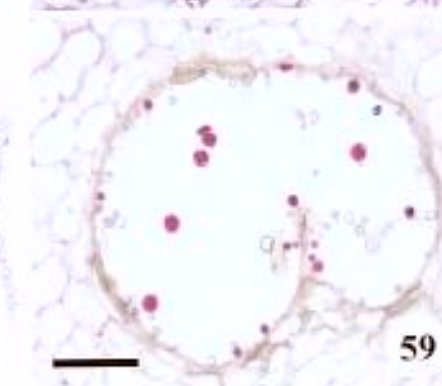
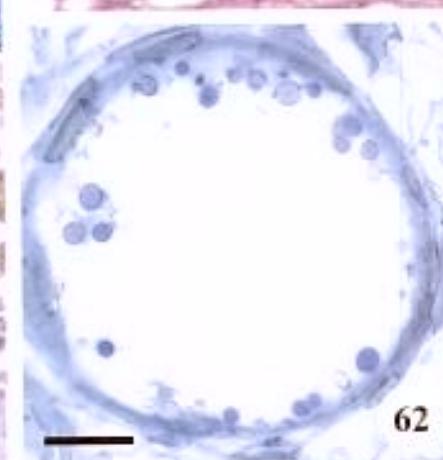
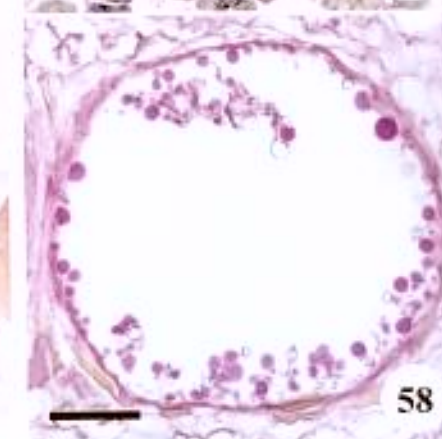
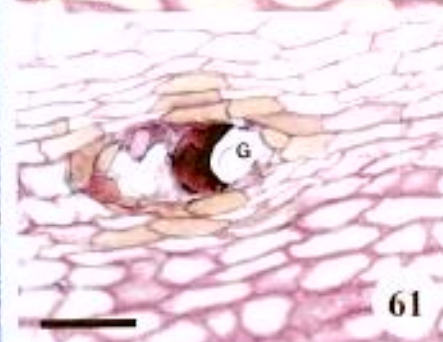
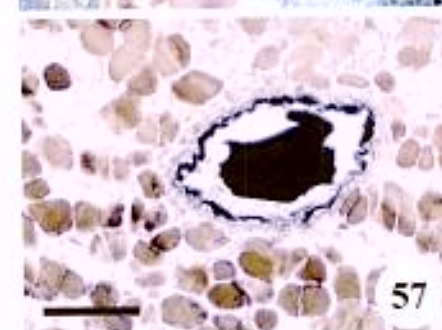
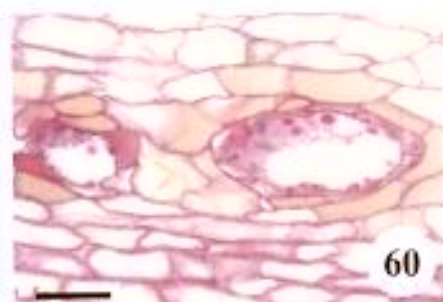
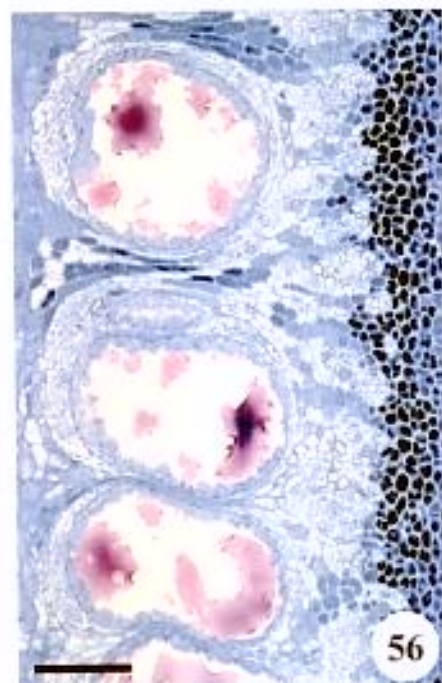
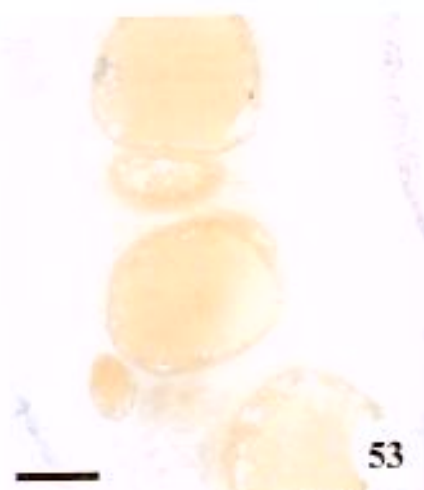
36



37







Morfologia, distribuição e histoquímica de coléteres foliares em espécies de Anacardiaceae

Ana Lacchia, Sandra M. Carmello-Guerreiro, Marília de M. Castro, e Lia Ascensão

Título resumido : Coléteres foliares em Anacardiaceae

A. Lacchia.^{1,2} Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

S.M. Carmello-Guerreiro. Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

M. de M. Castro. Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

L. Ascensão. Departamento de Biologia Vegetal, Centro de Biotecnologia Vegetal, Faculdade de Ciências de Lisboa, Lisboa, Portugal.

¹Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

²Autor para correspondência: lacchia@hotmail.com

Resumo: A principal característica de Anacardiaceae é a presença de ductos secretores, mas outras estruturas secretoras como tricomas, idioblastos e nectários têm sido descritas para a família. Os tricomas glandulares são encontrados em órgãos vegetativos e reprodutivos. Em *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G.Forst e *Tapirira guianensis* Aubl são encontrados tricomas glandulares multicelulares e multisseriados nas faces adaxial e abaxial dos primórdios foliares e das folhas jovens. O desenvolvimento destes tricomas é assincrônico, fato que impossibilita a tipificação. A secreção é composta por mucilagem, ácidos graxos e compostos fenólicos. A localização destes tricomas e a presença de mucilagem na secreção permitem identificá-los como coléteres que tem função de proteção contra dessecação e proliferação de fungos. A observação de coléteres em órgãos vegetativos é inédita para Anacardiaceae.

Palavras chave: Anacardiaceae, coléteres, tricomas glandulares, histoquímica, morfologia

Introdução

Anacardiaceae é bem conhecida por seus frutos e sementes comestíveis (manga, pistache e caju), plantas produtoras de verniz e pela sua valiosa madeira. Muitas espécies também são utilizadas na medicina popular devido aos seus compostos bioativos (Pell 2004). Esta família é composta por cerca de 600 espécies de distribuição pantropical com poucas espécies de regiões temperadas (Judd et al. 2002). No Brasil, está representada por muitos gêneros arborescentes, tais como *Anacardium*, *Lithraea*, *Schinus*, *Spondias* e *Tapirira*.

As propriedades alergênicas e medicinais das espécies de Anacardiaceae têm sido atribuídas aos compostos fenólicos da secreção dos ductos glandulares (Aguilar-Ortigoza et al. 2003). Entretanto, outras estruturas secretoras como tricomas, idioblastos e nectários têm sido reportadas para esta família.

Tricomas glandulares e tectores já foram descritos para os órgãos vegetativos e reprodutivos de algumas de suas espécies (Metcalf e Chalk 1950; Paviani 1965; Morretes 1967; Paula e Alves 1973; Sant'Anna 1975; Tewfic e Habib 1977; Gibson 1981; Mitchell e Mori 1987; Naranjo e Pernía 1990; Mitchell 1992; Mitra e Datta 1993; Tomer et al. 1996; Torres e Jáuregui 1999). Nos órgãos vegetativos, os tricomas glandulares são predominantemente descritos associados às folhas, havendo poucas espécies onde os tricomas glandulares também são encontrados no caule (Paula e Alves 1973). Nos órgãos reprodutivos, os tricomas secretores estão presentes nas flores e foram encontrados nas brácteas e no eixo das inflorescências em *Anacardium humile*, nas bractéolas e pedicelo das flores de *Lithraea molleoides*, no ovário e no pistilódio das flores de *Tapirira guianensis* (capítulo 4), em pétalas de *Ozoroa namaquensis* (Sprague) I. von Teichman & A.E. van Wyk (Von Teichman e van Wyk 1994) e no ovário das flores femininas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Machado & Carmello-Guerreiro 2001).

Apesar de muitos trabalhos indicarem a presença de tricomas glandulares, poucos fazem referência à composição da secreção (Metcalf e Chalk 1950; Wunnachit et al. 1992; Tomer et al. 1996) e à sua função nas espécies estudadas.

Este trabalho tem como objetivo caracterizar anatomicamente os tricomas glandulares dos ápices caulinares vegetativos de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell) Engl., *Spondias dulcis* G.Forst. e *Tapirira guianensis* Aubl., caracterizar as principais classes de compostos da secreção destes tricomas e inferir sua provável função.

Material e Métodos

Material

Ápices caulinares vegetativos com primórdios foliares medindo até 0.5 mm e folhas jovens medindo até 0.8 mm de comprimento de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. foram coletados em três áreas de cerrado do estado de São Paulo (SP): Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, Fazenda Palmeira da Serra em Pratânia e Botucatu. Ápices caulinares de *Spondias dulcis* G.Forst. foram coletados em um fragmento florestal: Fazenda Santa Eliza (Campinas). Os ápices caulinares foram coletados de indivíduos masculinos e femininos das espécies *T. guianensis* e *L. molleoides* e de indivíduos femininos da espécie *S. dulcis*. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *A. humile* St.Hil.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 13; Moji Guaçu, 09-IX-2003, *A. Lacchia* 8; 06-X-2004, *A. Lacchia*, 18, 19, 20, 21; *L. molleoides* (Vell.). Engl.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 16-VIII-2004, *A. Lacchia* 11,12; Pratânia, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 14, 15, 16, 17; *S. dulcis* G. Forst.: BRASIL, SÃO PAULO, Campinas, 15-II-2005, *A. Lacchia* 20, 21, 22; *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7; Pratânia, 03-IX-2002, *A. Lacchia* 1, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 13-X-2002, *A. Lacchia* 3, 18-III-2004, *A. Lacchia* 10. O material botânico foi identificado pelo professor Jorge Tamashiro, da Universidade Estadual de

Campinas.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os ápices caulinares foram fixados em glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0.1 M pH 7.2 por 48 h a 4 °C. Após lavagens no mesmo tampão, o material foi desidratado em série acetônica ascendente, seco pelo método do ponto crítico, montado e metalizado com ouro. As observações foram efetuadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Jeol T 220 a 15 kV e os aspectos mais relevantes foram registrados em filme Kodak T Max 200.

Microscopia de luz (ML)

Ápices caulinares foram fixados em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1:18 v/v) por 24 h (Johansen 1940) e em FNT (tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) por 48 h (Lillie 1965). Após esses períodos, os materiais foram desidratados em série butílica, incluídos em "Paraplast" e seccionados transversalmente e longitudinalmente com 12 a 14 µm de espessura em micrótomo rotativo (Microm HM340E).

Para o estudo estrutural, os ápices caulinares foram corados com a tripla coloração de Flemming (safranina 1% em etanol 50%, violeta cristal e laranja G 1% em óleo de cravo; Johnsen 1940) ou com a dupla coloração (safranina 1% em etanol 50% e azul de astra 1%; Gerlach 1984). Todas as lâminas foram montadas em resina sintética (Permound).

As principais classes de metabólitos no material secretado foram investigadas em secções fixadas aplicando os seguintes testes histoquímicos: reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent) para polissacarídeos totais (Jensen 1962); vermelho de rutênio para mucilagens ácidas (Gregory e Baas 1989); ácido tânico e cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato e Lillie 1973); preto de Sudão B para lipídios totais (Pearse 1985); sulfato azul do Nilo para lipídios ácidos e neutros (Cain 1947); acetato de cobre e ácido rubeânico (Ganter e Jollés 1969, 1970) para ácido graxo e cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940).

Para o controle dos testes para substâncias lipofílicas, os ápices caulinares foram colocados em solução de metanol/clorofórmio/água/HCl (66:33:4:1 v/v; High 1984) por 48 h. Após este período, o material foi fixado em FNT e posteriormente tratado com os reagentes e corantes já mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

As fotomicrografias foram obtidas em microscópio Olympus BX 51 utilizando-se filme Pro-image ou Kodak Gold ASA 100. As escalas das figuras foram obtidas por meio de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Resultados

Morfologia e distribuição dos tricomas (figuras 1-24)

Nos primórdios foliares e nas folhas jovens de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* observam-se tricomas não glandulares principalmente na face adaxial. Tricomas glandulares são observados em ambas as faces dos primórdios foliares e das folhas jovens estando ausentes nas folhas adultas das quatro espécies estudadas. Nestas espécies, o desenvolvimento dos tricomas é assincrônico, impossibilitando a tipificação destes; e tricomas em desenvolvimento e tricomas em estágio secretor podem ser observados em qualquer estágio de desenvolvimento do primórdio foliar ou da folha (Fig. 3, 4, 9, 15, 17).

Em *A. humile*, os tricomas glandulares são abundantes e encontrados na epiderme de ambas as faces dos primórdios foliares e folhas jovens (Fig. 8). Em *A. humile*, foi possível observar que os tricomas glandulares iniciam seu desenvolvimento na epiderme adaxial dos primórdios foliares mais jovens e em estádios mais avançados destes, os tricomas se distribuem por toda lâmina foliar. Os tricomas glandulares possuem porção secretora multicelular e multisseriada; o número de células em cada série pode variar de quatro (Fig. 9) a sete (Fig. 10-11) e o número de séries também pode variar de quatro (Fig. 12) a oito (Fig. 13) em uma mesma porção secretora do tricoma. O ápice é bisseriado e o pedúnculo é unisseriado e bicelular.

Em *L. molleoides*, os tricomas glandulares, em grande número, são encontrados na epiderme das faces adaxial e abaxial dos primórdios foliares e folhas jovens estudadas (Fig. 14) e produzem secreção profusa (Fig. 32). A porção secretora destes tricomas é multicelular e multisseriada, cujo número de séries pode variar de quatro a seis em um mesmo tricoma, sendo mais comum tricomas com quatro séries. O número de células em cada série também pode variar de seis (Fig. 15-16) a oito células (Fig. 17). O ápice e o pedúnculo do tricoma possuem duas células, que são dificilmente visualizadas (Fig. 16).

Em *S. dulcis*, os tricomas glandulares estão presentes em grande quantidade na epiderme das faces adaxial e abaxial dos primórdios foliares e das folhas jovens (Fig. 4, 18) e produzem secreção profusa (Fig. 6). A porção secretora desses tricomas é multicelular e multisseriada. O número de células em cada série pode variar (Fig. 5-7, 19-22) tendo no mínimo quatro células (Fig. 20) e no máximo 11 células (Fig. 21). O número de séries nesta espécie varia dentro de um mesmo tricoma podendo chegar até sete células (Fig. 20). O ápice do tricoma tem duas células e o pedúnculo é unisseriado, contendo quatro ou cinco células.

Em *T. guianensis*, tricomas glandulares são escassos e sua porção secretora é multicelular e multisseriada (Fig. 1, 2, 24), cujo número de séries varia de quatro a seis em um mesmo tricoma e cada série pode conter de quatro a seis células. O pedúnculo nesta espécie é alongado, unisseriado e pode conter de quatro a seis células (Fig. 2).

Histoquímica (figuras 25-43)

Mucilagem, ácidos graxos e compostos fenólicos lipossolúveis foram detectados na secreção das células dos tricomas glandulares das quatro espécies estudadas (Tabela 1). Secreção profusa dos tricomas no meio extracelular envolvendo os ápices vegetativos pôde ser observada em *L. molleoides* (Fig. 32) e *S. dulcis* (Fig. 37) que reage positivamente para mucilagem.

Discussão

A presença de tricomas é uma característica constante em Anacardiaceae. Mitra e Datta (1993) estudaram os órgãos vegetativos de 65 espécies de Anacardiaceae da tribo Mangiferae e destas, apenas três espécies não possuíam tricomas.

Tricomas tectores foram observados nos primórdios foliares, nas folhas jovens e nos primórdios caulinares de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis*. Os tricomas tectores são unicelulares em *A. humile* e multicelulares e unisseriados em *L. molleoides* e *T. guianensis* (observações pessoais). Tricomas não secretores foram descritos para a lâmina foliar, pecíolo, peciólulo e caule de algumas espécies de Anacardiaceae por diversos autores ver Tabela 2. Em muitas espécies estudadas, estes tricomas são unicelulares; apenas em *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera, *Schinus terebinthifolius*, *Spondias purpurea* L. e *Spondias tuberosa* Arruda tricomas tectores multicelulares foram descritos ver Tabela 2.

Tricomas glandulares foram observados nos primórdios foliares e nas folhas jovens das quatro espécies estudadas. Estes tricomas são formados assincronicamente e são caducos, senescendo à medida que a folha cresce. Em todas as espécies estudadas, os tricomas glandulares possuem desenvolvimento assincrônico; desta forma, observa-se em um mesmo primórdio foliar ou em uma mesma folha tricomas em diferentes fases de desenvolvimento. Este fato impossibilita afirmar se há mais de um tipo de tricoma ou se o observado são tricomas em diferentes fases de desenvolvimento.

Tricomas glandulares foram localizados dispersos pela lâmina dos primórdios foliares e das folhas adultas de muitas espécies de Anacardiaceae (Tabela 2). Em *Anacardium*, tricomas glandulares também foram encontrados em depressões nas axilas das nervuras da lâmina foliar, que alguns autores denominaram de criptas foliares e outros de domáceas (Paula e Alves 1973; Mitchell 1992; Mitchell e Mori 1987). Tricomas glandulares caducos foram observados nos primórdios foliares de *Pachycormus discolor* (Benth.) Coville (Gibson 1981) e nas brácteas e no escapo das

inflorescências de *A. humile* (capítulo 4). Tricomas glandulares caulinares foram descritos apenas para *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. por Paula e Alves (1973).

Em *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, os tricomas glandulares são multicelulares e multisseriados. Tricomas secretores multicelulares foram localizados nas folhas de muitas espécies de Anacardiaceae (Tabela 2); nas flores de *A. humile*, *T. guianensis* e *L. molleoides* (capítulo 4 e 5); nas pétalas de *Ozoroa namaquensis* I. von Teichman & A.E. van Wyk (von Teichman and van Wyk 1994) e no ovário de *S. terebinthifolius* (Machado e Carmello-Guerreiro, 2001). Tricomas glandulares unicelulares foram observados apenas nas folhas e no caule de *Anacardium spruceanum* (Paula e Alves 1973).

Nas quatro espécies estudadas, o número de séries varia dentro de um mesmo tricoma e o decréscimo de células por série na direção da base para o ápice pode ser visualizado nos tricomas de *A. humile* e *L. molleoides*. Em *Anacardium nanum* St.Hil., a parte mediana do corpo do tricoma glandular é constituída por várias séries de células, decrescendo o seu número em direção a parte terminal do tricoma (Morretes 1967).

Os tricomas glandulares das quatro espécies estudadas produzem secreção composta de mucilagem, ácidos graxos e compostos fenólicos lipossolúveis, que envolve o ápice vegetativo.

Apesar de numerosas descrições sobre a presença de tricomas em Anacardiaceae, há poucos registros sobre a composição da secreção destas estruturas. Em *Rhus*, Metcalfe e Chalk (1950) atribuíram caráter resinífero à secreção dos tricomas glandulares foliares. Em *Mangifera indica* L., Tomer et al. (1996) observaram secreção com caráter tanífero e em *Anacardium occidentale* L., Wunnachit et al. (1992) caracterizaram a secreção dos tricomas da corola como nectarífera. Tricomas glandulares com secreção heterogênea composta por substâncias hidrofílicas e lipofílicas foram encontrados em depressões da lâmina foliar, nas brácteas, no escapo das inflorescências e nas pétalas de *A. humile*, no ovário e no pistilódio de *T. guianensis* e nas brácteas e no pedicelo das flores de *L. molleoides* (capítulos 4 e 5).

Os tricomas glandulares dos primórdios foliares e das folhas jovens de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis* podem ser denominados coléteres por serem encontrados em órgãos jovens em desenvolvimento e por secretarem mucilagem dentre outras substâncias, que envolvem e protegem os órgãos em desenvolvimento. A presença de coléteres em folhas de Anacardiaceae está sendo descrita neste trabalho pela primeira vez.

Para Fahn (1979), coléteres são tricomas que secretam uma substância viscosa e consistem de uma cabeça multicelular e de um pedúnculo que pode estar ou não presente. Thomas (1991) se referiu aos coléteres como estruturas que produzem uma secreção viscosa que protege os meristemas em início de desenvolvimento. A secreção destas estruturas pode ser constituída apenas por mucilagem (Fahn 1979; Thomas 1991) ou por uma mistura de mucilagem e compostos lipofílicos (Fahn 1979, 1990).

A presença de mucilagem na secreção dos coléteres impede o dessecamento das regiões meristemáticas, devido a sua reconhecida capacidade de retenção de água (Fahn 1979; Simões et al. 2004). Pelo estudo histoquímico, detectou-se também a presença de compostos fenólicos que são conhecidos, dentre outras propriedades, por inibirem o crescimento de fungos e esta função foi registrada para os coléteres calicinais de *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. (Demarco 2005). Assim, sugere-se que os coléteres em Anacardiaceae protegem os meristemas contra o dessecamento e a proliferação de fungos. A função de proteção dos meristemas em *A. humile* pode ser confirmada pela ausência de tricomas em ápices vegetativos hipógeos (Naranjo and Pernía 1990); desta forma, não há coléteres nos órgãos que estão protegidos sob o solo, mas à medida que os ápices tornam-se epígeos e perdem esta proteção, a presença desta glândula é observada.

Em espécies de Anacardiaceae, a presença de tricomas glandulares é comum nos órgãos vegetativos (Tabela 2), mas estas estruturas estão descritas apenas para órgãos vegetativos já desenvolvidos.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa de doutorado (proc. nº 03/13556-5) e pelo auxílio à projeto temático (Biota/FAPESP proc. nº 00/12469-3) concedidos e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior pela bolsa de estágio de doutorado no exterior concedida.

Referências Bibliográficas

- Aguilar-Ortigoza, C.J., Sosa, V., and Aguilar-Ortigoza, M. 2003. Toxic phenols in various Anacardiaceae species. *Econ. Bot.* **57**(3): 354-364.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Q. J. Microsc. Sci.* **88**: 383-392.
- Demarco, D. 2005. Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceae s.l.). thesis, Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Fahn, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- Fahn, A. 1990. Plant anatomy. 4th ed., Pergamon Press, New York.
- Ganter, P., and Jollés, G. 1969, 1970. Histologie normale et pathologique. vol. I and II. Gauthier – Villars, Paris.
- Gerlach, D. 1984. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. Georg Thieme, Stuttgart.
- Gibson, A.C. 1981. Vegetative anatomy of *Pachycormus* (Anacardiaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* **83**: 273-284.
- Gregory, M., and Baas, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Isr. J. Bot.* **38**: 125-174.
- High, O.B. 1984. Lipid histochemistry. Oxford University Press, New York.
- Jensen, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman and Co., San Francisco.

- Johansen, D.A. 1940. Plant Mycrotechnique. McGraw-Hill Book, New York.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., and Donoghue, M.J. 2002. Plant Systematics. A Phylogenetic Approach. 2nd ed., Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Lillie, R.D. 1965. Histopathologic technic and practical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- Machado, S.R. and Carmello-Guerreiro, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Acta Botânica Brasília 15 (2): 189-195.
- Metcalf, C.R., and Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons. vol.1, Oxford Clarendon Press.
- Mitchell, J.D. 1992. Additions to *Anacardium* (Anacardiaceae) *Anacardium amapaense*, a new species from French Guiana and eastern Amazonian Brazil. Brittonia 44(3): 331-338.
- Mitchell, J.D., and Mori, S.A. 1987. The cashew and its relatives (*Anacardium*: Anacardiaceae). Mem. New York Bot. Gard. 42: 1-76.
- Mitra, B., and Datta, P.C. 1993. The trichomes of the tribe Mangiferae (Anacardiaceae). Journal of the National Botanical Society 47: 37-53.
- Morretes, B.L. 1967. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do Cerrado II. Bol. Fac. Filos. Cienc. Let. Univ. São Paulo 305(Bot. 22): 207-44.
- Naranjo, H.L., and Pernía, N.E. 1990. Anatomia y Ecología de los organos subterraneos de *Anacardium humile* St. Hill. (Anacardiaceae). Revista Florestal Venezolana 24(34): 55-76.
- Paula, J.E., and Alves, J.L.H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). Acta Amazon. 3:39-53.
- Paviani, T.I. 1965. Contribuição ao conhecimento do gênero *Schinus* L. Anatomia de quatro espécies e uma variedade. Rev. Fac. Farm. Bioquím. St. Maria 11: 91-110.

- Pell, S.K. 2004. Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Thesis, Department of Biological Sciences, Faculty of the Louisiana State University.
- Pearse, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applies. vol. II, 4th ed. Longman Group Limits.
- Pizzolato, T.D., and Lillie, R.D. 1973. Mayer's tannic acid- ferric cholride stain for mucins. J. Histochem. Cytochem. **21**: 56-64.
- Sant'Anna, W. 1975. Anatomia foliar da *Spondias tuberosa* Arruda. Acta Biol. Parana. **4**: 35-43.
- Simões, C.M.O; Schenkel, E.P; Gosmann, G.; Mello, JCP de; Mentz, L.A. and Petrovick, P.R. 2004. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5^a ed., Porto Alegre/ Florianópolis, Editora da UFRGS/Editora da UFSC.
- Tewfic, H.A., and Habib, A. 1977, Studies on gland development and distribution in Anacardiaceae: *Mangifera indica*. Egypt. J. Hort. **4**(1): 3-8.
- Thomas, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. Ann. Bot. **68**: 287-305.
- Tomer, E., Cohen, M., and Gottreich, M. 1996. Light and scanning electron microscope (SEM) observations of trichomes in persimmon (*Diospyros kaki* L.) and mango (*Mangifera indica* L.) leaves. Isr. J. Plant Sci. **44**: 57-67.
- Torres, M., and Jauregui, D. 1999. Caracterizacion anatomica foliar de cuatro especies de arboles frutales: *Anacardium occidentale* L. (meyer); *Mangifera indica* L. (mango); *Spondias purpurea* L. (ciruela de huesito) y *Psidium guajava* L. (guayaba). Ernstia **9**: 155-173.
- Von Teichman, I., and van Wyk, A.E. 1994. The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae) - evidence from fruit structure. Ann. Bot. **73**(2): 175-184.
- Wunnachit, W., Jenner, C.F., and Sedgley, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale*. (Anacardiaceae): An andromonoecious species. Int. J. Plant Sci. **153**(3): 413-420.

Tabela 1. Testes histoquímicos para a secreção dos tricomas glandulares de *Anacardium humile* St. Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G.Forst e *Tapirira guianensis* Aubl.

Testes histoquímicos	Substância a ser evidenciada	Cor	<i>A. humile</i> (Figura)	<i>L. molleoides</i> (Figura)	<i>S. dulcis</i> (Figura)	<i>T. guianensis</i> (Figura)s
reação PAS	polissacarídeos totais	rosa a vermelho	+ (26)	+ (31)	+ (37)	+ (41)
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho	+	+	+ (38)	+
ácido tânico e cloreto férrico.	mucilagens	preto	+	+ (32)	+	+
cloreto férrico (FAA)	compostos fenólicos	preto; marrom	-	-	-	-
preto de Sudão B	lipídios totais	preto	+	+ (33)	+	+
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	+ (28)	+ (34)	+ (39)	+ (42)
sulfato azul do Nilo	lipídios neutros	rosa	-	-	-	-
acetato de cobre e ac.rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	+ (29)	+ (35)	+ (40)	+ (43)
cloreto férrico (FNT)	compostos fenólicos	preto; marrom	+ (30)	+ (36)	+	+

()=Figura, + = positivo, -=negativo.

Tabela 2- Tricomas tectores e glandulares em órgãos vegetativos de Anacardiaceae.

Espécies	Tricomas tectores (folha)	Tricomas glandulares (folha)	Tricomas tectores (caule)	Tricomas glandulares (caule)	Referências
<i>Anacardium amapaense</i>		(lf) "domáceas"	-	-	Mitchell 1992
<i>Anacardium nanum</i>	-	(ed)/(eb) multisseriados	-	-	Morretes 1967
<i>Anacardium occidentale</i>	(lf) no (p) unicelulares	(lf) multicelulares (p) no	-	-	Torres e Jáuregui 1999
<i>Anacardium parvifolium</i>	-	(lf) "domáceas"	-	-	Mitchell 1992
<i>Anacardium spruceanum</i>	(lf)/(ed) no (p) no	(lf)/(ed) (lf)/(eb) uni e multicelulares (p) no	-	uni e multicelulares	Paula e Alves 1973
<i>Mangifera indica</i>	(lf) no	(lf)/(eb) "domáceas" (lf)/(eb)	no	no	Tewfic e Habib 1977
	(lf) no (p) no	(lf) multicelulares (lf)/(eb) peltados (p) no	-	-	Tomer et al. 1996
<i>Pachycormus discolor</i>	(lf) unicelulares	(lf) multicelulares (pf)/(rq) multicelulares (pf)/(p) multicelulares (pf) caducos (lf)	-	-	Torres e Jáuregui 1999
<i>Rhus</i> sp.					Gibson 1981
<i>Schinus molle</i>	(lf) unicelulares (p) unicelulares	(p) no	no	no	Metcalf e Chalk 1950
<i>Schinus terebinthifolius</i>	(lf) unicelulares (p) no	(lf) (p) no	unicelulares	no	Paviani 1965
<i>Schinus lentiscifolius</i>	(lf)/(ed) unicelulares (p) unicelulares	(lf)/(eb) (p) no	unicelulares	no	Paviani 1965
<i>Schinus polygamu</i>	(lf)/(eb) unicelulares (p) unicelulares (raros)	(p) no	no	no	Paviani 1965
<i>Schinus terebinthifolius</i> (variedade)	(lf) unicelulares e multicelulares (p) unicelulares e multicelulares	(lf) (p) no	multicelulares	no	Paviani 1965
<i>Spondias purpurea</i>	(lf) unicelulares (nc) unicelulares (p) unicelulares	(lf)/(eb) multicelulares (nc) no (p) no	-	-	Torres e Jáuregui 1999
<i>Spondias tuberosa</i>	(lf) unicelulares e multicelulares (pl) unicelulares e multicelulares (p) unisseriados e multisseriados	(lf)/(ed) multicelulares (lf)/(eb) no (pl) multicelulares (p) no	-	-	Sant'Anna 1975

(lf) = lâmina foliar, (pl) = peciólulo, (p) = pecíolo, (ed) = epiderme adaxial, (eb) = epiderme abaxial, (pf) = primórdio foliar, (pc) = primórdio caulinar, (nc) = nervura central, (av) = ápices vegetativo, (rq) = raque, (no) = estrutura não observada, - = sem referência.

Figuras 1 a 7. Micrografias de varredura evidenciando os tricomas glandulares foliares de *Tapirira guianensis* (1-3) e *Spondias dulcis* (4-7). 1-3 e 5-7. Detalhe dos tricomas com porções secretoras multisseriadas. 4. Ápice caulinar vegetativo, notar coléteres nos primórdios foliares. **Escala:** 1. 20 μm . 2, 3, 6-7. 10 μm . 4. 50 μm . 5. 25 μm .

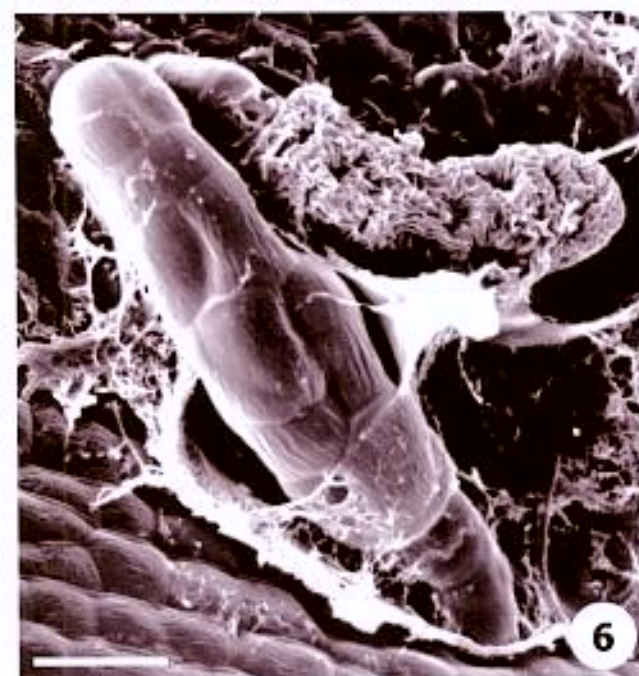
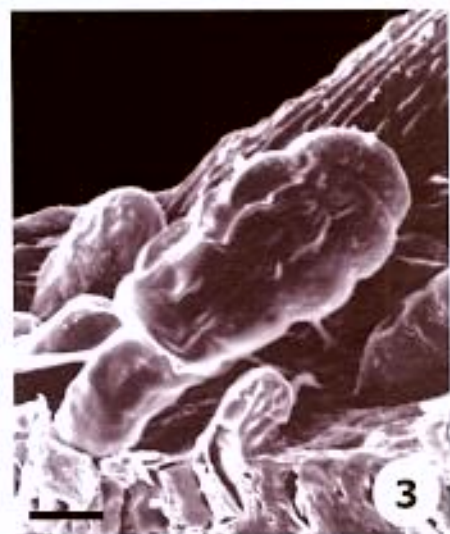
Figuras 8 a 13. Tricomas glandulares foliares de *Anacardium humile*. **8.** Ápice vegetativo com tricomas glandulares e tectores. **9- 13.** Pormenor dos tricomas glandulares capitados; a porção secretora é multicelular e multisseriada. **9.** Vista lateral de tricomas glandulares com porções secretoras multisseriadas e multicelulares com seis e sete células de comprimento. **10.** Tricomas glandulares com porções secretoras multisseriadas e multicelulares com quatro células de comprimento. **11.** Vista frontal de tricomas glandulares com porções secretoras multisseriadas e multicelulares. **12.** Porção secretora do tricoma com quatro séries de células. **13.** Porção secretora do tricoma com oito séries de células. **Escala:** **8.** 250 μm . **9-13.** 30 μm .

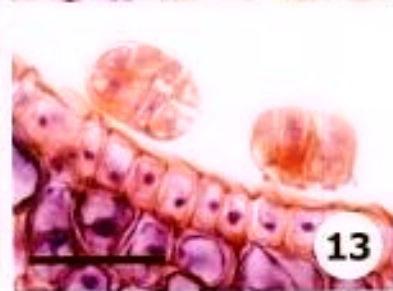
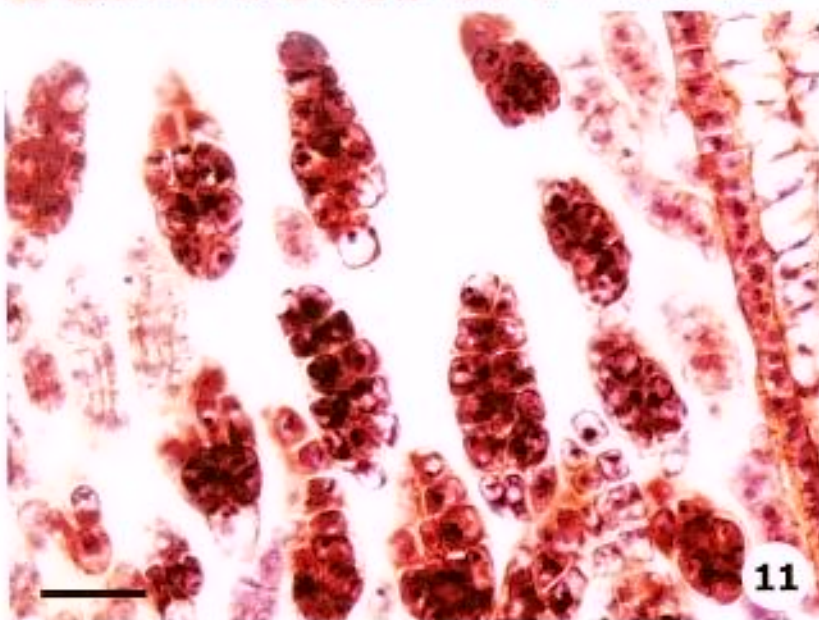
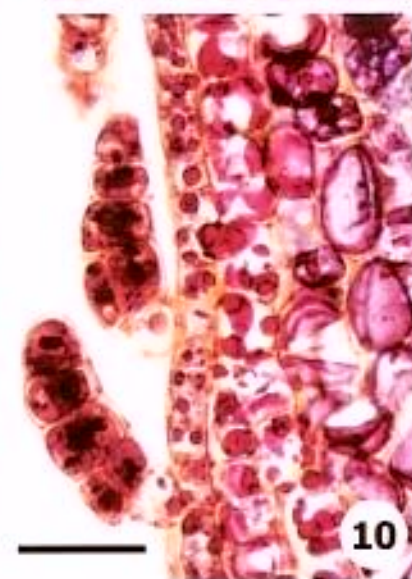
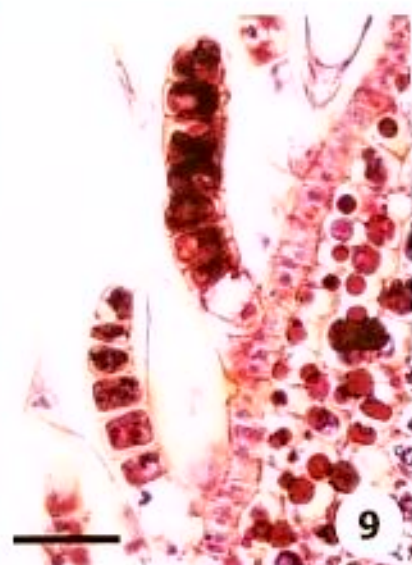
Figuras 14 a 17. Tricomas glandulares foliares de *Lithraea molleoides*. **14.** Ápice vegetativo com tricomas glandulares e tectores. **15.** Primórdios foliares com tricomas em diferentes estádios de desenvolvimento. **16.** Tricoma com cabeça secretora multisseriada e multicelular com seis células de comprimento. **17.** Primórdios foliares com tricomas em diferentes estádios de desenvolvimento e tricoma com cabeça secretora com 11 células de comprimento. **Escala:** **14.** 250 μm . **15.** 50 μm . **16 e 17.** 30 μm .

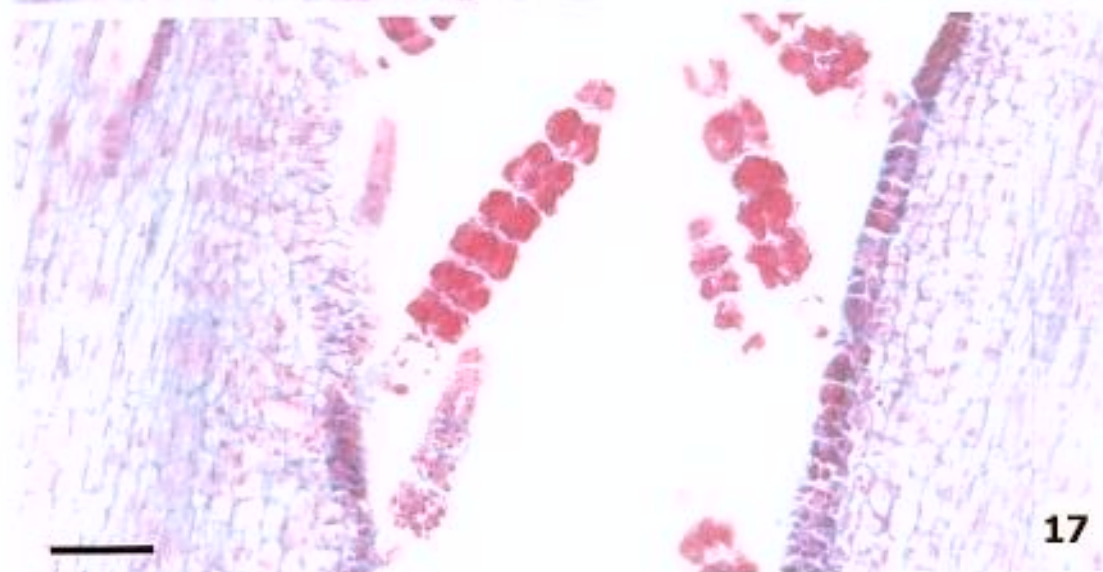
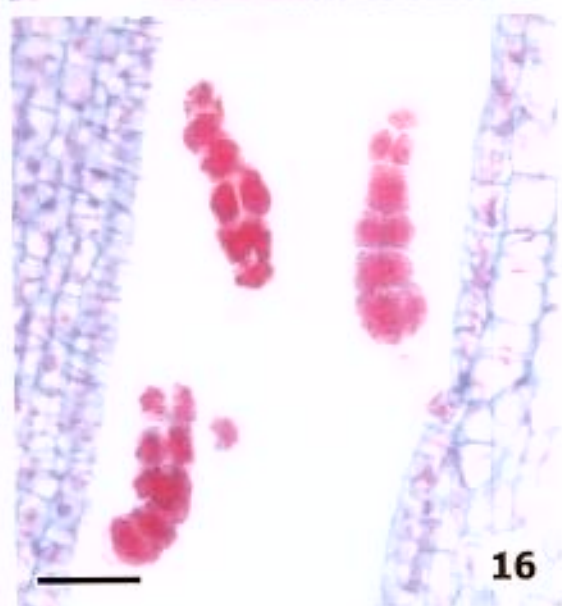
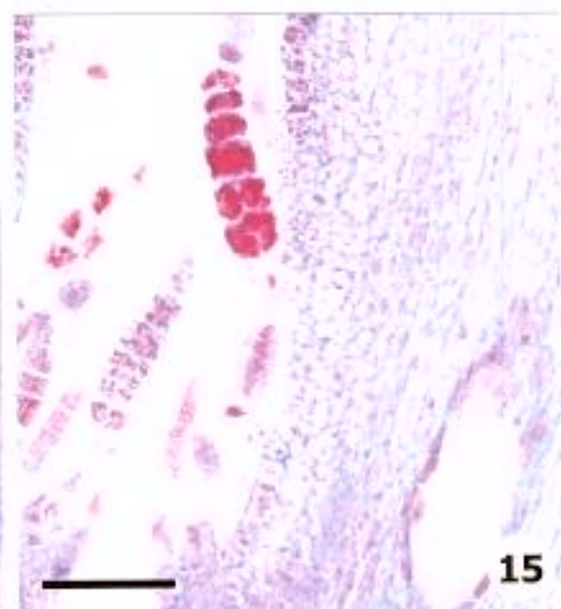
Figuras 18 a 24. Tricomas glandulares foliares de *Spondias dulcis* (18-23) e tricoma glandular de *Tapirira guianensis* (24). **18.** Ápice vegetativo com tricomas glandulares. **19 e 20.** Tricoma com cabeça multisseriada e multicelular com 5 células de comprimento. **21.** Tricoma com cabeça multisseriada e multicelular com 8 células de comprimento. **22.** Tricomas glandulares de diferentes formatos com variação no número de séries e no número de células em cada série. **23.** Tricoma com 7 séries de células e tricoma com 2 séries de células. **24.** Tricoma com cabeça multisseriada e multicelular com 4 células de comprimento. **Escala:** 18. 300 µm. 19-23. 30 µm. 24. 40 µm.

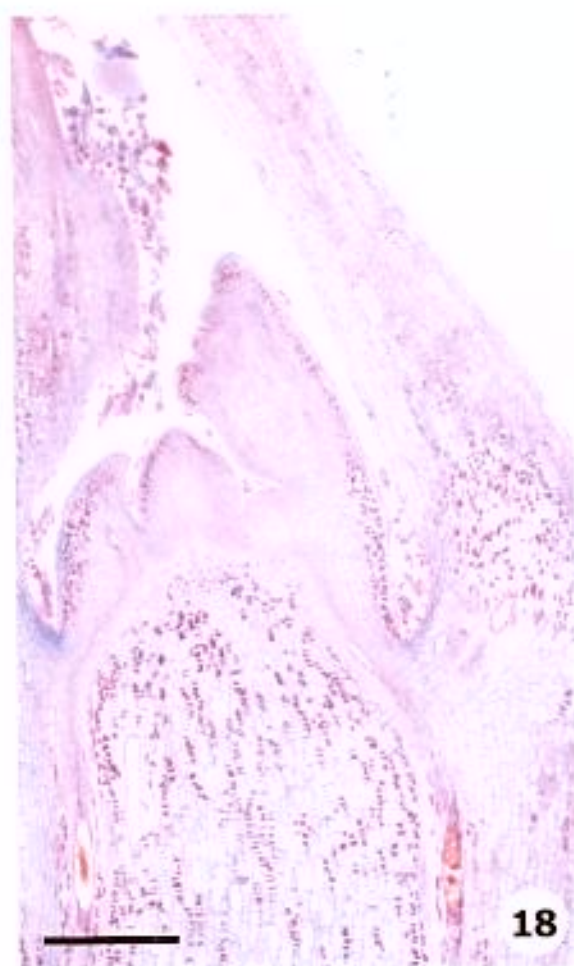
Figuras 25 a 36. Caracterização histoquímica da secreção dos tricomas de *Anacardium humile* e *Lithraea molleoides*. **25 a 30.** Tricomas glandulares de *A. humile*. **31 a 36.** Tricomas glandulares de *L. molleoides*. **25.** Secreção fixada em FAA sem tratamento histoquímico. **26 e 31.** Reação PAS. **27.** Secreção fixada em FNT sem tratamento histoquímico. **28 e 34.** Teste com sulfato azul do Nilo. **29 e 35.** Teste com acetato de cobre e ácido rubêânico. **30 e 36.** Teste com cloreto férrico. **32.** Secreção no meio extracelular; teste com ácido tânico e cloreto férrico. **Escala:** 25-28, 32, 34 e 36. 30 µm. 29, 31, 33 e 35. 15 µm. 30. 25 µm.

Figuras 37 a 43. Caracterização histoquímica da secreção dos tricomas de *Spondias dulcis* e *Tapirira guianensis*. **37 a 40.** Tricomas de *S. dulcis*. **41 a 43.** Tricomas de *T. guianensis*. **37.** Secreção em meio extracelular; reação PAS. **38.** Teste com vermelho de rutênio. **39 e 42.** Teste com sulfato azul do Nilo. **40 e 43.** Teste com acetato de cobre e ácido rubêânico. **41.** Reação PAS. **Escala:** 37. 25 µm. 38, 40, 41 e 43. 15 µm. 39 e 42. 30 µm.

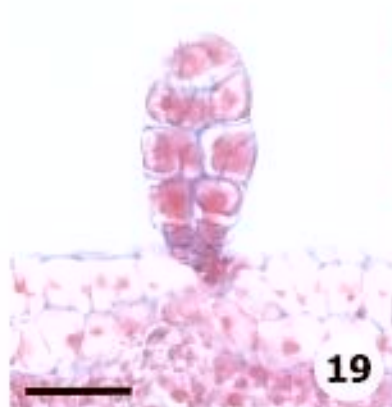




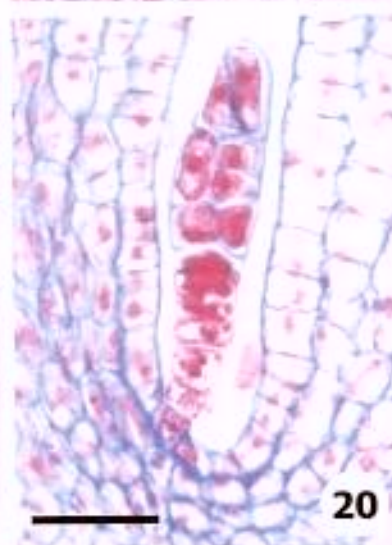




18



19



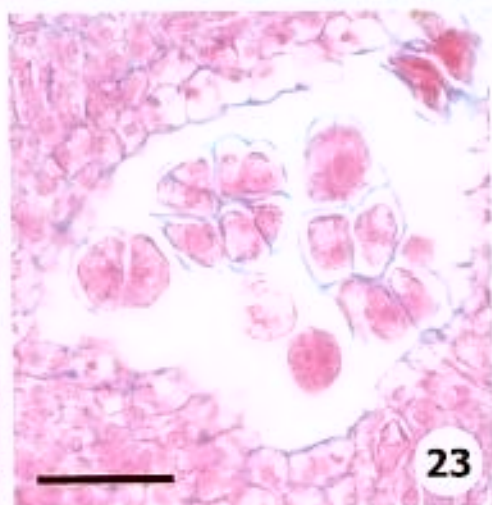
20



21



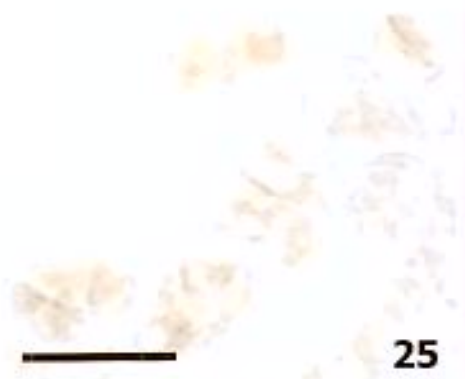
22



23



24



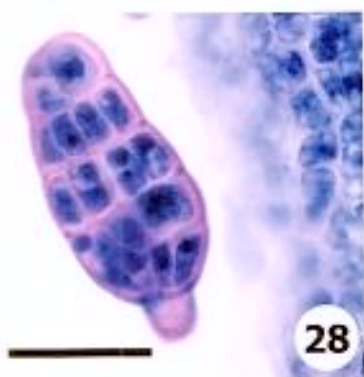
25



26



27



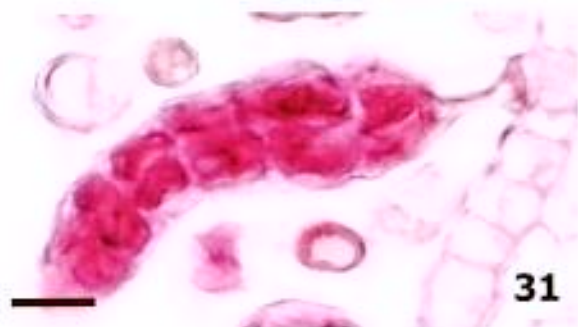
28



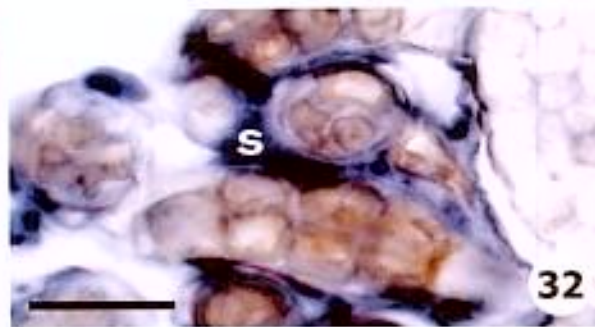
29



30



31



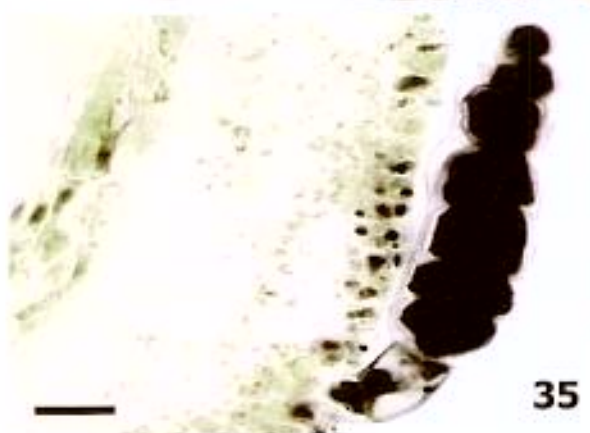
32



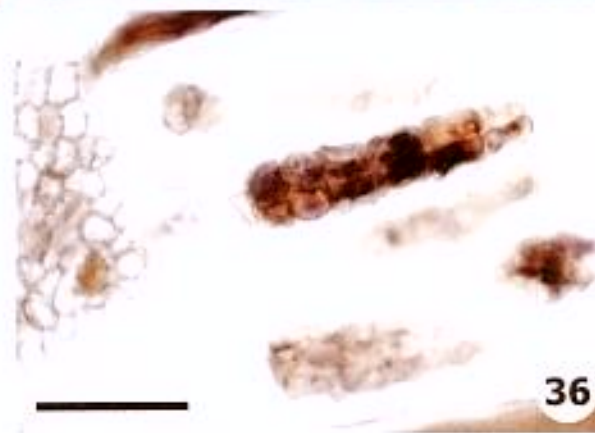
33



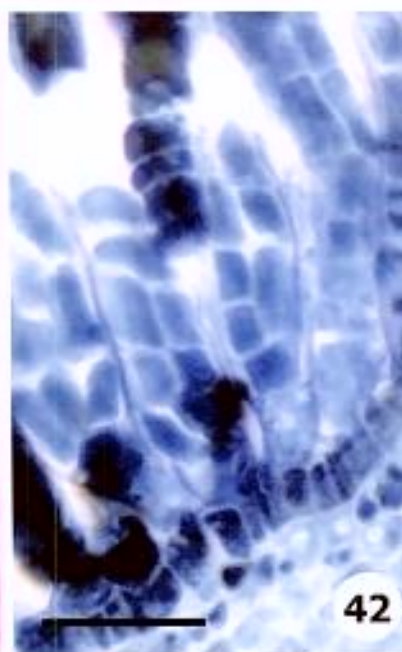
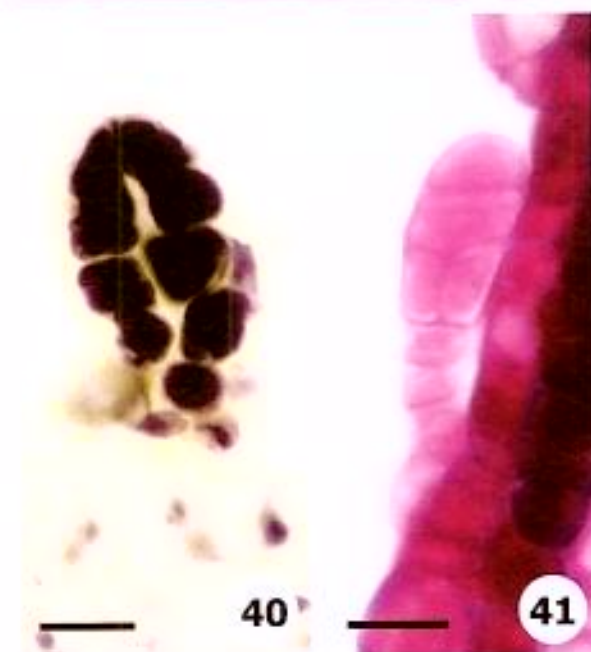
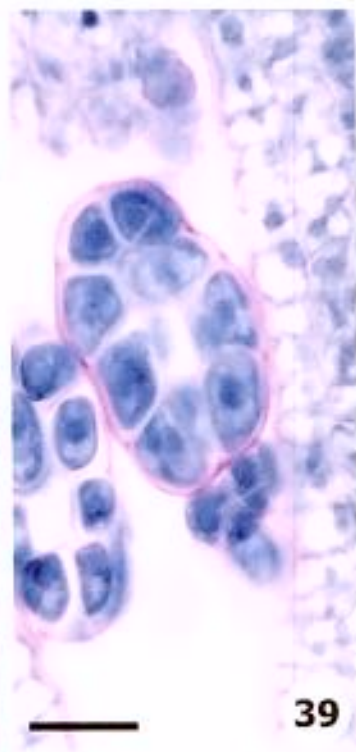
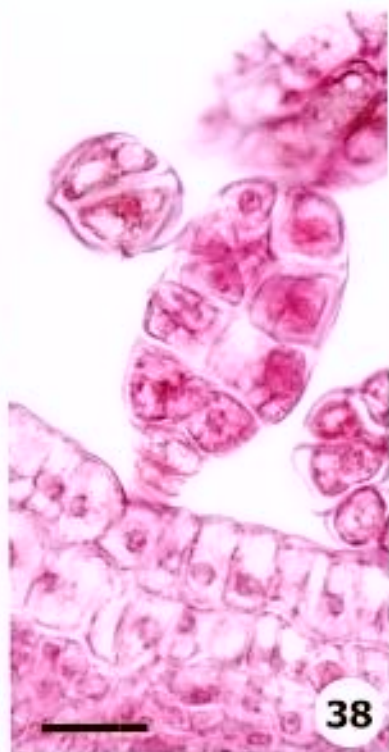
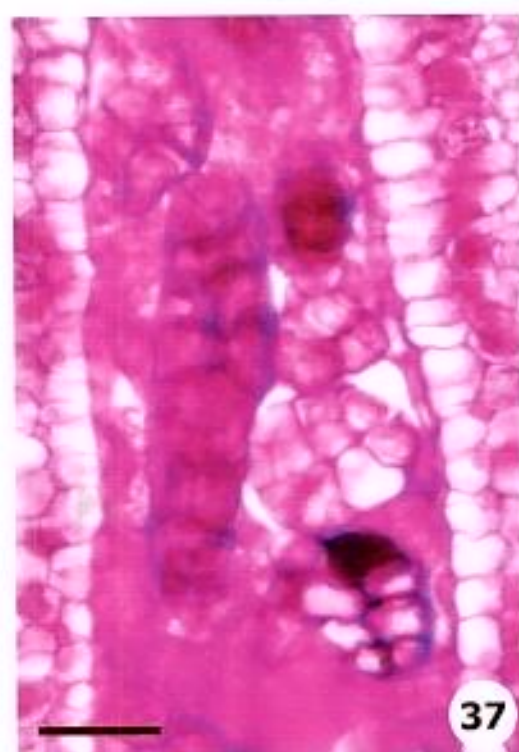
34



35



36

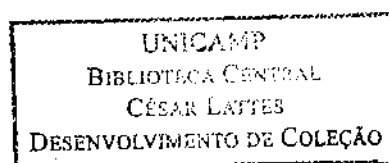


Tricomas glandulares em espécies de Anacardiaceae: estrutura e secreção

ANA LACCHIA^{1,2}, SANDRA MARIA CARMELLO GUERREIRO^{2,3}, MARÍLIA DE MORAES
CASTRO²

Título resumido: Tricomas glandulares em Anacardiaceae.

-
1. Parte da tese de doutorado de Ana Paula Stechhahn Lacchia, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
 2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.
 3. Autor para correspondência: smcg@unicamp.br.



RESUMO – (Tricomas glandulares em espécies de Anacardiaceae: estrutura e secreção). Muitos dos aspectos da morfologia, anatomia, histoquímica e ultra-estrutura das estruturas secretoras da maioria dos representantes do cerrado são desconhecidos frente à riqueza e diversidade desta formação. Neste bioma, a família Anacardiaceae está representada principalmente pelos gêneros *Anacardium*, *Lithraea*, *Schinus* e *Tapirira*. Dentre as anacardiáceas, muitas espécies são conhecidas por seus saborosos frutos, outras, como produtoras de boa madeira ou de substâncias de uso industrial e medicinal e principalmente, por serem causadoras de sérias alergias. Apesar de muitos trabalhos indicarem a presença de tricomas glandulares em espécies de Anacardiaceae, poucos fazem referência à composição e à função da secreção destas estruturas em órgãos vegetativos e reprodutivos. Este estudo tem como objetivo caracterizar estruturalmente os tricomas glandulares da folha de *Anacardium humile* St.Hil. e os tricomas florais de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl., bem como, avaliar a natureza da secreção destas glândulas por meio da histoquímica. Tricomas glandulares multicelulares e multisseriados, cuja secreção é composta por polissacarídeos, compostos fenólicos e ácidos graxos foram encontrados nas folhas, pedúnculo e nas brácteas da inflorescência de *A. humile*, no pedúnculo e na bractéola floral de *L. molleoides* e no ovário e pistilódio de *T. guianensis*. Tricomas multicelulares e unisseriados de secreção fenólica e lipídica foram encontrados no estigma de *L. molleoides* e *T. guianensis*.

Palavras-chave – tricomas glandulares, estrutura, histoquímica, distribuição, Anacardiaceae.

Introdução

Anacardiaceae está incluída na ordem Sapindales e é composta por 70 gêneros com aproximadamente 600 espécies de distribuição principalmente pantropical, com poucas de regiões temperadas (Judd *et al.* 1999). No cerrado Anacardiaceae está representada principalmente por *Anacardium*, *Lithraea*, *Schinus* e *Tapirira*.

Diversos membros desta família são cultivados em todo o mundo, devido aos seus frutos e sementes comestíveis, compostos medicinais, madeira valiosa e beleza paisagística (Pell 2004).

Além dos canais secretores característicos da família, outras estruturas secretoras como coléteres (capítulo 3), idioblastos (Metcalf & Chalk, 1950 e Lacchia, capítulo 1), nectários florais e extraflorais (Wunnchit *et al.*, 1992 e Rickson & Rickson, 1998) e tricomas glandulares (Metcalf & Chalk 1950; Paviani 1965; Morretes 1967; Paula & Alves 1973; Sant'anna 1975; Tewfic & Habib 1977; Gibson 1981; Mitchell & More 1987; Naranjo & Pernía 1990; Mitchell 1992; von Teichman & van Wyk, 1994; Torres & Jáuregui 1999; Carmello-Guerreiro & Paoli, 2002), foram descritas para algumas espécies.

Tricomas glandulares são encontrados em depressões localizadas nas axilas das nervuras foliares de algumas espécies de *Anacardium* (Mitchell & More, 1987, Mitchell, 1992). Em *Anacardium occidentale* L., Rickson & Rickson, 1998 verificaram que as depressões foliares são cobertas internamente por papilas glandulares e atribuíram caráter nectarífero à secreção produzida por estas papilas. Nos órgãos reprodutivos de Anacardiaceae, tricomas secretores também foram encontrados na epiderme externa ovariana das flores femininas de *Schinus terenbinthifolius* Raddi (Carmello-Guerreiro e Paoli, 2002), em pétalas de *Ozoroa namaquensis* (von Teichman e van Wyk, 1994) e *Anacardium humile* St.Hil.(capítulo 5).

Apesar de muitos trabalhos indicarem a presença de tricomas glandulares em Anacardiaceae, poucos fazem referência à composição da secreção (Metcalf & Chalk 1950, Tomer *et al.* 1996) e a

função a ela atribuída. Estudos que caracterizem a localização, a estrutura e a secreção dos tricomas podem trazer valiosas informações sobre a função destas estruturas em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae.

Mediante o exposto, este trabalho tem como objetivo caracterizar anatomicamente os tricomas glandulares presentes em folhas de *Anacardium humile* St-Hil. e nas flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell) Engl. e *Tapirira guianenses* Aubl., ocorrentes no cerrado (lato sensu) do Estado de São Paulo, bem como avaliar a natureza química do secretado. A caracterização histoquímica dos tricomas secretores pode auxiliar na interpretação da provável função exercida por estas glândulas em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae.

Material

O material de estudo foi coletado em áreas de cerrado do Estado de São Paulo: Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu, Fazenda Palmeira da Serra de Pratânia e fragmento situado no município de Botucatu. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *A. humile* St-Hil.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 13; Moji Guaçu, 09-IX-2003, *A. Lacchia* 8; 06-10-2004, *A. Lacchia*, 18, 19, 20, 21; *L. molleoides* (Vell.). Engl.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 16-VIII-2004, *A. Lacchia* 11,12; Pratânia, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 14, 15, 16, 17; *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7, 25-IX-2003, *A. Lacchia* 9; Pratânia, 03-IX-2002, *A. Lacchia* 1, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 13-X-2002, *A. Lacchia* 3, 12-XII-2002, *A. Lacchia* 5, 6, 18-III-2004, *A. Lacchia* 10. O material botânico foi identificado pelo professor Jorge Tamashiro, da Universidade Estadual de Campinas.

Métodos

Microscopia de luz

Ramos florais de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* e folhas de 2,0 até 27cm de comprimento de *A. humile* foram fixados em FAA por 24h (Johansen 1940) e FNT (formalina neutra tamponada (Lillie 1965) por 48h e estocados em etanol. Folhas de diversos comprimentos foram observadas em microscópio estereoscópico SMZ-U para a localização dos tricomas foliares. Para o estudo anatômico, botões florais, flores em pré-antese, antese e pós-antese e folhas com 7,7 cm foram isolados, desidratados em série butílica (Johansen 1940) ou etílica, incluídos em “Paraplast” ou em resina plástica (Historesin Leica), seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983). Secções em séries, transversais e longitudinais com 12 a 18 µm de espessura foram obtidas das amostras em micrótomo rotativo (Micron HM340E). Diferentes colorações foram testadas em material incluído em “Paraplast” devido à afinidade distinta das espécies pelos corantes. As secções de *A. humile* apresentaram os melhores resultados quando coradas com safranina alcoólica 1%, violeta cristal 1% e laranja G 1% em óleo de cravo (tripla coloração de Flemming; Johansen 1940) e as de *L. molleoides* e *T. guianensis*, quando coradas com safranina alcoólica 1% e com azul de astra 1% (Gerlach 1984). O material incluído em resina plástica foi corado com azul de toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,7 (Feder & O’ Brien 1968). Essas três técnicas de coloração foram utilizadas no presente trabalho e as lâminas montadas em resina sintética “Permout”.

Inflorescências com flores estaminadas e hermafroditas de *A. humile* nos estádios de botão, pré-antese, antese e pós-antese e flores pistiladas em pós-antese de *L. molleoides* e *T. guianensis* foram utilizadas na aplicação de testes histoquímicos. Apenas três testes histoquímicos foram aplicados nas flores de *L. molleoides* devido à pequena quantidade de flores obtidas dos indivíduos desta espécie. Pelo mesmo motivo, os compostos do exsudato dos tricomas estigmáticos não foram detectados. Folhas com 5,6 cm, 7,7 cm e 12 cm de comprimento de *A. humile* também foram utilizadas para a aplicação de testes histoquímicos.

Materiais fixados em FAA foram utilizados para os testes histoquímicos que evidenciam polissacarídeos totais (incluindo mucilagem e amido) e compostos fenólicos hidrossolúveis e materiais fixados em FNT para os testes que evidenciam lipídios totais (incluindo ácidos graxos livres e compostos fenólicos lipossolúveis. Os tratamentos realizados para evidenciar as principais classes químicas dos componentes da secreção dos tricomas glandulares foram: vermelho de rutênio para mucilagens ácidas (Gregory & Baas 1989), ácido tânico/cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato & Lillie 1973), reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent; pararosanilina, CI 42510) para polissacarídeos totais (Jensen 1962), preto de Sudão B (CI 26150) para lipídios totais (Pearse 1985), sulfato azul do Nilo (CI 51180) para lipídios ácidos e neutros (Cain 1947), acetato de cobre e ácido rubeânico para ácidos graxos (Ganter & Jollés 1969, 1970) e cloreto de férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940).

Para o controle dos testes que detectam substâncias lipofílicas, o material botânico foi colocado em solução de metanol/clorofórmio/água/HCl (66: 33: 4: 1 v/v; High 1984) por 48 horas. Após este período, o material foi fixado em FNT e posteriormente tratado pelos reagentes e corantes já mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

As fotografias foram realizadas em microscópio estereoscópico SMZ-U e as fotomicrografias, em microscópio Olympus BX51 utilizando-se filme Kodak Pro Image ASA 100. As escalas das figuras foram obtidas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Resultados

Distribuição e estrutura dos tricomas

Tricomas glandulares em folhas de *A. humile* (figuras 1-12)

Nas folhas jovens (2,1cm e 3,5cm de comprimento), os tricomas glandulares estão apenas na epiderme da face adaxial e são vistos nas axilas das nervuras secundárias com a primária do terço basal da lâmina foliolar. Estes tricomas estão no mesmo nível das demais células epidérmicas (figuras 1-2). Na folha de 7,3 cm de comprimento, os tricomas estão na epiderme da face adaxial, no terço basal da lâmina foliolar (figuras 3, 5) e na epiderme da face abaxial no terço mediano (figura 4). Estes são encontrados em criptas ou depressões existentes entre as nervuras secundárias e a primária. Na folha de 11,7 cm de comprimento, tricomas glandulares ainda são observados na epiderme da face adaxial na porção basal da lâmina foliolar. Estas estruturas também estão em depressões entre as nervuras secundárias e primárias e em depressões das axilas de todas as nervuras secundárias da epiderme da face abaxial (figuras 6-7).

Em folhas totalmente expandidas (27, 2 cm de comprimento), os tricomas glandulares estão apenas na epiderme da face abaxial e são encontrados nas depressões das axilas das nervuras secundárias com a primária (figura 8) e, muitas vezes, nas depressões das axilas secundárias com as terciárias (figura 9); estas depressões são observadas principalmente nos terços apical e mediano da lâmina foliolar. Os tricomas estão presentes quase que exclusivamente nas axilas das nervuras secundárias de maior calibre, eventualmente tricomas são encontrados nas axilas das nervuras secundárias de menor calibre. Neste comprimento de folha, praticamente todos os tricomas estão senescentes (figura 10), os que aparentemente ainda permanecem secretores são os tricomas das axilas das nervuras secundárias com as terciárias; em geral, na região apical da lâmina foliolar.

Todos os tricomas glandulares observados estão localizados em depressões da lâmina foliar (figura 11) e possuem porção secretora multicelular e multisseriada (figura 12).

Tricomas em inflorescências de *A. humile* (13-14)

Tricomas tectores são observados na face abaxial das brácteas e do pedicelo da flor masculina e hermafrodita. Tricomas glandulares com porção secretora multicelular e multisseriada estão presentes na face adaxial das bractéolas e das brácteas (figura 13) e no eixo das inflorescências

(figura 14); estas estruturas secretoras só podem ser encontradas enquanto as flores estão na fase de botão e à medida que estas se desenvolvem, os tricomas não são mais visíveis.

Tricomas em flores de *L. molleoides* (figuras 15-16)

Tricomas tectores e glandulares são observados no pedicelo (figura 15) e na inserção da bractéola a este em todas as fases de desenvolvimento da flor pistilada e estaminada. Tricomas glandulares multicelulares e unisseriados (figura 16), são encontrados no estigma das flores pitiladas. Os tricomas glandulares da flor estaminada e pistilada são morfologicamente semelhantes e estão em fase secretora durante todos os estádios florais estudados.

Tricomas em flores de *T. guianensis* (figuras 17-18)

Tricomas tectores e glandulares são encontrados na epiderme externa ovariana da flor feminina e no pistilóide da flor masculina em todos os estádios florais. As flores estaminadas possuem uma maior quantidade de tricomas tectores em relação às flores pistiladas. Os tricomas da epiderme externa ovariana e do pistilódio possuem porção glandular multicelular e multisseriada (figura 17) e os do estigma possuem porção glandular multicelular e unisseriada (figura 18). Estes permanecem em fase secretora durante todo o desenvolvimento floral e são morfologicamente semelhantes em flores pistiladas e estaminadas.

Os tricomas glandulares descritos nas três espécies estudadas não apresentam cutícula distendida.

Histoquímica (figuras 19-44)

O secretado do tricoma foliar possui cor bege no material fixado em FAA (figura 19) e cor âmbar no material fixado em FNT (figura 22). A secreção do tricoma bracteolar tem cor amarela quando no material fixado em FAA (figura 25) e marrom quando fixado em FNT (figura 27). A secreção do tricoma peduncular tem cor marrom independente do fixador utilizado (figura 31).

Polissacarídeos e compostos lipofílicos foram detectados na secreção do tricoma da folha, da bráctea e do pedúnculo floral de *A. humile* (Tabela 1). Os compostos fenólicos que compõem a

secreção do tricoma foliar são lipossolúveis e os compostos fenólicos que compõem a secreção do tricoma bracteolar e peduncular são hidrossolúveis e lipossolúveis. O ácido tânico/cloreto férrico pôde detectar mucilagem apenas na secreção de alguns tricomas foliares de *A. humile*.

Mucilagens ácidas, e compostos lipofílicos foram detectados na secreção do tricoma peduncular da flor feminina e masculina em pós-antese de *L. molleoides* (Tabela 2).

Polissacarídeos, ácidos graxos e compostos fenólicos foram detectados na secreção dos tricomas ovarianos da flor feminina em pós-antese de *T. guianensis* (Tabela 2).

Ácidos graxos e compostos fenólicos foram detectados nos tricomas estigmáticos da flor pistilada e estaminada em pós-antese de *T. guianensis* (Tabela 2). A secreção dos tricomas estigmáticos possui coloração amarela em material fixado em FAA e em FNT (figura 41).

Discussão

Os tricomas foliares glandulares de *A. humile* são multicelulares e estão presentes em depressões da lâmina foliar junto às axilas das nervuras das faces adaxial e abaxial ou em apenas uma das faces foliares dependendo do tamanho da folha. A localização destes tricomas nas porções apical, mediana e basal da folha, também depende do estágio de desenvolvimento foliar. Esta mesma observação, em relação ao posicionamento dos tricomas secretores foliares de *A. humile*, foi realizada para a localização das papilas glandulares em folhas de *Anacardium occidentale* por Rickson & Rickson (1998).

Em *Anacardium corymbosum* Barb.Rodr. e *Anacardium nanum* St.Hil, os autores Mitchell & Mori (1987) encontraram tricomas glandulares em depressões foliares que denominaram de criptas laminares. Mitchell (1992) observou a presença de tricomas secretores em depressões foliares de *Anacardium parvifolium* Duke e *Anacardium amapaense* J.D.Mitchell e denominou estas depressões de domáceas, mesmo sem observar a presença de habitantes nestas. Em *A. occidentale*,

Rickson & Rickson (1998) observaram que papilas glandulares recobrem a superfície interna de depressões foliares.

Os tricomas secretores das folhas das espécies *A. corymbosum*, *A. nanum*, *A. parvifolium* e *A. amapaense* também foram descritos como estruturas multicelulares (Mitchell & Mori 1987; Mitchell 1992).

A secreção dos tricomas foliares de *A. humile* reage positivamente para compostos fenólicos lipossolúveis e polissacarídeos. Há duas hipóteses para os resultados histoquímicos da secreção dos tricomas foliares de *A. humile*; pode-se pensar que estes tricomas produzem secreção de composição heterogênea composta por substâncias hidrofílicas e lipofílicas ou que estes tricomas produzem néctar com uma grande quantidade de lipídios e compostos fenólicos. Dentre outras compostos como aminoácidos, lipídios e íons minerais podem estar presentes, além do açúcar na composição do néctar (Lütge & Schnepf 1976, Baker 1977). Extensivos estudos em muitas espécies têm demonstrado que alcalóides e fenólicos são comuns no néctar (Baker 1977, 1978).

Rickson & Rickson (1998) atribuíram caráter nectarífero à secreção produzida pelas papilas glandulares encontradas nas depressões foliares de *A. occidentale*, mesmo sem terem realizado testes histoquímicos ou químicos que caracterizassem a natureza da secreção. Wunnachit *et al.* (1992) também classificaram de néctar o exsudato observado na epiderme da face adaxial foliar de *A. occidentale*, embora estes autores também não tenham realizado nenhum estudo para caracterizar as substâncias presentes nesta secreção. Os autores supracitados denominaram de nectários extraflorais (NEFs) as estruturas secretoras foliares de *A. occidentale*. Wunnachit *et al.* (1992) descreveram que os nectários foliares de *A. occidentale* secretam durante todo o ano e Rickson & Rickson, (1998) observaram que estas estruturas secretam até que a folha atinja a maturidade. Em *A. humile*, também se observa tricomas secretores em estado ativo de secreção até a folha atingir seu tamanho máximo.

Nectários extraflorais são órgãos secretores de néctar que nem sempre estão diretamente envolvidos com as funções de polinização (Elias 1983). Estas glândulas são distribuídas amplamente

pelas angiospermas e possuem uma grande diversidade morfológica e anatômica (Elias 1983). Estas estruturas secretoras podem ter um importante papel na proteção da planta, através da atração de insetos que a protegem dos fitófagos (Bentley 1977). Em *A. occidentale*, Wunnachit *et al.* (1992) e Rickson & Rickson (1998) acreditam que as secreções dos (NEFs) podem atrair formigas para a proteção das folhas e frutos contra predadores. Provavelmente, a observação de formigas forrageando as folhas e frutos de *A. occidentale* levou estes autores a conclusão de que as estruturas secretoras presentes nestes órgãos são NEFs.

Em *A. humile*, muitas formigas também foram observadas forrageando as folhas, mas o fato das formigas serem atraídas pela secreção dos tricomas foliares não exclui a possibilidade de que esta seja uma mistura de substâncias lipídicas e polissacarídicas. Neste caso, pode-se inferir que as formigas que estavam forrageando as folhas de *A. humile* estariam na verdade sendo atraídas por uma mistura de lipídios e polissacarídeos e não pelo néctar.

Várias plantas tropicais possuem estruturas especializadas análogas a NEFs “food bodies” que atraem formigas para a sua defesa, como por exemplo, em *Macaranga* e *Ochroma*, cujas estruturas secretoras produzem lipídios, e *Acacia* e *Piper*, que produzem proteínas e lipídios (Buckley 1982).

Nas inflorescências de *A. humile*, tricomas glandulares foram encontrados no eixo e na bráctea. Estes tricomas são multicelulares, multisseriados, produzem secreção heterogênea composta de polissacarídeos, ácidos graxos e compostos fenólicos e estão presentes na inflorescência apenas enquanto as flores estão na fase de botão. Pelo fato de produzirem secreção heterogênea composta, dentre outras substâncias, por polissacarídeos e por estarem presentes no estágio de botão das flores, pode-se identificar estes tricomas como coléteres.

Coléteres multicelulares e multisseriados já foram descritos para ápices caulinares e folhas jovens de *A. humile*, *L. molleoides*, *Spondias dulcis* e *T. guianensis* (capítulo 3); porém, a presença de coléteres em inflorescência está sendo pela primeira vez descrita para Anacardiaceae.

Coléteres são tricomas que secretam uma substância viscosa e consistem de uma cabeça multicelular e de um pedúnculo que pode ou não estar presente (Fahn 1979). Thomas (1991) referiu-se aos coléteres como estruturas que produzem uma secreção viscosa que lubrifica e protege os meristemas em início de desenvolvimento do dessecamento. A secreção dos coléteres pode ser constituída apenas por mucilagem (Fahn 1979; Thomas 1991) ou por uma mistura de mucilagem e compostos lipofílicos (Fahn 1979, 1990). A função protetora dos coléteres para os meristemas tem sido bem estabelecida em Apocynaceae (Thomas & Dave 1989 a, b).

Pelo estudo histoquímico, detectou-se a presença de compostos fenólicos na secreção dos coléteres da inflorescência de *A. humile*. Estes compostos são conhecidos, dentre outras propriedades, por inibirem o crescimento de fungos e esta função pode ser detectada nos coléteres calicinais de *Blepharodon bicuspidatum* Fourn. (Demarco 2005). Assim, pode-se pensar que os coléteres em Anacardiaceae protegem os meristemas florais contra a dessecação e contra a proliferação de fungos, permitindo uma maior viabilidade do desenvolvimento floral para a espécie.

Tricomas glandulares também estão presentes no pedúnculo e nas bractéolas das flores pistiladas e estaminadas de *L. molleoides*, na epiderme externa ovariana da flor pistilada e no pistilódio da flor estaminada de *T. guianensis*. Estes tricomas são observados em todos os estádios de desenvolvimento floral destas espécies. Tricomas secretores também foram encontrados na epiderme externa ovariana das flores femininas de *Schinus terebinthifolius* (Carmello-Guerreiro & Paoli 2002) e em pétalas de *Ozoroa namaquensis* (Von Teichman & Van Wyk, 1994) e *A. humile* (capítulo 5).

A secreção dos tricomas das flores pistiladas de *L. molleoides* e *T. guianensis* é composta por mucilagem, ácidos graxos e compostos fenólicos. A presença de compostos fenólicos na secreção dos tricomas das duas espécies pode indicar que estas estruturas estejam envolvidas na defesa química das flores.

Tricomas tectores também são encontrados em grande número, no ovário da flor pistilada e no pistilódio da flor estaminada de *T. guianensis*. Estes tricomas formam uma grossa camada mecânica e possivelmente, contribuem com os tricomas glandulares na proteção das flores contra herbivoria ou dessecação (Corsi & Bottega 1999; Mello & Silva-Filho 2002; Kolb & Müller 2004, Machado *et al.* 2006).

Tricomas glandulares multicelulares e unisseriados estão localizados no estigma floral de *L. molleoides* e *T. guianensis*. Estes tricomas estão em fase secretora desde a flor em botão até a flor em pós-antese. Na flor pistilada em pós-antese de *T. guianensis*, a secreção dos tricomas estigmáticos contém ácidos graxos e compostos fenólicos. Como o estudo histoquímico da secreção dos tricomas estigmáticos não foi realizado em todas as fases de desenvolvimento floral pode-se sugerir, que em outros estádios da flor, o estigma produz outros tipos de substâncias como polissacarídeos e proteínas ou que produz apenas lipídios e compostos fenólicos, já detectados na flor em pós-antese. Recentemente, compostos lipídicos de secreções estigmáticas são considerados essenciais para a penetração e direcionamento do crescimento do tubo polínico no estigma (Lush *et al.* 1998; Wolters-Arts *et al.* 1998).

Referências bibliográficas

- BAKER, H.G. 1977. Non-sugar chemical constituents of nectar. *Apidologie* 8:349-356.
- BAKER, H.G. 1978. Chemical aspects of the pollination biology of woody plants in the tropics. – In: Tomlinson, P. B. and Zimmerman, M. H. (eds), *Tropical trees as living systems*. Cambridge Univ. Press, pp. 57–82.
- BENTLEY, B.L. 1977. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* L. (Bixaceae). *Journal of Ecology* 65:27-38.

- BUCKLEY, R.C. 1982. Ant-plant interactions in Australia. Dr W. Junk Publishers, The Hague-Boston-London.
- CAIN, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 88:383-392.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2002. Ontogeny and Structures of the Pericarp of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 45:73-79.
- CORSI, G. & BOTTEGA, S. 1999. Glandular hairs of *Salvia officinalis*: new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. *Annals of Botany* 84:657-664.
- DEMARCO, D. 2005. Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceae *s.l.*). Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- ELIAS, T.S. 1983. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. In *The biology of nectarines*. Columbia University Press, New York.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press Inc., London.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969, 1970. Histologie normale et pathologique. v. 1 e 2, Gauthier – Villars, Paris.
- GERLACH, D. 1984. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. 3rd ed., Georg Thieme, Stuttgart.
- GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- GIBSON, A.C. 1981. Vegetative anatomy of *Pachycormus* (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 83:273-284.

- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38:125-174.
- HIGH, O.B. 1984. *Lipid histochemistry*. Oxford University Press, New York.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book, New York.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.S. 2002. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland.
- KOLB, D. & MÜLLER, M. 2004. Light, conventional and environmental scanning electron microscopy of the trichomes of *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca* and histochemistry of glandular secretory products. *Annals of Botany* 94:515-526.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LUSH, W.M.F., GRIESER, M. & WOLTERS-ARTS. 1998. Directional guidance of *Nicotiana glauca* pollen tubes in vitro and on the stigma. *Plant Physiol.* 118:733-741.
- LÜTTGE, U. & SCHNEPF, E. 1976. Organic substances. – In: Lüttge, U. and Pitman, M. G. (eds), *Transport in plants II. B: tissues and organs*. Springer-Verlag, p. 244–277.
- MACHADO, S.R., GERGORIO, E.A. & GUIMARÃES, E. 2006. Ovary Peltate Trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): Developmental Ultrastructure and Secretion in Relation to Function. *Annals of Botany* 97:357-369.
- MELLO, M.O. & SILVA-FILHO, M.C. 2002. Plant–insect interactions: an evolutionary arms race between to distinct defense mechanisms. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 14:71–81.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. v. 1, Clarendon Press, Oxford.

- MITCHELL, J.D. 1992. Additions to *Anacardium* (Anacardiaceae) *Anacardium amapaense*, a new species from French Guiana and eastern Amazonian Brazil. *Brittonia* 44:331-338.
- MITCHELL, J.D. & MORI, S.A. 1987. The cashew and its relatives (*Anacardium*: Anacardiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 42:1-76.
- MORRETES, B.L. 1967. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do Cerrado II. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 305, (Bot. 22):207-44.
- NARANJO, H.L. & PERNÍA, N.E. 1990. Anatomia y Ecología de los órganos subterráneos de *Anacardium humile* ST. HILL. (Anacardiaceae). *Ver. For. Venez. XXIV*(34):55-76.
- PEARSE, A.G.E. 1985. *Histochemistry theoretical and applies*. v. 2, C. Livingstone, Edinburg.
- PAULA, J.E. & ALVES, J.L.H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Bth, Ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). *Acta Amazônica* 3:39-53.
- PAVIANI, T.I. 1965. Contribuição ao conhecimento do gênero *Schinus* L. Anatomia de quatro espécies e uma variedade. *Revt. Fac. Farm. Bioquim. S. Maria* 11: 91-110.
- PELL, S.K. 2004. *Molecular Systematics of the cashew family (Anacardiaceae)*. Dissertation, St. Andrews Presbyterian College.
- PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. 1973. Mayer's tannic acid- ferric chloride stain for mucins. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 21:56-64.
- RICKSON, F.R. & RICKSON, M.M. 1998. The cashew nut, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), and its perennial association with ants: extrafloral nectary location and the potential for ant defense. *American Journal of Botany* 85:835-849.
- SANT'ANNA, W. 1975. Anatomia foliar da *Spondias tuberosa* Arruda. *Acta biol. Paraná* 4:35-43.
- TEWFIC, H.A. & HABIB, A. 1977. Studies on gland development and distribution in Anacardiaceae: *Mangifera indica*. *Egypt. J. Hort* 4 :3-8.

- THOMAS, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany* 68:287-305.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1989a. Histochemistry and senescence of collectors of *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae). *Annals of Botany* 64:201-203.
- THOMAS, V. & DAVE, Y. 1989b. The collectors of *Alstonia scholaris* L. (Apocynaceae). *Indian Botanical Contactor* 6:25-29.
- TOMER, E., COHEN, M. & GOTTFREICH, M. 1996. Light and scanning electron microscope (SEM) observations of trichomes in persimmon (*Diospyros kaki* L.) and mango (*Mangifera indica* L.) leaves. *Israel Journal of Plant Sciences*. 44:57-67.
- TORRES, M. & JAUREGUI, D. 1999. Caracterización anatómica foliar de cuatro especies de árboles frutales: *Anacardium occidentale* L. (meyer); *Mangifera indica* L. (mango); *Spondias purpurea* L. (ciruela de huesito) y *Psidium guajava* L. (guayaba). *Ernstia* 9: 155-173.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1994. The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae) - evidence from fruit structure. *Annals of Botany* 73:175-184.
- WOLTERS-ARTS M, LUSH, W.M. & MARIANI, C. 1998. Lipids are required for directional pollen-tube growth. *Nature* 392:818-821.
- WUNNACHIT, W., JENNER, C.F. & SEDGLEY, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae): An andromonoecious species. *International Journal of Plant Science* 153:413-420.

Tabela 1. Resultado da aplicação de testes histoquímicos em folhas e inflorescências de *Anacardium humile* St.Hil.

Tratamento	Substância a ser detectada	Coloração	Tricomas (folha) (Fig.)	Tricomas (bráctea) (Fig.)	Tricomas (pedúnculo) (Fig.)
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho	+ (20)	-	-
ácido tânico e cloreto férrico	mucilagem	preto	+	-	-
PAS	polissacarídeos gerais	rosa a vermelho	+ (21)	+ (26)	+ (32)
preto de Sudão B	lipídios totais	preto/marrom	+	+ (28)	+ (33)
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	+(23)	+	+
acetato de cobre e ácido rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	-	+ (29)	+ (34)
cloreto férrico	compostos fenólicos	preto/marrom	+ (24)	+ (30)	+

()=figura, +=positivo, -=negativo.

Tabela 2. Resultado da aplicação de testes histoquímicos em flores femininas e masculinas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamento	Substância a ser detectada	Coloração	Tricomas em Lm (Fig.)	Tricomas em Tg (exo) (Fig.)	Tricomas em Tg (estigma) (Fig.)
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa /vermelho	++ (35)	++ (38)	+(F)
ácido tânico e cloreto férrico	mucilagem	preto	TNR	++	+(F)
PAS	polissacarídeos gerais	rosa/vermelho	TNR	++	-
preto de Sudão B	lipídios totais	preto/marrom	++ (36)	++ (39)	++
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	TNR	++	++ (42)
acetato de cobre e ácido rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	TNR	++	++ (43)
cloreto férrico	compostos fenólicos	marrom	+ (37)	TNR	TNR
SFF	compostos fenólicos	preto	TNR	++ (40)	+ (44)

()=figura, exo=epiderme externa ovariana, SFF=sulfato ferroso em formalina, + =fraco positivo, ++=positivo, -=negativo, TNR=teste não realizado, +(F)=falso positivo

Figuras 1-6. Folha de *Anacardium humile*. 1 e 2. Folha de 3,5cm de comprimento. 3-5. Folha de 7,3 cm de comprimento. 6. Folha de 11,7 cm de comprimento. 1-3 e 5. Vista da epiderme da face adaxial. 4 e 6. Vista da epiderme da face abaxial. 1. Criptas no terço basal da folha. 2. Detalhe da figura 1 (tricomas glandulares). 3. Criptas no terço basal da folha. 4. Criptas no terço médio da folha. 5. Detalhe da figura 3 (tricomas glandulares). 6. Detalhe de uma cripta laminar da região mediana da folha. Barras= 1mm (1), 125µm (2, 5), 1,5mm (3-4), 150µm (6).

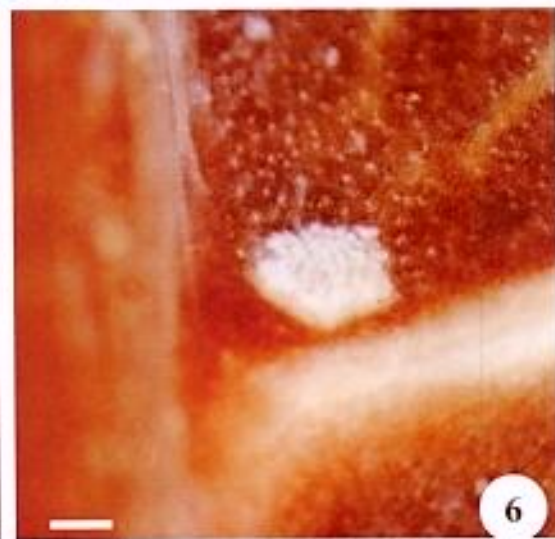
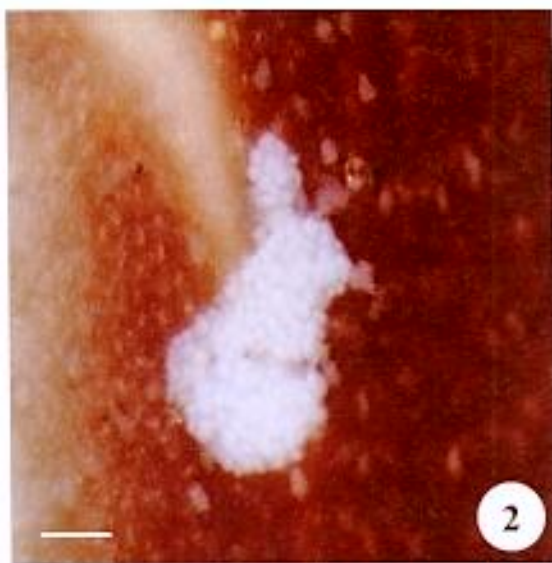
Figuras 7-12. Vista da epiderme da face abaxial da folha de *Anacardium humile*. 7. Folha de 11,7 cm de comprimento. 8-10. Folha de 27,2cm de comprimento. 11 e 12. Folha de 7,7cm de comprimento fixada em FAA. 7. Detalhe da cripta da região apical da folha. 8. Detalhe da cripta na axila da nervura secundária com a primária na região apical da folha. 9. Detalhe da cripta na axila da nervura terciária com a secundária na região mediana da folha. 10. Detalhe da cripta na axila da nervura secundária com a primária na região basal da folha mostrando tricomas senescentes. 11. Depressão do terço foliar basal com inúmeros tricomas. 12. Detalhe dos tricomas multicelulares. Barras= 125µm (7-8), 300 µm (9-10), 150µm (11), 75µm (12).

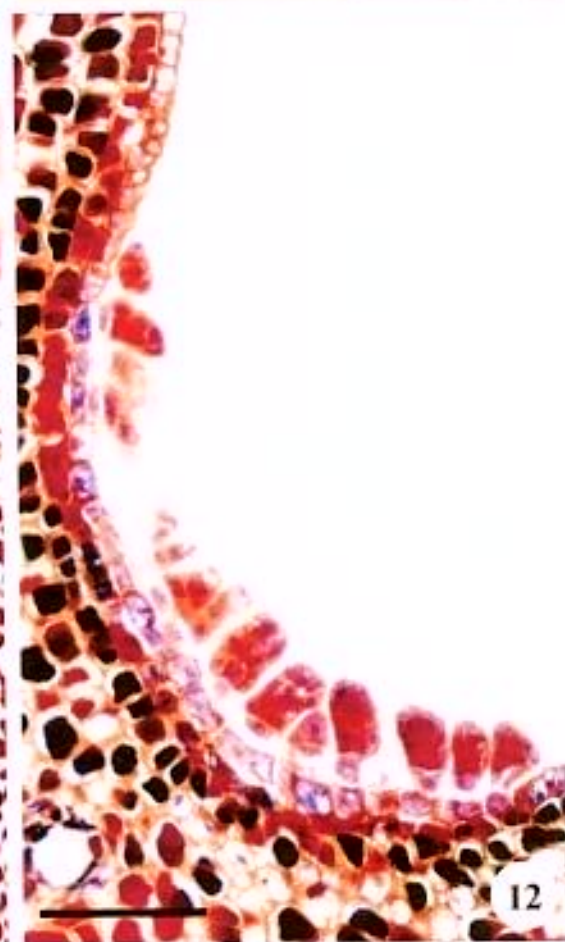
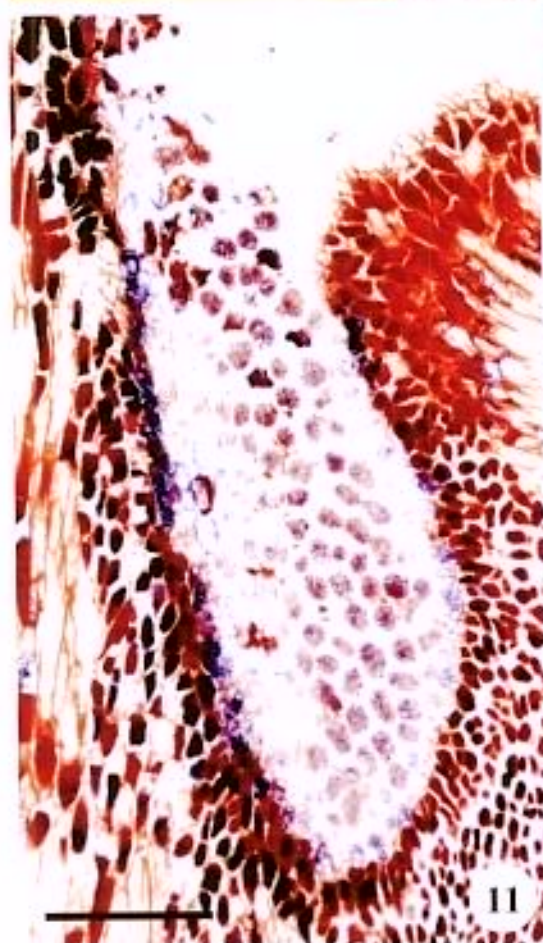
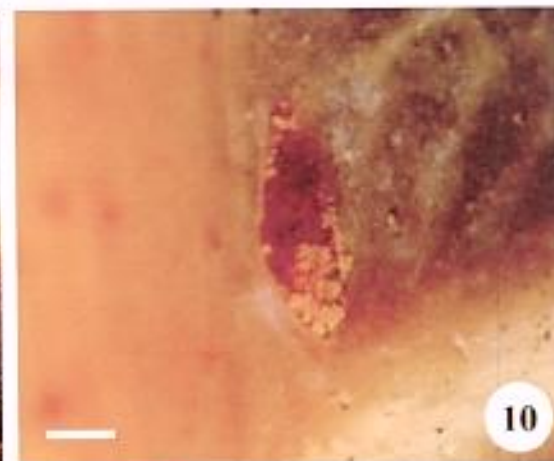
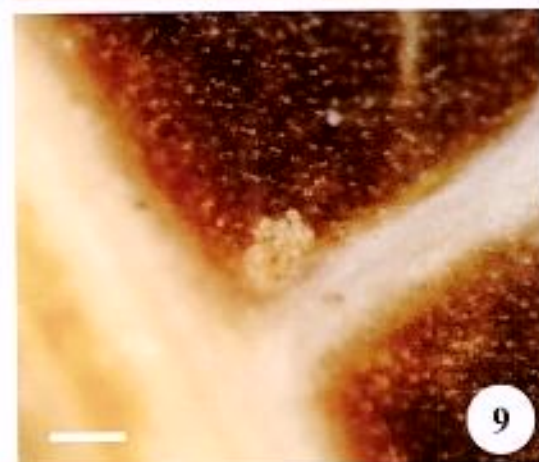
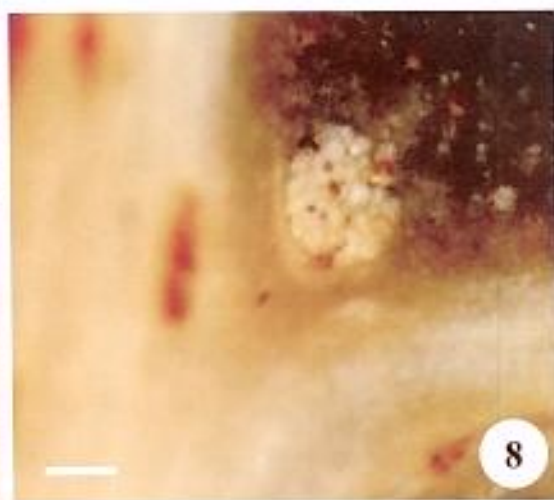
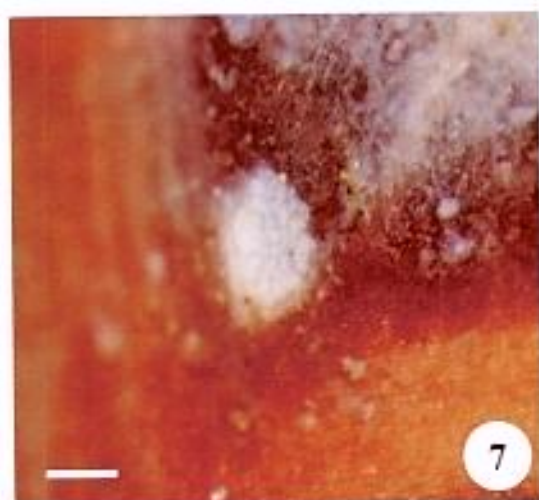
Figuras 13-18. Tricomas glandulares em flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* e *Tapirira guianensis* e em inflorescências de *Anacardium humile*. 13. Tricoma glandular da bráctea de *A. humile*. 14. Tricoma glandular escapo de *A. humile*. 15. Tricoma glandular do pedicelo da flor estaminada de *L. molleoides*. 16. Tricomas estigmáticos da flor pistilada de *L. molleoides*. 17. Tricoma glandular e tectores da epiderme externa ovariana da flor pistilada de *T. guianensis*. 18. Tricomas estigmáticos da flor estaminada de *T. guianensis*. Barras= 75µm (1), 30 µm (2), 150µm (26), 75µm (27).

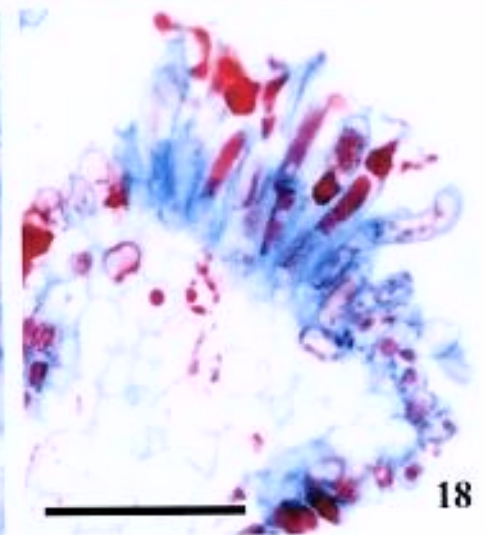
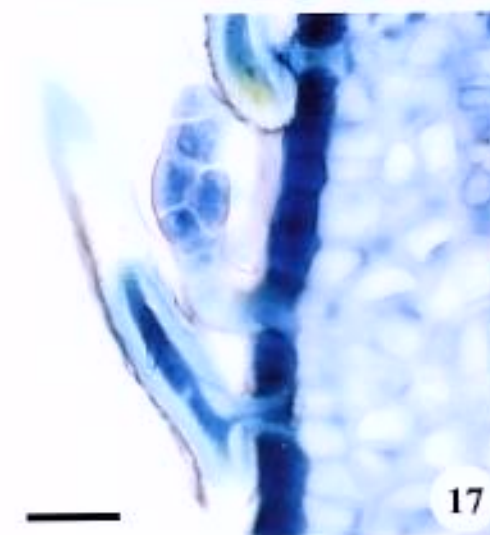
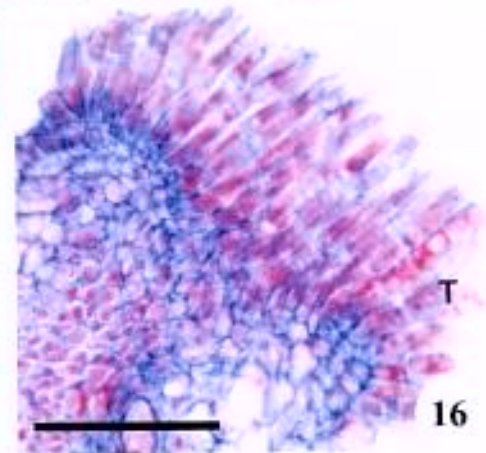
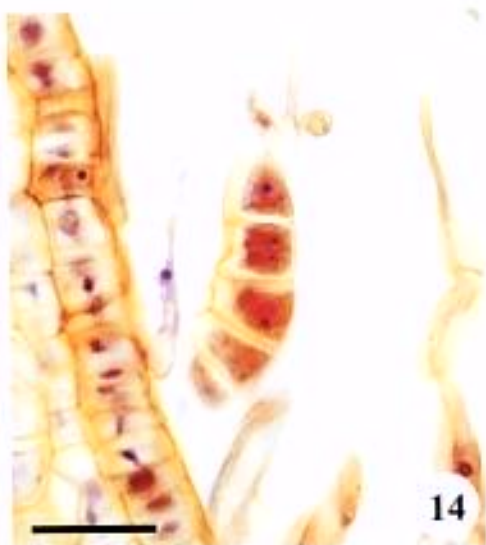
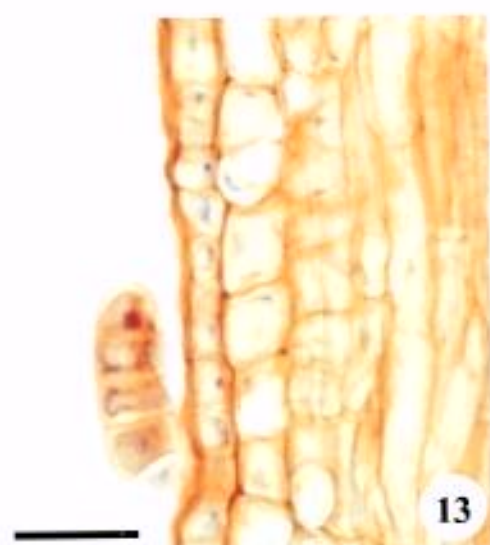
Figuras 19-24. Testes histoquímicos em tricomas glandulares foliares de *Anacardium humile*. Secção longitudinal. 19. Folha de 5,6 cm de comprimento. 20 e 24. Folhas de 7,7 cm de comprimento. 21 - 23. Folhas de 12 cm de comprimento. 19 - 21. Material fixado em FAA. 22 - 24. Material fixado em FNT. 19 e 22. Material sem tratamento histoquímico. 20. Teste com vermelho de rutênio. 21. Reação PAS. 23. Teste com sulfato azul do Nilo. 24. Teste com cloreto férrico. Barras= 30 μ m (19-21,23), 50 μ m (22, 24).

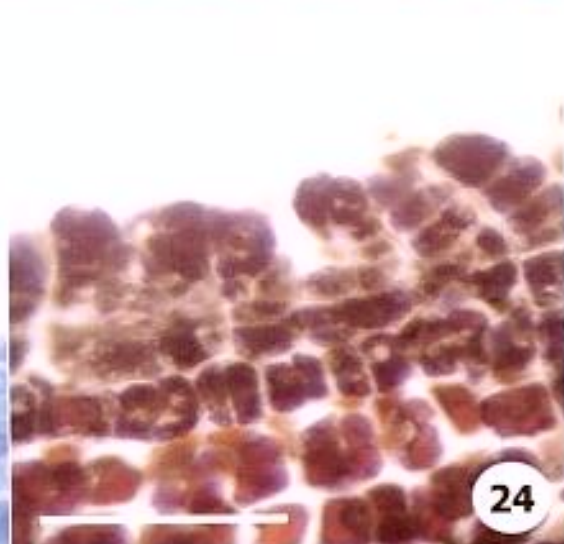
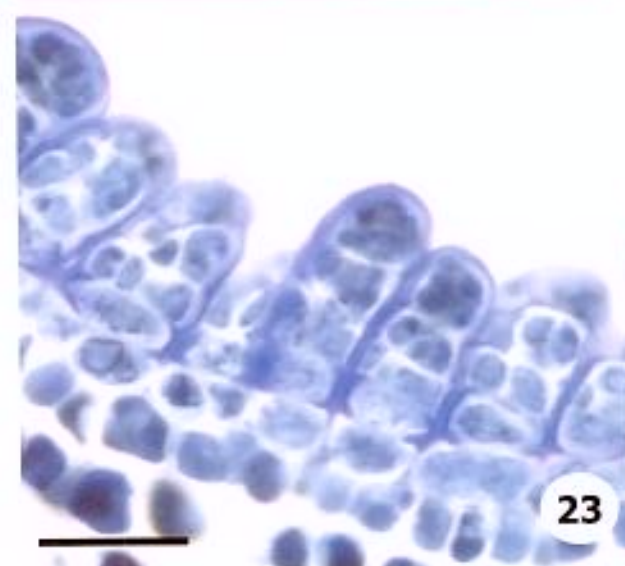
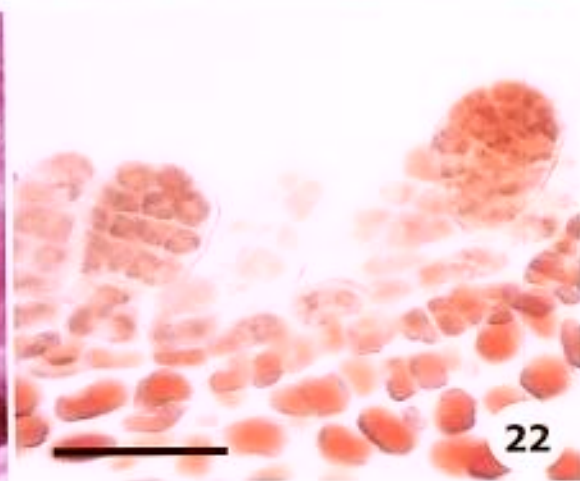
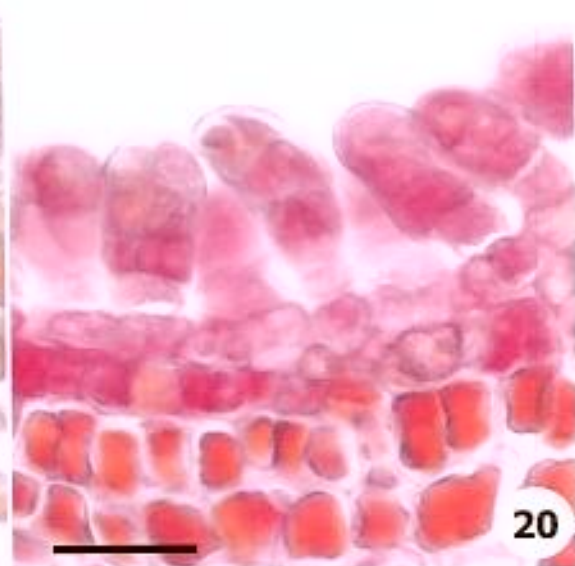
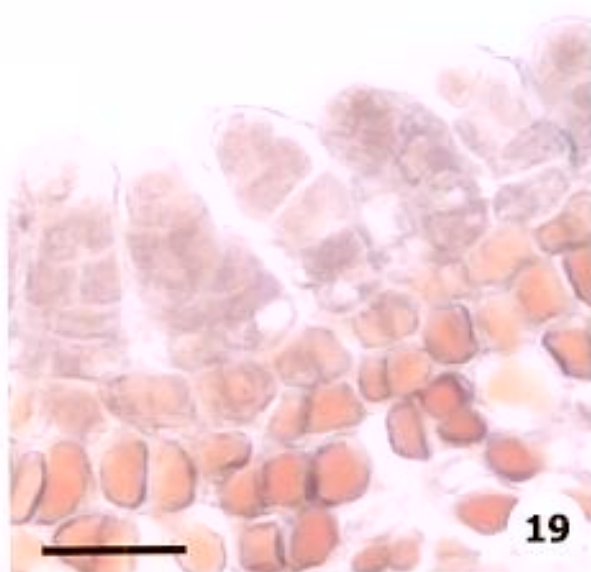
Figuras 25-34. Testes histoquímicos em tricomas glandulares de *Anacardium humile*. Secção longitudinal. 25 – 30. Tricomas da bráctea da inflorescência. 31 - 34. Tricomas pedicelares. 25, 26, 31 e 32. Material fixado em FAA. 27 - 30, 33 e 34. Material fixado em FNT. 25, 27 e 31. Material sem tratamento histoquímico. 26 e 32. Reação PAS. 28 e 33. Teste com preto de Sudão B. 29 e 34. Teste com acetato de cobre e ácido rubêânico. 30. Teste com cloreto férrico. Barras= 30 μ m (25, 27, 29, 30, 32, 34), 50 μ m (26, 28, 33).

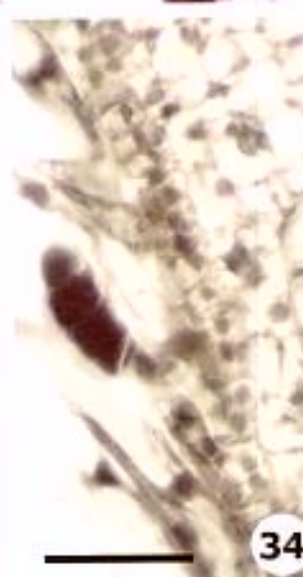
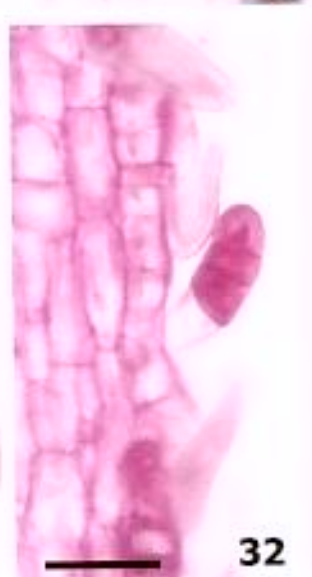
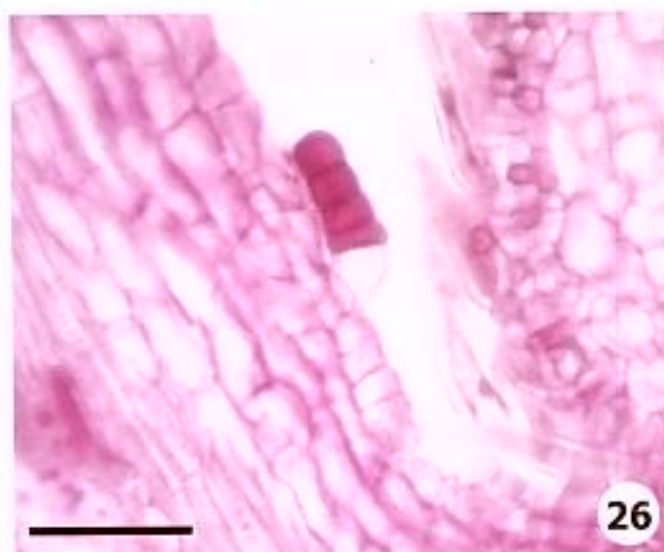
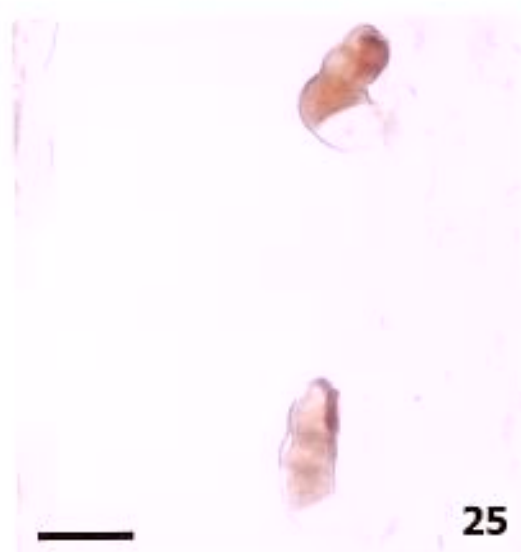
Figuras 35-44. Testes histoquímicos em tricomas glandulares florais de *Lithraea molleoides* e *Tapirira guianensis*. Secção longitudinal. 35 – 37. Tricomas pedicelares de *L.molleoides*. 38 - 40. Tricomas ovarianos de *T.guianensis*. 41 – 44. Tricomas estigmáticos em *T. guianensis*. 35, 37e 38 . Material fixado em FAA. 36, 39, 41 - 44. Material fixado em FNT. 40. Material fixado em SFF. 41. Material sem tratamento histoquímico. 35 e 38. Testes com vermelho de rutênio. 36 e 39. Teste com preto de Sudão B. 37, 40 e 44. Teste com cloreto férrico e SFF. 42. Teste com sulfato azul do Nilo. 43. Teste com acetato de cobre e ácido rubêânico. Barras= 30 μ m (25, 27, 29, 30, 32, 34), 50 μ m (26, 28, 33).

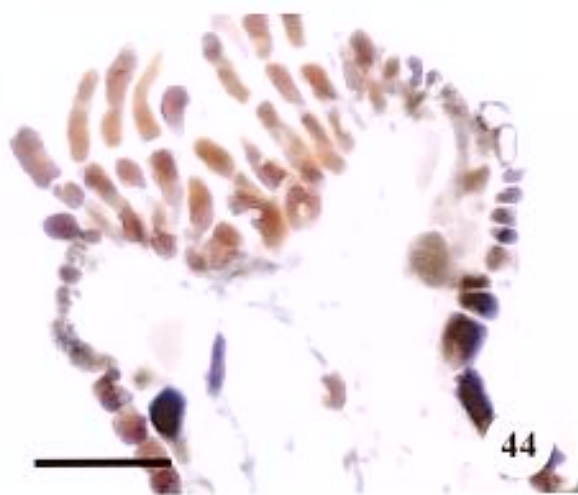
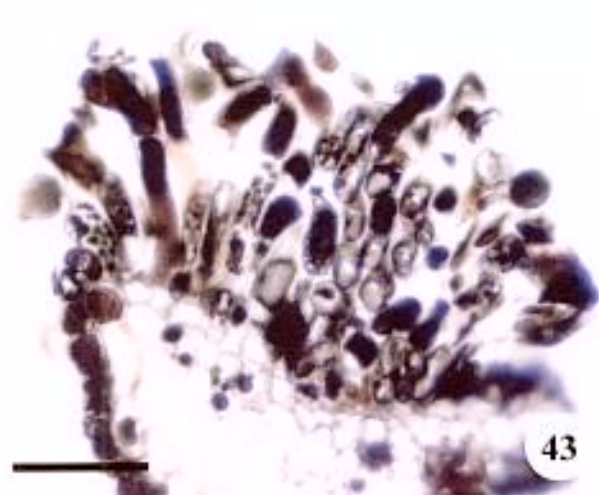
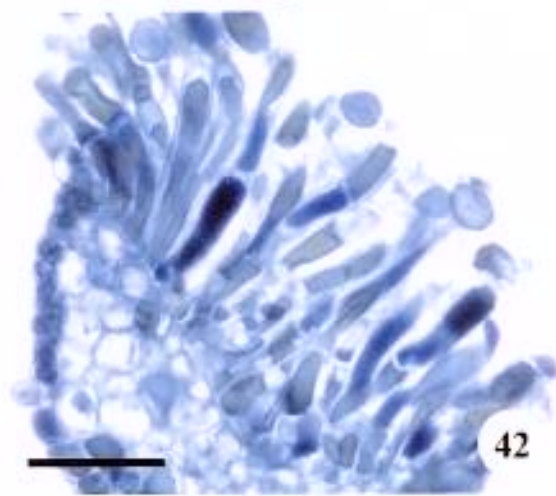
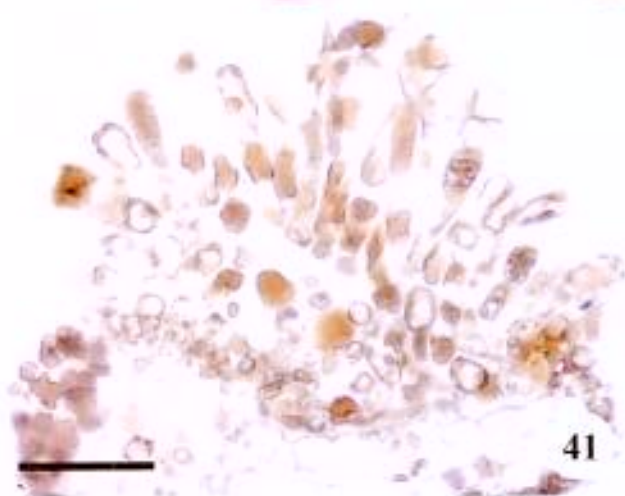
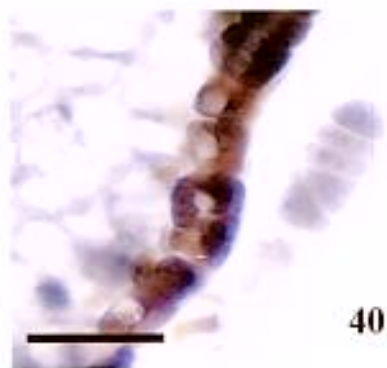
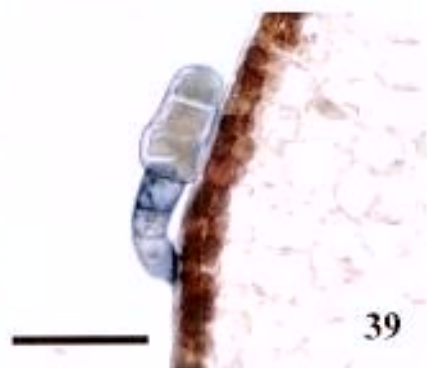
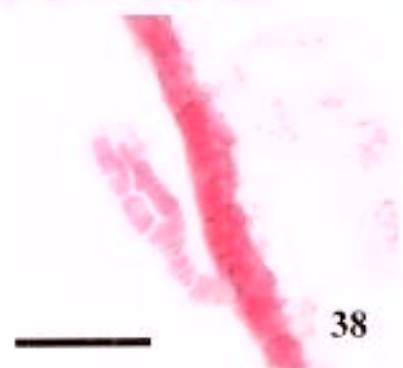
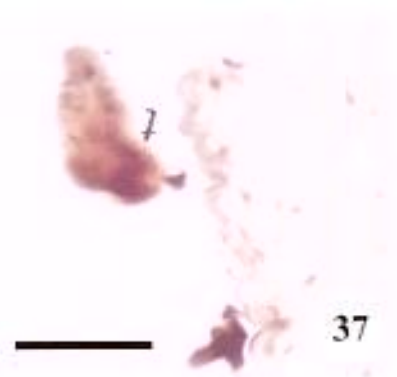
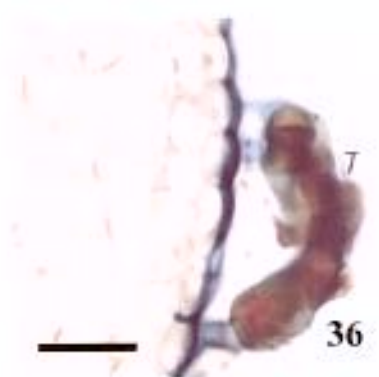
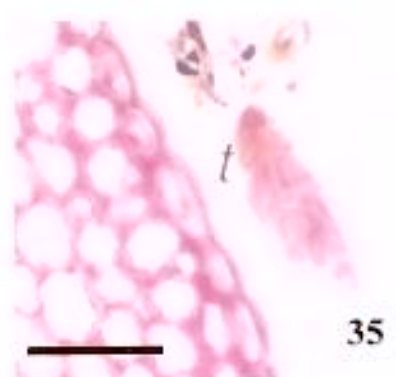












Morfologia e histoquímica dos tricomas glandulares corolinos e do disco glandular de flores de espécies de Anacardiaceae do cerrado

ANA LACCHIA^{1,2,4}, SANDRA MARIA CARMELLO GUERREIRO², MARÍLIA DE MORAES CASTRO², LIA ASCENSÃO³

Título resumido: Tricomas glandulares corolinos e disco glandular das flores de Anacardiaceae

-
1. Parte da tese de doutorado de Ana Paula Stechhahn Lacchia, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
 2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.
 3. Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal.
 5. Autor para correspondência: smcg@unicamp.br
 - 6.

RESUMO – (Morfologia e histoquímica dos tricomas glandulares corolinos e do disco glandular de flores de espécies de Anacardiaceae do cerrado) Em muitas espécies de Anacardiaceae, as flores possuem discos glandulares que são caracterizados como nectaríferos; porém, não há estudos que comprovem a secreção de néctar por estas estruturas. Em *Anacardium occidentale* L., estudos cromatográficos comprovaram a secreção de néctar por tricomas glandulares corolinos. Neste trabalho foram estudadas a estrutura e histoquímica dos tricomas glandulares corolinos das flores estaminadas e hermafroditas de *Anacardium humile* St.Hil. e do disco das flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. Estas três espécies são importantes representantes do cerrado brasileiro e pouco se sabe sobre suas estruturas secretoras florais. Botões florais em vários estádios de desenvolvimento e flores foram fixadas e processadas para microscopia de luz e eletrônica de varredura, com o propósito de caracterizar a estrutura do disco e dos tricomas glandulares. Testes histoquímicos foram realizados para identificar as principais classes de substâncias dos exsudatos. Em *L. molleoides*, o disco é nectarífero, a sua vascularização é constituída por elementos floemáticos e o néctar liberado por estômatos. O disco floral de *T. guianensis* não possui tecido nectarífero característico e apenas as células epidérmicas e subepidérmicas reagem positivamente para substâncias lipofílicas (ácidos graxos e compostos fenólicos). A epiderme deste disco também possui estômatos e há amido nas células parenquimáticas. Nas flores de *A. humile*, os tricomas corolinos apresentam secreção heterogênea composta por polissacarídeos, ácidos graxos e compostos fenólicos. A produção de substâncias lipofílicas pelos tricomas de *A. humile* sugere que estas estruturas estejam envolvidas na proteção da flor.

Palavras-chave – tricomas glandulares corolinos, disco glandular, estrutura, histoquímica, Anacardiaceae.

Introdução

A família Anacardiaceae, representada por 70 gêneros e aproximadamente 600 espécies, é principalmente pantropical, com poucas espécies de regiões temperadas (Judd *et al.* 1999).

A maior parte dos estudos das estruturas secretoras desta família é realizada em órgãos vegetativos, havendo poucos trabalhos que investiguem estas estruturas nos órgãos reprodutivos. Quando estudos estruturais visando a caracterização das estruturas secretoras são realizados em órgãos reprodutivos, a maioria deles refere-se somente aos canais (Venning 1948, Joel & Fahn 1980, Machado & Carmello-Guerreiro 2001), que é a estrutura secretora característica da família.

As flores em Anacardiaceae variam do hermafroditismo ao unissexualismo dentro de cada uma das cinco tribos e muitas delas são consideradas unissexuais por redução (Hormaza & Polito 1996). A maioria das flores de Anacardiaceae é caracterizada pela presença de um disco glandular intraestaminal, óvulos anátropos pêndulos e cuja placentação pode ser apical, lateral ou basal (Pell 2004). Segundo Mabberley (1997) e Judd *et al.* (1999), o disco intraestaminal presente é nectarífero. Por meio de microscopia eletrônica de varredura, Wannan & Quinn (1991) constataram a presença deste disco na base do ovário de muitas flores desta família. Porém, apesar de muitas espécies de Anacardiaceae apresentarem este disco intraestaminal, não há estudos estruturais, histoquímicos ou químicos que garantam que estes discos sejam nectaríferos. Descrições micromorfológicas também são escassas e foram realizadas em discos de apenas quatro espécies (von Teichman & van Wyk 1994, 1996).

Em *Anacardium occidentale* L., Wunnachit *et al.* (1992) não encontraram disco glandular e sim inúmeros tricomas glandulares na base das pétalas das flores estaminadas e hermafroditas. Através de estudo cromatográfico, estes mesmos autores caracterizaram a secreção destas estruturas como néctar.

Anacardium humile St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl.

são importantes componentes da vegetação de cerrado brasileiro. Em *T. guianensis*, Almeida *et al.* (1998) observaram um disco glandular nas flores desta espécie e caracterizaram este disco como nectarífero. Lenza & Oliveira (2005) propuseram que o néctar seja um recurso floral oferecido por esta espécie para seus polinizadores. Em *L. molleoides*, um disco glandular está presente ao redor das flores pistiladas e estaminadas e em *A. humile* tricomas glandulares são observados na região basal da face adaxial das pétalas de flores estaminadas e hermafroditas (observações pessoais).

Este trabalho tem como objetivo caracterizar a estrutura e a histoquímica da secreção do disco floral de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. e dos tricomas glandulares corolinos de *Anacardium humile* St.Hil.

Material

O material em estudo foi coletado em áreas de cerrado do Estado de São Paulo: Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu, Fazenda Palmeira da Serra de Pratânia e fragmento situado no município de Botucatu. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *A. humile* A. St.Hil.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 13; Moji Guaçu, 09-IX-2003, *A. Lacchia* 8; 06-X-2004, *A. Lacchia* 18, 21; *L. molleoides* (Vell.) Engl.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 16-VIII-2004, *A. Lacchia* 11, 12; Pratânia, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 14, 15, 16; *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7; Pratânia, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 12-XII-2002, *A. Lacchia* 5, 6. O material coletado foi identificado pelo professor Jorge Tamashiro, da Universidade Estadual de Campinas.

Métodos

Microscopia de luz

Ramos florais de *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* foram fixados em FAA por 24 h

(Johansen 1940) e FNT (formalina neutra tamponada; Lillie 1965) por 48 h e estocados em etanol 70%. Para o estudo estrutural, botões florais, flores em pré-antese, antese e pós-antese foram isolados, desidratados em série butílica (Johansen 1940) e etílica, incluídos em “Paraplast” e em resina plástica (Historesin Leica), seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983). Amostras dos materiais foram seccionadas em micrótomo rotativo (Mícron HM340E) obtendo-se cortes transversais e longitudinais seriados com 12 a 14 μ m de espessura. Diferentes colorações foram testadas em material incluído em “Paraplast” devido à afinidade distinta das espécies pelos corantes. As secções de *A. humile* apresentaram os melhores resultados quando coradas com safranina alcoólica 1%, violeta cristal 1% e laranja G 1% em óleo de cravo (tripla coloração de Flemming; Johansen 1940) e as de *L. molleoides* e *T. guianensis*, quando coradas com safranina alcoólica 1% e com azul de astra 1% (Gerlach 1984). O material incluído em resina plástica foi corado com azul de toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,7 (Feder & O’ Brien, 1968). Essas três técnicas de coloração foram utilizadas no presente trabalho e as lâminas montadas em resina sintética “Permout”.

Inflorescências com botões florais e flores hermafroditas e estaminadas em pré-antese, antese e pós-antese de *A. humile*, flores pistiladas em antese de *L. molleoides* e flores pistiladas e estaminadas em antese de *T. guianensis* foram utilizadas na aplicação de testes histoquímicos. Apenas quatro testes histoquímicos foram aplicados nas flores de *L. molleoides*, devido a pequena quantidade de flores obtidas dos indivíduos desta espécie.

Materiais fixados em FAA foram utilizados para os testes histoquímicos que evidenciam carboidratos (incluindo mucilagem e amido) e compostos fenólicos hidrossolúveis e materiais fixados em FNT, para os testes que evidenciam lipídios totais (incluindo ácidos graxos livres e compostos fenólicos lipossolúveis). Os tratamentos realizados para evidenciar as principais classes químicas dos componentes da secreção das glândulas florais foram: vermelho de rutênio para mucilagens ácidas (Gregory & Baas 1989), ácido tânico e cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato

& Lillie 1973), reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent; pararosalina CI 42510) para polissacarídeos totais (Jensen 1962), reagente de Lugol para amido (Johansen 1940), preto de Sudão B (CI 26150) para lipídios totais (Pearse 1985), sulfato azul do Nilo (CI 51180) para lipídios ácidos e neutros (Cain 1947), acetato de cobre/ ácido rubeânico para ácidos graxos (Ganter & Jollés 1969, 1970) e cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940).

Para o controle dos testes que detectam substâncias lipofílicas, o material botânico foi colocado em solução de metanol/clorofórmio/água/HCl (66: 33: 4: 1 v/v; High 1984) por 48 horas. Após este período, o material foi fixado em FNT e posteriormente tratado com os reagentes e corantes já mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

As fotografias foram realizadas em microscópio estereoscópico SMZ-U e as fotomicrografias, em microscópio Olympus BX51 utilizando-se filme Kodak Pro Image ASA 100. As escalas das figuras foram obtidas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Microscopia eletrônica de varredura

Botões e flores estaminadas e hermafroditas em pré-antese, antese e pós-antese de *A. humile* e flores pistiladas e estaminadas de *T. guianensis* nestas mesmas fases foram fixadas em glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M pH 7,2 por 48 horas a 4 °C. Após lavagens no mesmo tampão, o material foi desidratado em série acetônica ascendente, seco pelo método do ponto crítico, montado e metalizado com ouro. As observações foram efetuadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Jeol T 220 a 15 kV e os aspectos mais relevantes registrados em filme Kodak T Max 200.

Resultados

Estruturas secretoras nas pétalas de *A. humile* (figuras 1-13)

Tricomas glandulares multicelulares e multisseriados (figuras 2, 3, 4, 5, 7) são observados em grande quantidade na região basal da face adaxial das pétalas das flores estaminadas (figura 1) e hermafroditas (figuras 4-5) de *A. humile*.

Esses iniciam seu desenvolvimento no botão de aproximadamente 3,0 mm de comprimento (figura 6); em botões maiores, tricomas em fase secretora já são visualizados. Em todos os estádios florais (botão até flores em pós-antese), as pétalas possuem tricomas em diferentes estádios de desenvolvimento (figuras 4, 5, 7, 8). Nas flores em pós-antese, tricomas em senescência são freqüentemente observados.

No botão com aproximadamente 3,0 mm, observa-se secreção no interior das células epidérmicas da face adaxial da região basal da pétala (figura 6). Na flor em pré-antese, as células epidérmicas são secretoras ao longo da nervura principal e se estendem até a região mediana da pétala (figuras 9-10). Na altura das anteras, a epiderme da pétala ainda não é secretora na flor em pré-antese e apresenta-se glandular somente na flor em antese (figura 11). Observa-se diferença na extensão da região secretora da epiderme da pétala. A pétala na região basal é secretora em quase toda sua extensão (figura 12), na sua região mediana é glandular em menor área (figura 9) e na sua região apical (junto as anteras) é secretora apenas na porção central (figura 11).

Na flor em pós-antese, pode-se observar epiderme secretora senescente (figura 13) ao longo de todo comprimento e largura da pétala.

Os tricomas glandulares corolinos da flor de *A. humile* na coloração de Fleming possuem coloração laranja e roxa no exsudato, que depende provavelmente da fase de secreção e a epiderme secretora possui sempre coloração alaranjada que independe do estágio de desenvolvimento da pétala.

Disco glandular em flores de *L. molleoides* e *T. guianensis* (figuras 14-25)

Um disco lobado intraestaminal está localizado ao redor do pistilódio da flor estaminada de *L. molleoides* (figuras 14, 21) e de *T. guianensis* (figura 17) e do ovário da flor pistilada de *L.*

molleoides (figura 15) e de *T. guianensis* (figura 17). O disco da flor estaminada de *L. molleoides* é mais proeminente que o disco da flor pistilada desta mesma espécie (figuras 14-15), enquanto os discos da flor pistilada e estaminada de *T. guianensis* apresentam tamanho semelhante. Inúmeros estômatos são observados no disco de *L. molleoides* e *T. guianensis* (figura 18). O disco das flores pistiladas de *L. molleoides* degenera quando inicia a formação do fruto, enquanto que o disco das flores pistiladas de *T. guianensis* é persistente em todos os estádios de desenvolvimento do fruto (figura 19).

A estrutura anatômica do disco de *L. molleoides* foi caracterizada a partir da análise de cortes longitudinais e transversais seriados. Este disco é composto por um tecido secretor e formado por parênquima glandular, recoberto por uma epiderme unisseriada não secretora (figuras 22-24). As células secretoras parenquimáticas são menores que as demais células parenquimáticas (figura 22) e se distinguem por apresentarem paredes finas e citoplasma denso (figura 24), devido à produção do exsudato e preenchem quase todo o disco (figura 23). O tecido vascular do disco é composto apenas por elementos de condução floemáticos, que se originam do receptáculo floral, junto com os traços que vascularizam a pétala (figura 23) e são encontrados apenas na base desta estrutura (figura 23). A epiderme do disco glandular voltada para o ovário da flor pistilada e para o pistilódio das flores estaminadas apresenta inúmeros estômatos (figura 24). Nas flores pistiladas, estes estômatos podem ser encontrados no mesmo nível das células epidérmicas e nas flores estaminadas os estômatos também podem estar abaixo do nível da epiderme (figura 24). As células do parênquima secretor apresentam-se mais fortemente coradas no estágio de flor em antese e possuem inúmeros cristais em todas as fases de desenvolvimento da flor (figura 25).

No disco glandular da flor estaminada, a presença de inúmeros idioblastos (com muita ou pouca secreção) é observada na base do disco e em meio às células do parênquima secretor (figura 22).

Os discos das flores pistiladas e estaminadas são morfologicamente semelhantes. O disco das flores pistiladas e estaminadas de *T. guianensis* possui tecido secretor de posição cortical. A epiderme as células subepidérmicas produzem secreção, que cora positivamente para safranina e azul de toluidina em todas as fases florais (figura 20) e inúmeros estômatos. Este disco não apresenta parênquima secretor; a única substância detectada nestas células foi amido. A observação de tecido vascular na base do disco foi realizada na microscopia eletrônica de varredura.

Histoquímica (figuras 26-39)

Tricomas corolinos em desenvolvimento e com secreção são observados em todas as fases (botão à pós-antese) das flores hermafroditas e estaminadas de *A. humile*. A secreção desses tricomas possui coloração âmbar tanto em material fixado em FAA (figura 26), quanto em material fixado em FNT (figura 29). A secreção no interior das células glandulares destes tricomas reage positivamente para polissacarídeos, ácidos graxos e compostos fenólicos (Tabela 1).

O conteúdo das células secretoras do disco da flor pistilada de *L. molleoides* reagiu positivamente apenas para vermelho de rutênio e reação PAS, indicando a presença de substâncias hidrofílicas nesta estrutura (Tabela 1).

As células epidérmicas e sub-epidérmicas do disco glandular das flores pistiladas e estaminadas em antese de *T. guianensis* apresentam conteúdo de cor amarela, em material fixado em FNT (figura 35). Substâncias lipofílicas como ácidos graxos e compostos fenólicos compõem a secreção destas células (Tabela 1). Amido foi a única substância detectada nas células parenquimáticas do disco floral, a reação PAS comprova resultado negativo para polissacarídeos na células corticais do disco (Tabela 1).

Discussão

Em *Anacardium humile*, diferentemente de muitas Anacardiaceae, o disco intraestaminal não é observado e inúmeros tricomas glandulares estão presentes na base da corola das flores hermafroditas e estaminadas. Estes tricomas têm secreção heterogênea composta por carboidratos, ácidos graxos e compostos fenólicos. Desta forma, pode-se inferir que os tricomas corolinos de *A. humile* não são tricomas nectaríferos e sim tricomas de secreção mista, predominantemente lipídica.

Em *Anacardium occidentale* L., a secreção de néctar por tricomas glandulares encontrados na base da corola da flor hermafrodita e da flor estaminada foi confirmada através de cromatografia (Wunnachit *et al.* 1992).

Tanto *A. humile* quanto *A. occidentale* possuem tricomas estruturalmente semelhantes, de mesma localização, mas com secreções e funções distintas. Fato similar pôde ser observado em glândulas foliares de *Passiflora foetida* (Bertol.) Mast., quando comparadas com as glândulas das demais espécies do gênero. Durkee *et al.* (1984) observaram que as glândulas de *P. foetida*, apesar de terem localização e estrutura semelhante aos nectários extraflorais das demais espécies do gênero, produzem resina. Para os autores, essas glândulas podem representar uma transição de um verdadeiro nectário extrafloral para glândulas que secretam lipídios. Esta mesma inferência pode ser feita para *A. humile*. Devido à presença de substâncias lipofílicas na secreção dos tricomas corolinos de *A. humile*, também pode-se sugerir que estas estruturas estejam relacionadas à defesa química das flores, atuando como dissuasivos de herbivoria e oviposição (Nishida 2002).

Tricomas de secreção heterogênea, composta por substâncias hidrofílicas e lipofílicas, também foram encontrados nas criptas foliares, no escapo e nas brácteas da inflorescência de *A. humile*, no ovário e no pistilódio das flores pistiladas e estaminadas de *Tapirira guianensis* Aubl. e no pedicelo e nas bractéolas das flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (capítulo 4). A presença de substâncias lipofílicas na secreção dos tricomas florais de *L. molleoides*

e *T. guianensis* poderia indicar o envolvimento destas estruturas na defesa química das flores (capítulo 4).

Tricomas glandulares com secreção heterogênea foram encontrados nas flores de *Zeyheria montana* Mart. e a presença de lipídios e alcalóides na secreção permite que estes tricomas sejam estruturas de defesa química das flores (Machado *et al.* 2006).

Ainda na flor de *A. occidentale*, Wunnachit *et al.* (1992) referem-se a uma epiderme especializada onde estariam os tricomas, que possui lipídios. Em *A. humile*, a epiderme da pétala também é secretora. Segundo Fahn (1990), células epidérmicas que não possuem a forma de tricomas, podem também tornarsse glandulares e podem estar presentes em diferentes partes dos órgãos florais.

Disco lobado intraestaminal e secretor foi observado ao redor do ovário das flores pistiladas e do pistilódio das flores estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis* em todos os estádios de desenvolvimento.

Segundo Mabberley (1997) e Judd *et al.* (1999), as flores de Anacardiaceae possuem um disco nectarífero intraestaminal. Alguns estudos florais realizados em microscopia eletrônica de varredura constataram a presença de disco na base do ovário de muitas flores de Anacardiaceae (Wannan e Quinn, 1991). Descrições micromorfológicas também são escassas e foram realizadas apenas em discos de quatro espécies: *Protorhus longifolius* (Bernh) Engl., *Ozoroa namaquensis* (Sprague) I. von Teichman e A. E. van Wyk (von Teichman e van Wyk, 1994), *Heeria argentea* (Thumb) Meisn e *Ozoroa paniculosa* (Sond.) R. Fern e A. Fern (von Teichman e van Wyk, 1996) que apresentam variações estruturais.

Embora muitas das espécies de Anacardiaceae possuam disco intraestaminal, não há relatos na literatura de estudos anatômicos, histoquímicos ou cromatográficos que comprovem a secreção de néctar por esta estrutura.

Em *L. molleoides*, o disco apresenta parênquima secretor com células de paredes finas e citoplasma denso, epiderme unisseriada não secretora com inúmeros estômatos e vascularização por elementos floemáticos. O parênquima secretor apresentou resultado positivo para carboidratos pelos testes histoquímicos realizados. As características estruturais deste disco e a secreção de carboidratos pelas células parenquimáticas nos permitem inferir que este disco é nectarífero.

Algumas diferenças entre os discos da flor pistilada e da flor estaminada foram verificadas. A primeira diferença é em relação ao tamanho do disco; nas flores estaminadas, o disco é maior e mais proeminente do que o disco encontrado nas flores pistiladas. Outra diferença é a presença de inúmeros idioblastos no nectário da flor estaminada. Estes idioblastos podem ser encontrados na base do disco nectarífero, bem como, em meio ao parênquima nectarífero secretor. Pela análise estrutural, observou-se que estes idioblastos estão sempre arranjados em grupos ou fileiras e podem ou não apresentar secreção.

Segundo Fahn (1990), os nectários são compostos por um tecido secretor e um tecido vascular, sendo o tecido vascular constituído por elementos floemáticos e xilemáticos. Nos discos nectaríferos das flores pistilada e estaminada de *L. molleoides*, o sistema vascular é constituído apenas por elementos floemáticos que provêm da vascularização do receptáculo floral. A vascularização apenas por floema também foi observada nos nectários de *Vicia faba* L. (Davis & Gunning 1992) e de *Rosmarinus officinalis* L. (Zer & Fahn 1992).

O néctar produzido pelos nectários pode ser exsudado por células epidérmicas modificadas (Fahn 1990), por tricomas (Fahn 1990, Wunnachit *et al.* 1992), por cavidades lisígenas (Fahn 1987) ou por estômatos modificados (Davis & Gunning 1992, Zer & Fahn 1992). Nas flores estaminada e pistilada de *L. molleoides*, pôde-se observar a presença de uma grande quantidade de estômatos na epiderme do disco; desta forma, a liberação do néctar ocorre via estômatos.

Em *T. guianensis*, o disco intraestaminal da flor pistilada e estaminada é secretor apenas em sua região cortical e não apresenta tecido nectarífero característico como em *L. molleoides*; e a

secreção das células epidérmicas e subepidérmicas reage positivamente apenas para substâncias lipofílicas. Neste disco, a epiderme tem inúmeros estômatos e as células parenquimáticas desta estrutura possuem amido.

Duas hipóteses podem ser propostas para o disco glandular intraestaminal de *T. guianensis*. A presença de estômatos na epiderme e de amido nas células parenquimáticas do disco pode nos levar a supor que este disco produza néctar além de substâncias lipídicas, caracterizando uma glândula mista. O amido poderia ser um precursor do néctar como observado para as flores pistiladas de *Cucumis sativus* L. (Peng *et al.* 2004); nesta espécie, os amiloplastos e vacúolos são responsáveis pela produção de néctar.

A existência de uma mesma estrutura secretora onde diferentes células são responsáveis pela produção de substâncias de caráter diferenciado já foi proposta por Joel & Fahn (1980); neste trabalho, estes autores relatam que em um mesmo canal secretor algumas células são especializadas na produção de compostos lipofílicos e outras células na produção de compostos hidrofílicos (mucilagem e proteína). Se o disco floral de *T. guianensis* produzir néctar, além de lipídios, a observação dos autores supracitados poderá se estender para outro tipo de estrutura secretora além dos canais.

Se não for possível constatar a produção de néctar pela região medular do disco floral de *T. guianensis*, que esta glândula produz apenas lipídios na região cortical e poderemos inferir que os estômatos encontrados na epiderme do disco são uma herança filogenética do grupo a qual esta espécie pertence. Desta forma, o disco não seria nectarífero como caracterizado por Almeida *et al.* (1998) e as flores oferecem outras substâncias como recurso floral e não o néctar como sugerido por Lenza e Oliveira (2005).

Referências bibliográficas

- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M. & RIBEIRO, J.F. 1998. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC.
- CAIN, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 88:383-392.
- DAVIS, A. R. & GUNNING, B. S. E. 1992. The modified stomata of the floral nectary of *Vicia faba* L. 1. Development, anatomy and ultrastructure. *Protoplasma* 166: 134-152.
- DURKEE, L.T.; BAIRD C.W. & COHEN, P.F. 1984. Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae). *American Journal of Botany* 71:596-602.
- FAHN, A., 1987. Extrafloral nectarines of *Sambucus niger* L. *Annals of Botany* 60: 299-308.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55:123-142.
- GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969, 1970. Histologie normale et pathologique. v. 1 e 2, Gauthier – Villars, Paris.
- GERLACH, D. 1984. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. 3rd ed., Georg Thieme, Stuttgart.
- GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38:125-174.
- HIGH, O.B. 1984. Lipid histochemistry. Oxford University Press, New York.
- HORMAZA, J.I. & POLITO, V.S. 1996. Pistillate and staminate development in dioecious *Pistacia vera*. *American Journal of Botany* 83: 759-766.

- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). III. Secretion of protein- polysaccharide mucilage in fruit. *Annals of Botany* 46: 785-790.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Mycrotechnique. McGraw-Hill Book, New York.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A & STEVENS, P. S., 1999. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Sunderland.
- LENZA, E. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Biologia reprodutiva de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), uma espécie dióica em mata de galeria do triângulo mineiro, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 28:179-190.
- LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and practical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- MÄBBERLEY, D. J., 1997. The plant-book. 2 ed. Cambridge University Press, New York.
- MACHADO, S.R. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius*. *Acta Botanica Brasilica* 15:189-195.
- MACHADO, S.R., GERGORIO, E.A. & GUIMARÃES, E. 2006. Ovary Peltate Trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): Developmental Ultrastructure and Secretion in Relation to Function. *Annals of Botany* 97:357-369.
- NISHIDA, R. 2002. Sequestration of defensive substances from plants by lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 47:57-92.
- PEARSE, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applies. v. 2, C. Livingstone, Edinburg.
- PELL, S.K. 2004. Molecular Systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Dissertation, St. Andrews Presbyterian College.

- PENG, Y.B., LI, Y.Q., HAO, Y.J., XU, Z.H. & BAI, S.N. 2004. Nectar production and transportation in the nectaries of the female *Cucumis sativus* L. Flower during anthesis. *Protoplasma*: 224:71-78.
- PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. 1973. Mayer's tannic acid- ferric cholride stain for mucins. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 21:56-64.
- VENNING, F. D., 1948. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. *American Journal of Botany* 35: 637-644.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1994. The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae) - evidence from fruit structure. *Annals of Botany* 73:175-184.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1996. Taxonomic significance of pericarp and seed structure in *Heeria argentea* (Thunb) Meisn (Anacardiaceae), including reference pachychalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* 122:335-352.
- WANNAN, B. S. & QUINN, C. J., 1991. Floral structure and evolution in the Anacardiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 107: 349-385.
- WUNNACHIT, W., JENNER, C.F. & SEDGLEY, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale*. (Anacardiaceae): An andromonoecious species. *International Journal of Plant Science* 153:413-420.

Tabela 1. Resultado da aplicação de testes histoquímicos em flores de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.e *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamento	Substância a ser detectada	Coloração	Tricomas-Ah (Fig.)	Disco-Lm (Fig.)	Disco-Tg (Fig.)
vermelho de rutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho	-	+(34)	+
ácido tânico/cloreto férrico	mucilagem	preto	-	NR	+
reação PAS	polissacarídeos totais	rosa a vermelho	+(27)	+	-
reagente de Lugol	amido	preto	-	NR	+
cloreto férrico	compostos fenólicos	preto/marrom	+(28)	-	NR
preto de Sudão B	lipídios totais	preto/marrom	+(30)	-	+(36)
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	+(31)	NR	+(37)
sulfato azul do Nilo	lipídios neutross	rosa	-	NR	-
acetato de cobre/ ácido rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	+(32)	NR	+(38) CS
cloreto férrico	compostos fenólicos	preto/marrom	+(33)	-	NR
SFF	compostos fenólicos	preto/marrom	NR	NR	+(39)

()=figura, +=positivo, -=negativo, Ah=*Anacardium humile*, Lm=*Lithraea molleoides*, Tg=*Tapirira guianensis*, SFF=sulfato ferroso em formalina; CS=células sub-epidérmicas; NR=teste não realizado

Figuras 1-5. Elétron-micrografias de varredura mostrando a face adaxial das pétalas de *Anacardium humile* St-Hil. Material fixado em FAA. 1-3. Botão da flor masculina. 4 e 5. Flor hermafrodita em antese. 1. Tricomas tectores no terço superior e glandulares na região basal. 2. Tricomas glandulares na região basal. 3. Detalhe da figura 2, evidenciando tricomas multicelulares e multisseriados em diferentes estádios de desenvolvimento. 4. Tricomas glandulares na região basal. 5. Detalhe da figura 4, evidenciando tricomas multicelulares e multisseriados. Barras= 100µm (1), 25µm (2, 4, 5), 20µm (3).

Figuras 6-13. Estruturas secretoras nas pétalas de *Anacardium humile* St-Hil.: tricomas (6-8) e epiderme (9-13). Material fixado em FAA. Secção longitudinal. 6, 9 -13. Botão floral (6) e flores hermafroditas em pré-antese (9-10), antese (11-12) e pós-antese (13). 7-8. Flor estaminada. 6. Tricoma glandular em início de diferenciação. 7-8. Tricomas glandulares em diferentes estádios de desenvolvimento. 9. Flor em pré-antese, epiderme secretora na porção central da região mediana da pétala. 10. Detalhe da figura 9, evidenciando as células secretoras da epiderme. 11. Flor em antese cuja região apical da pétala (altura da antera) tem epiderme secretora. 12. Flor hermafrodita em antese, cuja região basal da pétala tem epiderme secretora. 13. Flor em pós-antese cuja região basal da pétala tem epiderme secretora senescente. Barras= 30µm (6, 10, 12-13), 25µm (7), 75µm (8, 9, 11). Legenda: seta=cutícula rompida.

Figuras 14-19. Fotomicrografias (14-15) e elétron-micrografias (16-19) das flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (14 e 15) e *Tapirira guianensis* Aubl. (16-18) e do fruto jovem de *T. guianensis* (19). 14. Detalhe do disco glandular da flor estaminada. 15. Detalhe do disco glandular da flor pistilada. 16 e 17. Flores pistilada e estaminada exibindo o disco intraestaminal lobado. 18. Detalhe do disco da flor estaminada com numerosos estômatos. 19. Fruto

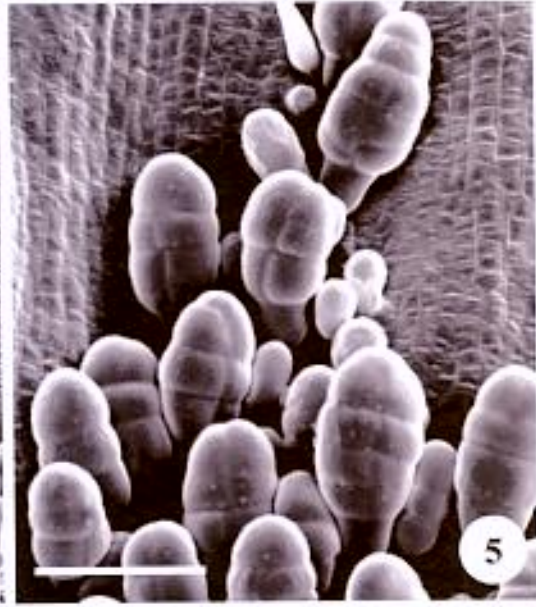
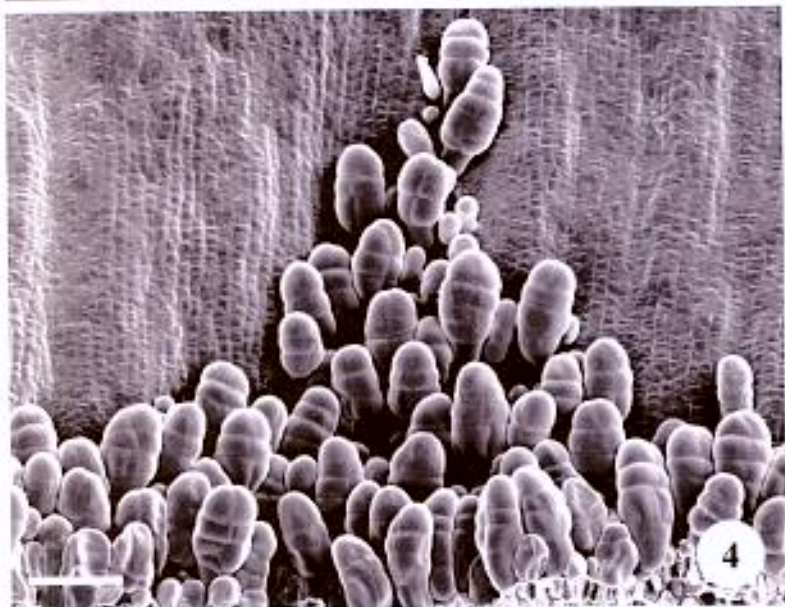
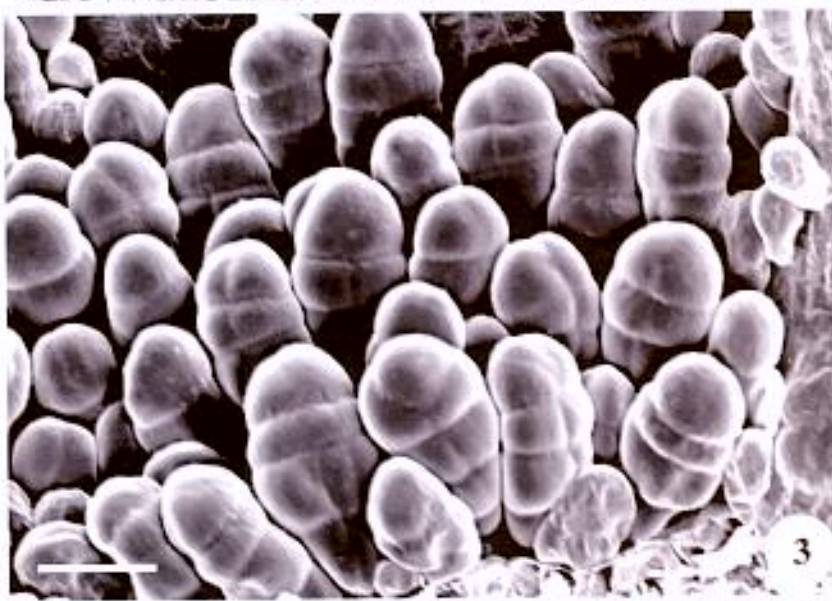
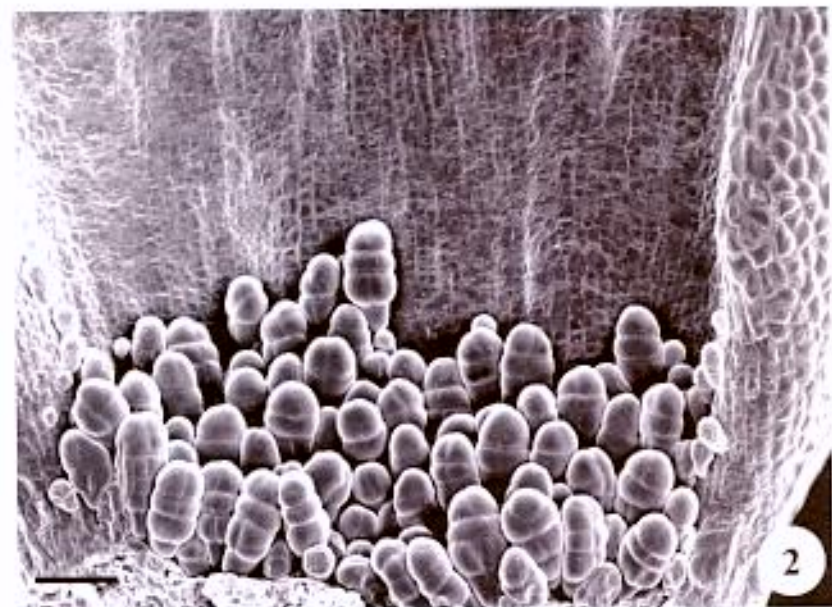
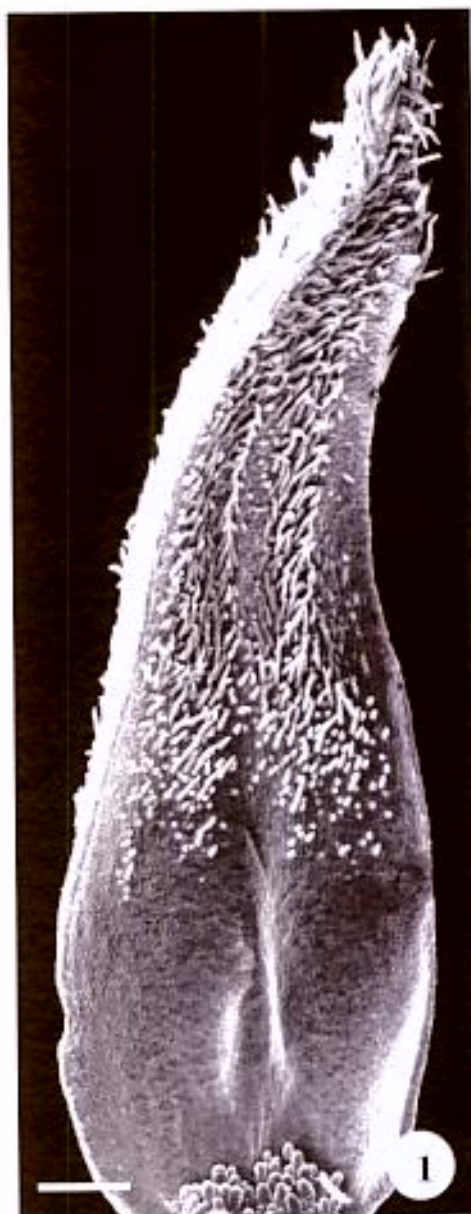
jovem mostrando o disco glandular persistente. Barras= 200µm (14-15), 250µm (16), 300µm (17), 100µm (18), 50µm (19).

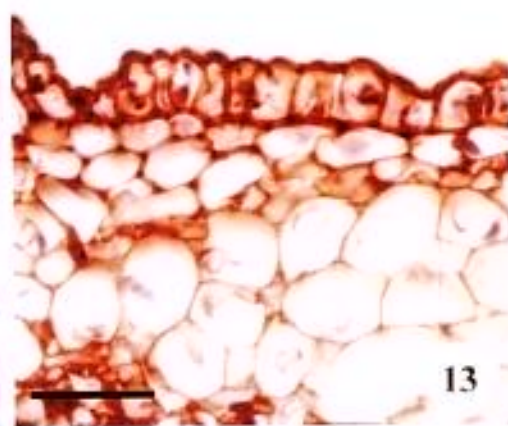
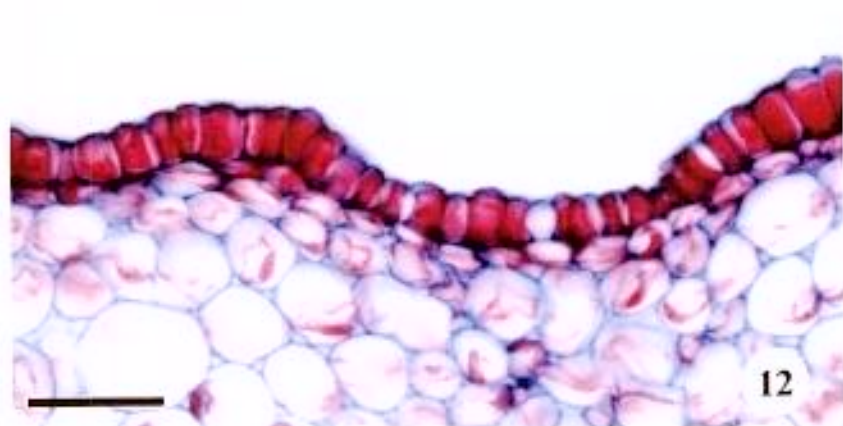
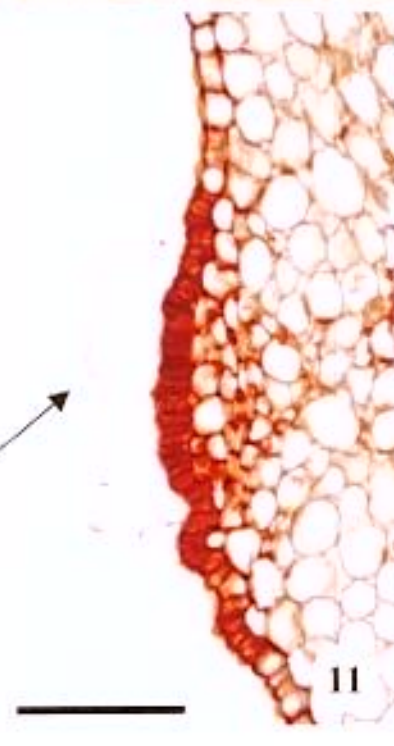
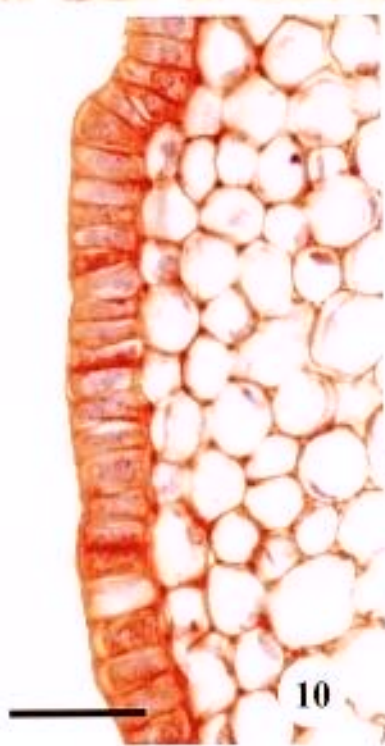
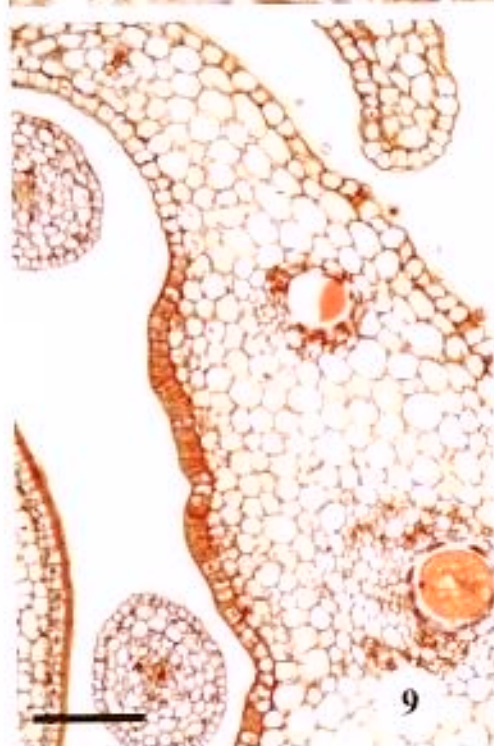
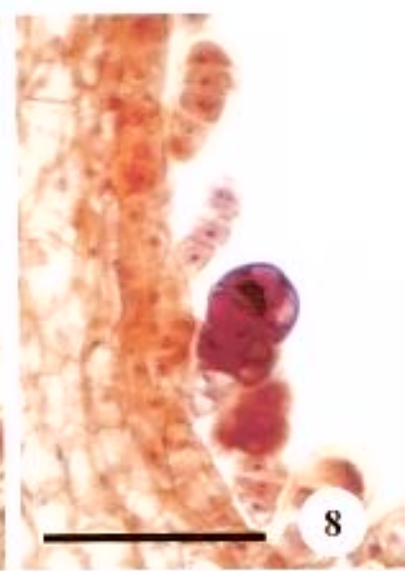
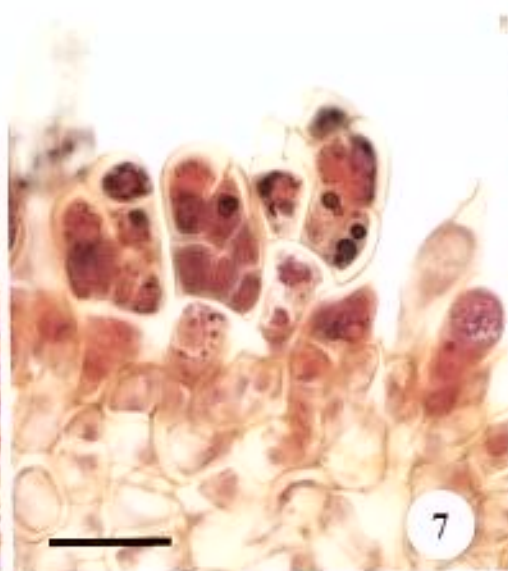
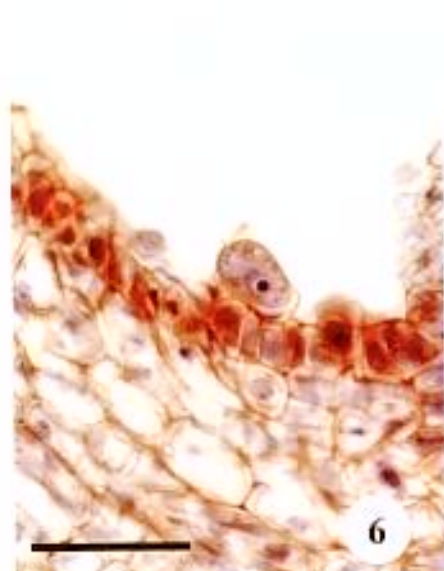
Figuras 20-25. Disco glandular da flor feminina de *Tapirira guianensis* Aubl (20) e nectário da flor masculina em antese de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (21-25). Material fixado em FAA. Secção longitudinal 20. Disco da flor em antese com estômatos e células epidérmicas e sub-epidérmicas secretoras. 21. Vista geral da flor, nectário ao redor do pistilódio evidente e fortemente corado. 22. Parênquima nectarífero fortemente corado e idioblastos secretores na base da glândula. 23. Vascularização de floema proveniente do tecido vascular do receptáculo floral. 24. Epiderme não secretora com estômatos e parênquima secretor com células de citoplasma denso. 25. Cristais no parênquima secretor. Barras= 50µm (20), 300µm (21), 75µm (22, 23, 25), 30µm (24). Legenda: f=floema; TV=tecido vascular; E=epiderme; PS=parênquima secretor; DN= disco nectarífero; seta=estômato.

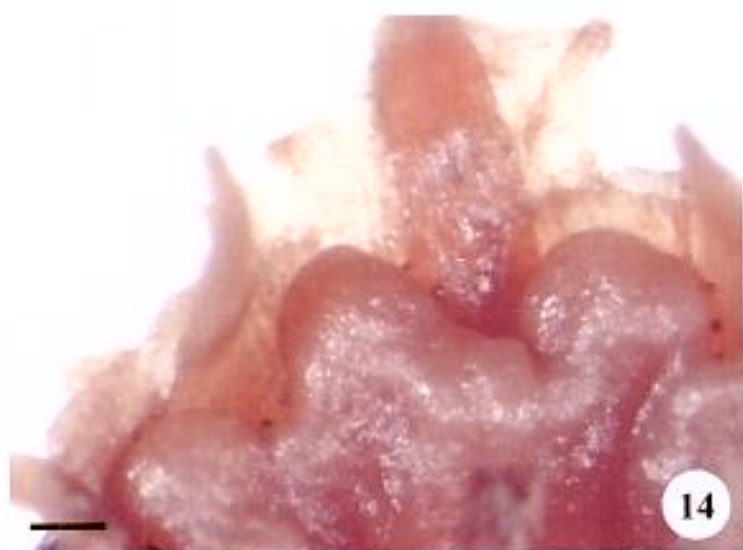
Figuras 26-33. Testes histoquímicos efetuados em tricomas glandulares corolinos de *Anacardium humile* St-Hil.. Secção longitudinal. 26-28. Material fixado em FAA. 29-33. Material fixado em FNT. 26, 27, 29, 31-33. Flor masculina. 28-30. Flor hermafrodita. 26 e 29. Material sem tratamento histoquímico. 27. reação PAS. 28 e 33. Teste com cloreto férrico. 30. Teste com preto de Sudão B. 31. Teste com sulfato azul do Nilo. 32. Teste com acetato de cobre e ácido rubêânico. Barras= 50 µm (26, 27, 29), 30 µm (28, 30-33).

Figuras 34-39. Testes histoquímicos realizados em flores pistiladas em antese de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (34) e *Tapirira guianensis* Aubl. (35-39). Secção longitudinal. 34. Material fixado em FAA. 35-39. Material fixado em FNT 35. Material sem tratamento histoquímico. 34. Reação PAS. 36. Teste com preto de Sudão B. 37. Teste com sulfato azul do Nilo. 38. Teste com

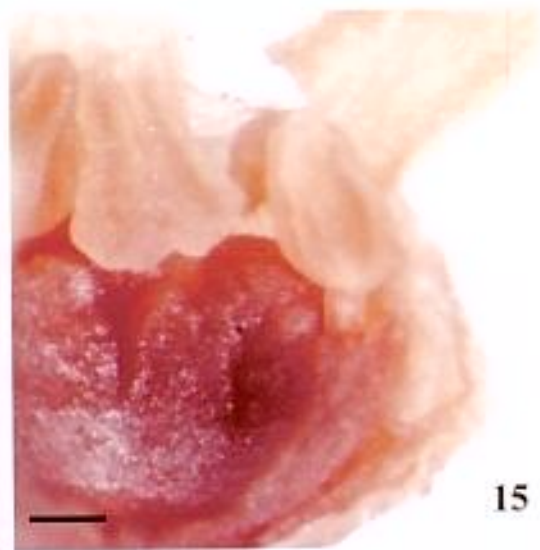
acetato de cobre e ácido rubêânico. 39. Teste com cloreto férrico. Barras= 30 μ m (34), 75 μ m (35-37), 50 μ m (38-39).Legenda: DN=disco nectarífero.







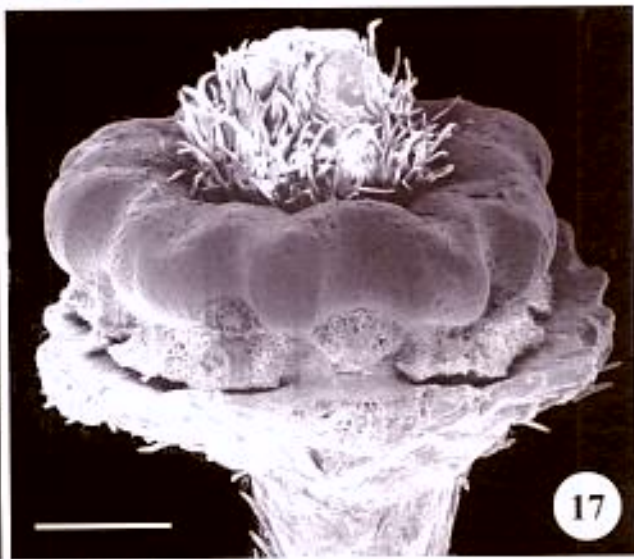
14



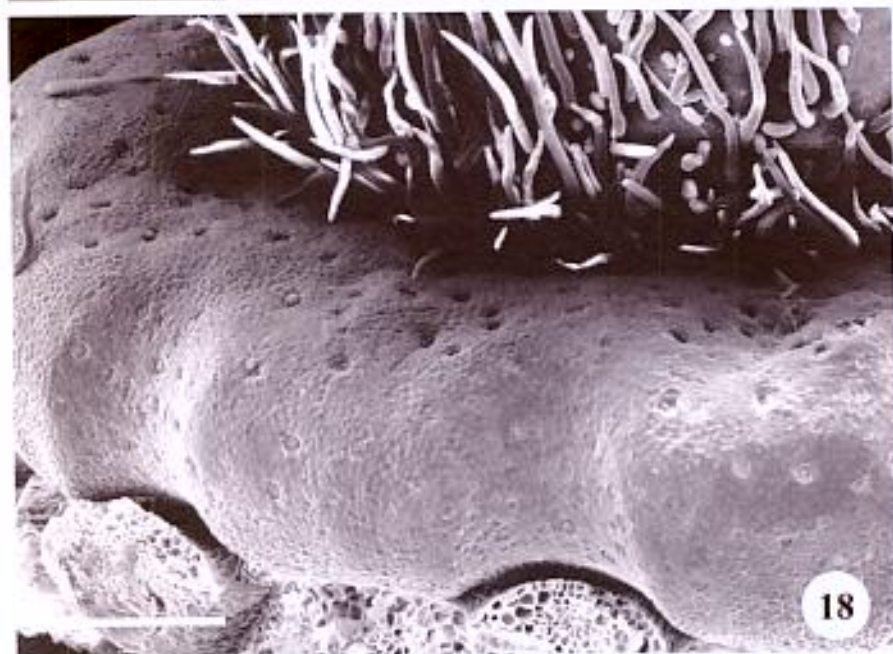
15



16



17

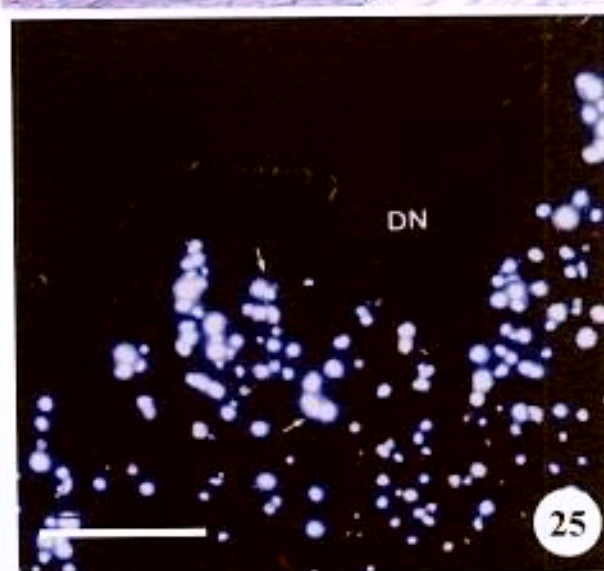
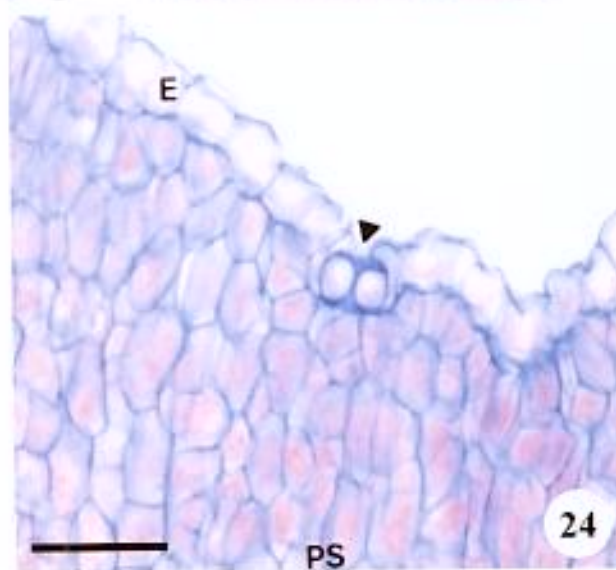
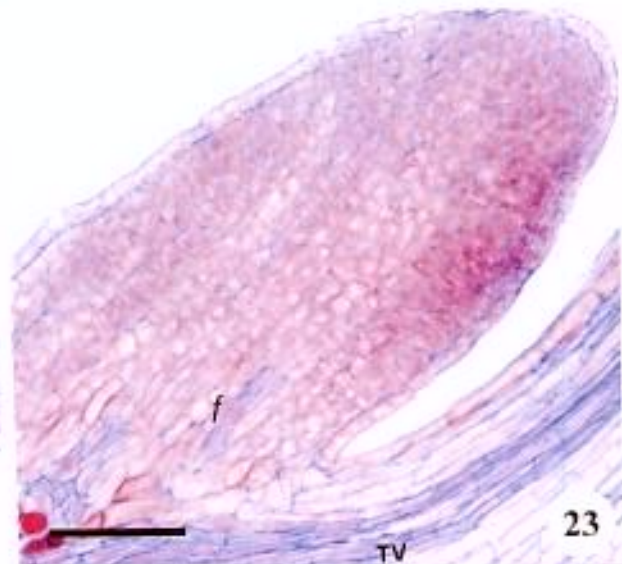
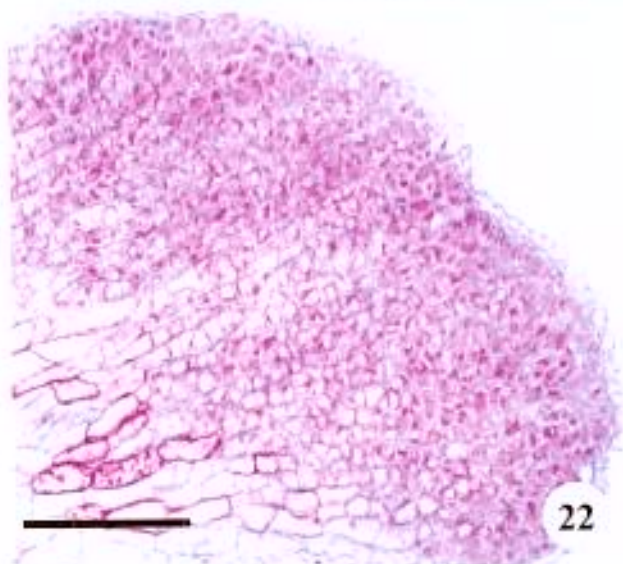
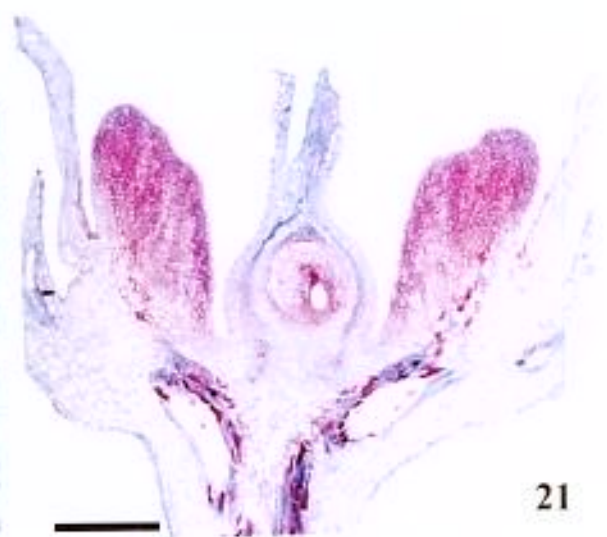
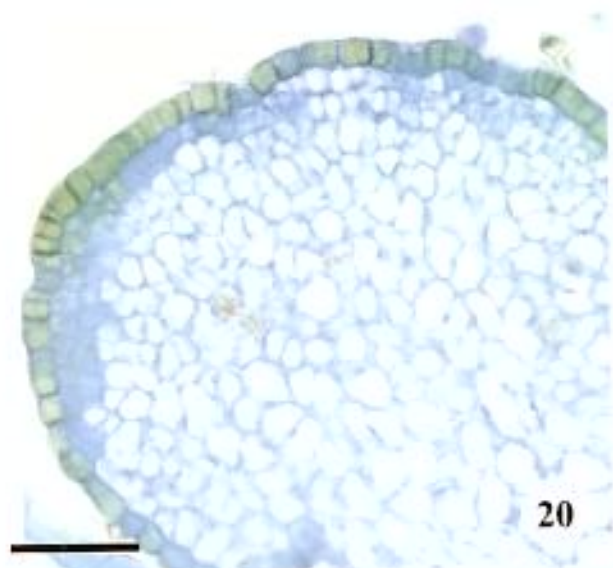


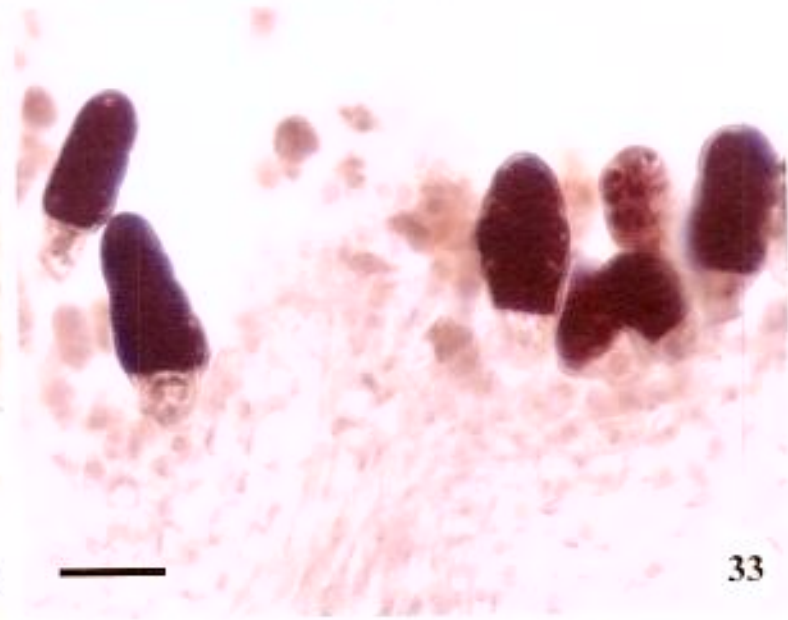
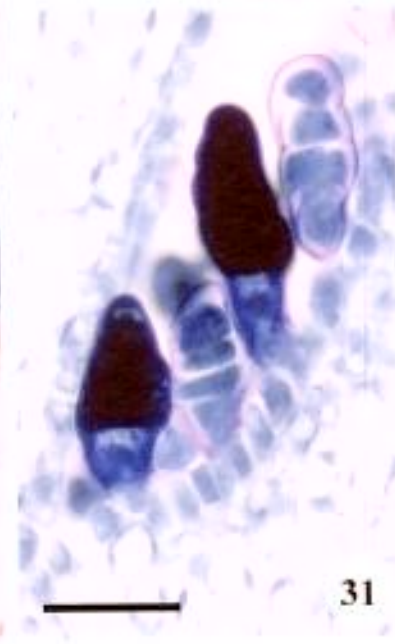
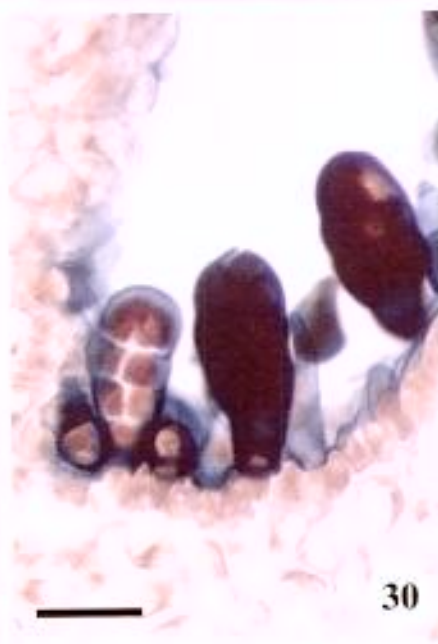
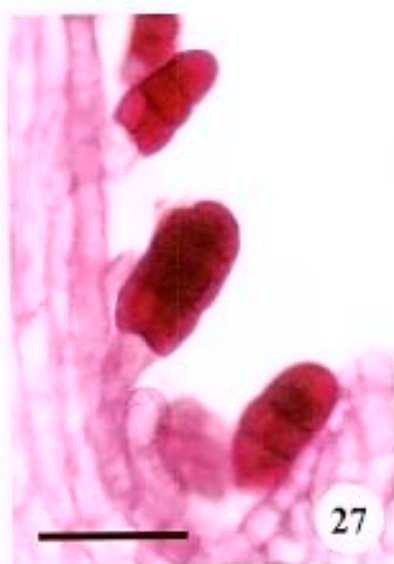
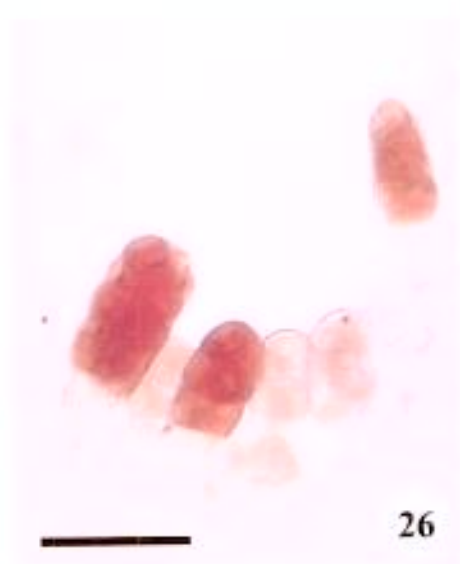
18

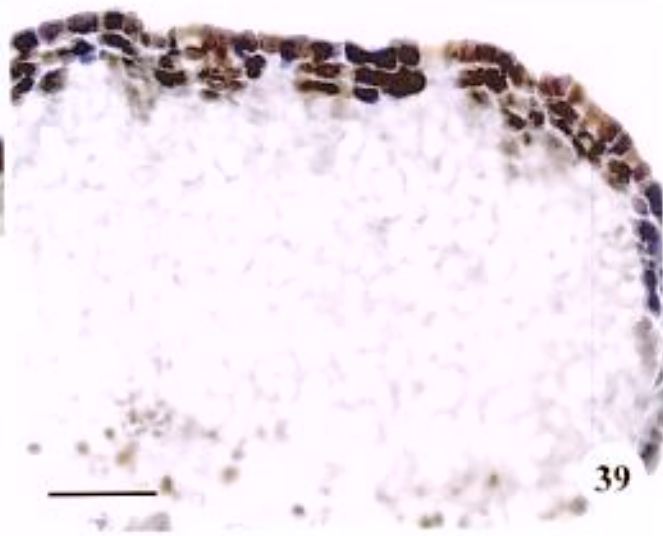
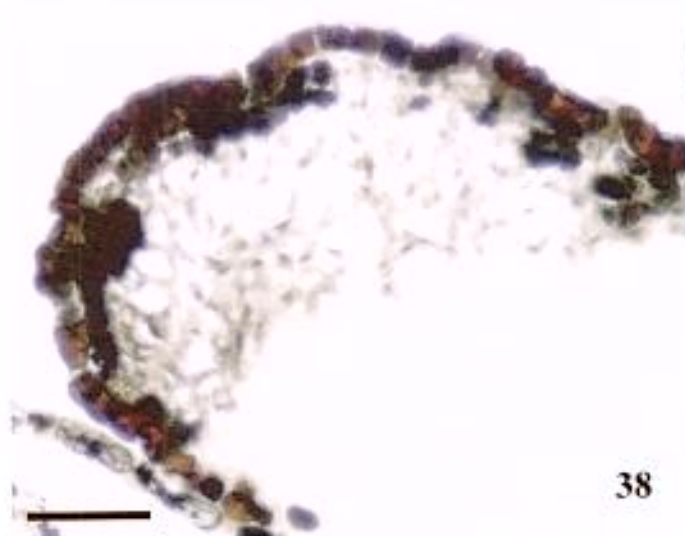
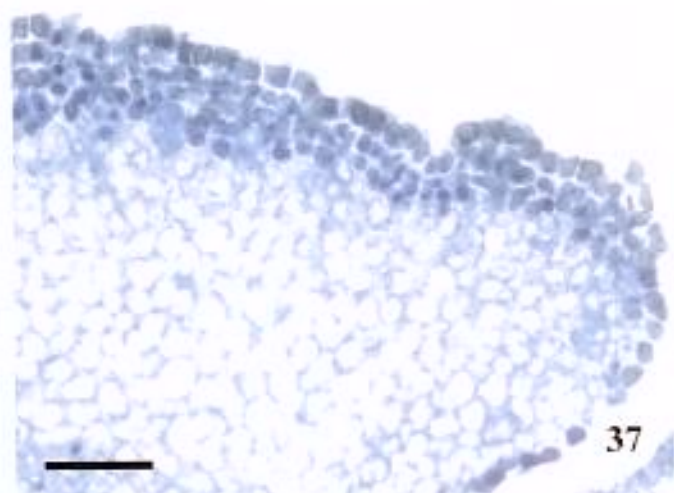
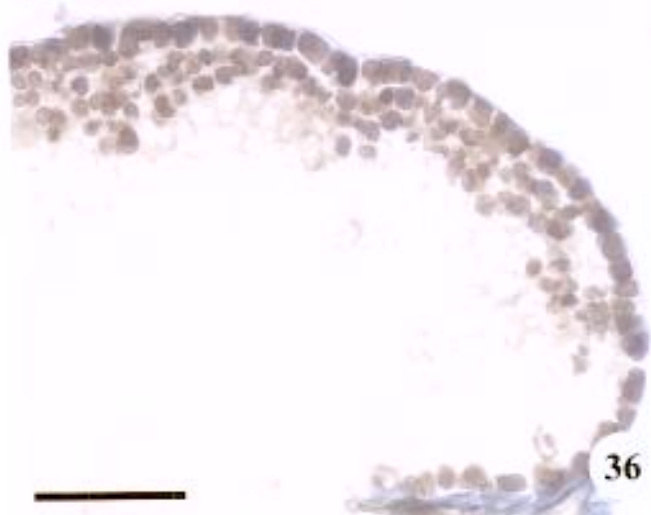
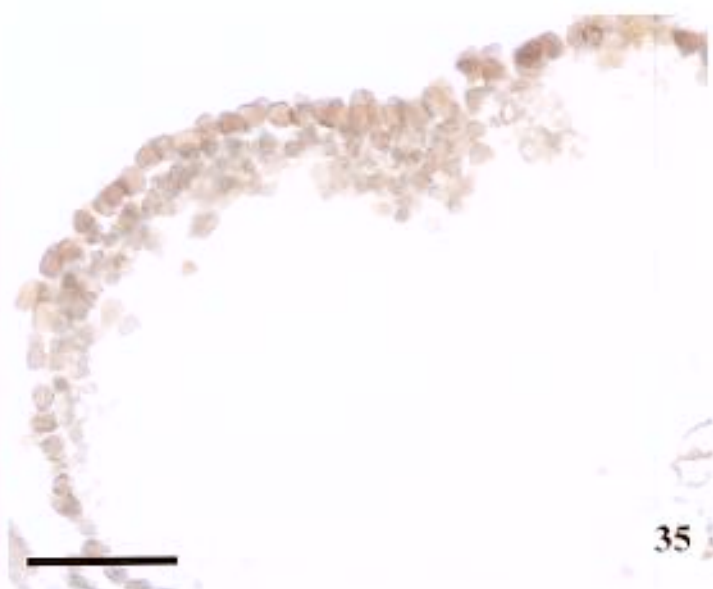
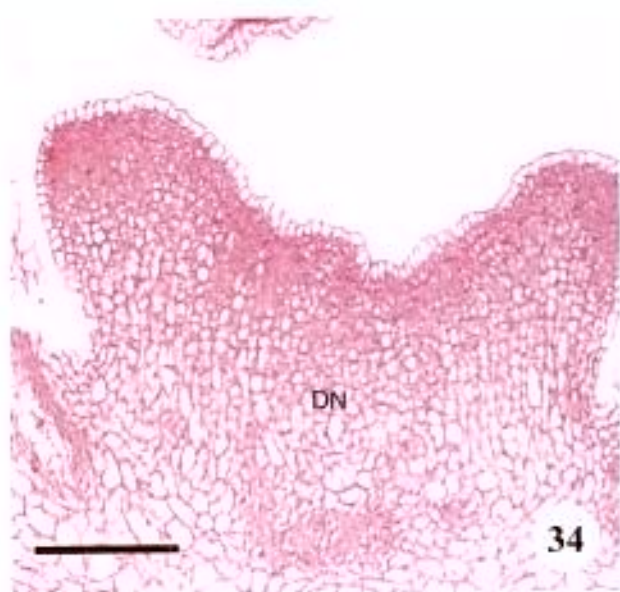


19

UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BOTÂNICA
DESENVOLVIMENTO DE COLEÇÃO







Endocarpo e disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis*: anatomia, histoquímica e ultra-estrutura

ANA LACCHIA^{1,2}, SANDRA MARIA CARMELLO GUERREIRO^{2,4} e LIA ASCENSÃO³

Título resumido: Endocarpo e disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis*

-
1. Parte da tese de doutorado de Ana Paula Stechhahn Lacchia, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
 2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.
 3. Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal.
 4. Autor para correspondência: smcg@unicamp.br

RESUMO – (Endocarpo e disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis*: anatomia, histoquímica e ultra-estrutura) *Tapirira guianensis* é popularmente conhecida no Brasil como peito-de-pombo, fruta-de-pombo, pau-pombo, pombeiro entre outros nomes, com frutos muito procurados por aves em especial por papagaios, periquitos e pombos silvestres. O disco glandular da flor pistilada desta espécie é persistente após a fecundação e cresce concomitantemente com o desenvolvimento do fruto. Nestes frutos, classificados como drupas, apenas a função de proteção mecânica é atribuída ao endocarpo, mas células com aspecto secretor foram observadas na camada mais próxima ao lóculo. Frutos de *T. guianensis* foram estudados com o propósito de caracterizar a anatomia e a histoquímica do endocarpo e a anatomia, histoquímica e ultra-estrutura do disco glandular. A camada do endocarpo em contato com o lóculo é unisseriada e secretora e a secreção é constituída por polissacarídeos e lipídios. As células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular do fruto são secretoras e a histoquímica detectou apenas substâncias lipofílicas na secreção destas. As células epidérmicas e subepidérmicas do disco possuem gotas osmiofílicas nos plastídios e mitocôndrias e demais características que corroboram com a produção de material lipofílico por esta estrutura.

Palavras-chave – endocarpo, disco glandular, histoquímica, Anacardiaceae, *Tapirira*

Introdução

Tapirira Aubl. pertence a tribo Spondiadeae de Anacardiaceae (Engler 1982). Este gênero compreende cerca de 15 espécies que ocorrem principalmente em áreas tropicais da América (Barffod & Holm-Nielsen 1986). *Tapirira guianensis* é amplamente distribuída em terras baixas do Panamá ao Brasil e Peru (Barfod 1987) e é popularmente conhecida no Brasil como peito-de-pombo, fruta-de-pombo, pau-pombo, pombeiro entre outros nomes, com frutos muito procurados por aves em especial por papagaios, periquitos e pombos silvestres (Corrêa 1978).

Para os frutos de Anacardiaceae, além dos idioblastos (capítulo 2), canais (Harada 1937, Joel & Fahn, 1980c, Von Teichman 1987, Lozano 1986, Von Teichman & Van Wyk 1991, 1994; 1996, Von Teichman 1998; Pienaar & Von Teichman 1998, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, capítulo 2) e cavidades (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978, Carmello-Guerreiro & Paoli, 2002) estão descritos tricomas glandulares em *Rhus glabra* (Judd *et al.* 1999) e nectários extra-florais em *Anacardium occidentale* L. (Wunnachit *et al.* 1992, Rickson & Rickson 1998).

Os frutos de *T. guianensis* são classificados como drupas (Von Teichman 1990). O exocarpo ou epicarpo geralmente funciona como a camada protetora do fruto, o mesocarpo é geralmente parênquimático e fica entre o epicarpo e o endocarpo, que é duro, com camadas esclerificadas que protegem a semente (Roth 1977). Nos frutos jovens desta espécie, o endocarpo ainda não é lignificado e sua camada em contato com o lóculo possui aspecto secretor (observação pessoal).

As flores pistiladas de *T. guianensis* possuem um disco glandular na base do ovário que é persistente após a fecundação da flor e cresce concomitantemente com o desenvolvimento do fruto (capítulo 5). Nas flores, a secreção das células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular reage positivamente para os testes histoquímicos que detectam substâncias lipofílicas (capítulo 5). A presença de um disco glandular no fruto de *T. guianensis* é um registro inédito para Anacardiaceae (capítulo 5).

O objetivo deste trabalho é o de analisar anatomicamente e histoquimicamente o endocarpo do fruto de *T. guianensis* e anatomicamente, histoquimicamente e ultra-estruturalmente o disco glandular deste mesmo fruto.

Material e Métodos

Material

O material de estudo foi coletado em áreas de cerrado do Estado de São Paulo: Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu e Fazenda Palmeira da Serra de Pratânia. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7, 25-IX-2003, *A. Lacchia* 9 ; Pratânia, 03-IX-2002, *A. Lacchia* 1, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 13-X-2002, *A. Lacchia* 3, 12-XII-2002, *A. Lacchia* 5, 6, 18-III-2004, *A. Lacchia* 10. O material estudado foi identificado pelo professor Jorge Tamashiro, da Unicamp.

Métodos

Microscopia de luz

Frutos de *T. guianensis* foram fixados em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1:18 v/v) por 24 horas (Johansen 1940) e em FNT (tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) por 48 horas (Lillie 1965). Para o estudo estrutural, frutos em vários estádios de desenvolvimento foram desidratados, incluídos em resina plástica (Historesin Leica), seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983) e seccionados em séries transversais e longitudinais com 12 a 14 µm de espessura em micrótomo rotativo (Microm HM340E). O material incluído em resina plástica foi corado com azul de toluidina (Feder & O'Brien 1968) e montado em resina sintética.

Materiais fixados em FAA foram utilizados para os testes histoquímicos que evidenciam polissacarídeos totais e compostos fenólicos hidrossolúveis e materiais fixados em FNT, para os

testes que evidenciam substâncias lipofílicas. Os tratamentos realizados para evidenciar as principais classes químicas dos componentes da secreção das glândulas do fruto foram: vermelho de rutênio para mucilagens ácidas (Gregory e Baas 1989), ácido tânico/cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato & Lillie 1973), reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent; pararosanilina, CI42510) para polissacarídeos totais (Jensen 1962), preto de Sudão B (CI 26150) para lipídios totais (Pearse 1985), sulfato azul do Nilo (CI 51180) para lipídios ácidos e neutros (Cain 1947), acetato de cobre e ácido rubeânico para ácidos graxos (Ganter & Jollés 1969, 1970) e cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940).

Para o controle dos testes que detectam substâncias lipofílicas, o material botânico foi colocado em solução de metanol/clorofórmio/água/HCl (66: 33: 4: 1 v/v; High 1984) por 48 horas. Após este período, o material foi fixado em FNT e posteriormente tratado com os reagentes e corantes já mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

As fotomicrografias foram realizadas em microscópio Olympus BX51 utilizando-se filme Kodak Pro Image ASA 100 e as escalas das figuras foram obtidas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações.

Microscopia eletrônica de varredura

Frutos em vários estádios de desenvolvimento de *T. guianensis* foram fixados em glutaraldeído 4% em tampão fosfato 0,1 M pH 7,2 por 48 horas a 4 °C. Após lavagens no mesmo tampão, o material foi desidratado em série acetônica ascendente, seco pelo método do ponto crítico, montado e metalizado com ouro. As observações foram efetuadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Jeol T 220 a 15 kV e os aspectos mais relevantes foram registrados em filme Kodak T Max 200.

Microscopia eletrônica de transmissão

Para o estudo da ultra-estrutura do disco glandular, este foi isolado do fruto em vários estádios de desenvolvimento, fragmentado e imediatamente fixado em glutaraldeído 2,5% (tampão fosfato 0,1M, pH 7, 3), pós-fixado em tetróxido de ósmio 1% (tampão fosfato 0,1M), desidratado em série crescente de solução de acetona e incluído em araldite. As secções semifinas foram coradas com azul de toluidina a 1% e as secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila (Watson 1958) e citrato de chumbo (Reynolds 1963), recobertas por filme plástico (Formvar) e observadas em microscópio eletrônico de transmissão Philips E.M. 301. Os aspectos mais relevantes foram registrados através de elétron-micrografias.

Resultados

Morfologia do endocarpo e do disco glandular

Endocarpo glandular (figuras 2-4)

Em microscopia eletrônica de varredura, verifica-se a presença de inúmeras gotas de secreção no endocarpo do fruto jovem e do fruto maduro (figuras 3-4). Apenas no fruto com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro observamos, em microscopia de luz, que a camada do endocarpo em contato com o lóculo é glandular. Esta camada é unisseriada com células de aspecto retangular e secreta seu exsudato em forma de gotas (figura 6) que podem ser visualizadas também na testa da semente (figura 7), uma vez que esta fica em contato com o endocarpo do fruto (figura 2). A camada glandular do endocarpo perde esta função com o amadurecimento do fruto, mas a secreção ainda pode ser observada em frutos maduros através da microscopia eletrônica de varredura. O funículo da semente também é secretor e observam-se inúmeras gotas de secreção na superfície deste (figura 5).

Disco glandular do fruto (figura 1)

O fruto de *T. guianensis* apresenta, em todos os estádios de desenvolvimento, um disco glandular em sua porção basal (figura 1). O disco glandular é constituído por um tecido secretor cortical e um parênquima não secretor. O tecido secretor é composto por uma epiderme unisseriada e por uma a três camadas de células subepidérmicas (figuras 14-15). A epiderme é formada por células quadrangulares a retangulares recobertas por uma fina cutícula (figura 15). As células secretoras sub-epidérmicas são um pouco menos volumosas que as epidérmicas e apresentam formato variável (figura 15).

As células epidérmicas e subepidérmicas possuem secreção (figuras 14-15). Este disco apresenta estômatos, que são dificilmente distinguíveis em microscopia de luz, mas claramente visíveis em microscopia eletrônica de varredura.

Histoquímica do endocarpo e disco glandulares

Endocarpo glandular (figuras 6-13)

A secreção das células do endocarpo e as gotas da superfície do endocarpo e da testa da semente reagem positivamente para polissacarídeos e lipídios ácidos e negativamente para compostos fenólicos (Tabela 1).

Disco glandular do fruto (figuras 14-19)

As células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular apresentam secreção de coloração âmbar em material fixado em FAA e FNT (figura 16) e reagem positivamente apenas para substâncias lipofílicas: ácidos graxos (figura 18) e substâncias fenólicas (figura 19) (Tabela 1). A secreção de algumas células epidérmicas não reage positivamente para os ácidos graxos (figura 18), mas a secreção de todas as subepidérmicas reage positivamente para esta substância lipofílica.

Ultra-estrutura do disco glandular

Pela análise das elétrón-micrografias, observa-se que não há modificações ultra-estruturais significativas nas células do disco em relação aos estádios do fruto de *T. guianensis* analisados. Desta forma, os resultados apresentados englobam todos os estádios verificados.

As células epidérmicas e subepidérmicas são mais elétrón-densas que as parenquimáticas adjacentes que compõem o disco, devido ao citoplasma rico em organelas e presença de material osmiofílico (figuras 20-24).

Na epiderme do disco, as células apresentam diferenças ultra-estruturais (figuras 20-24). Há células com grande quantidade de mitocôndrias, vacúolos e núcleo central (figura 22); outras possuem núcleo e o nucléolo proeminentes e predomínio de pequenos vacúolos com secreção (figura 23); outras têm vacúolos preenchidos por secreção que ocupam a maior parte da célula ficando o citoplasma com posição parietal (figura 24) e outras, ainda, com o citoplasma muito denso, o que inviabiliza visualizar as organelas (figuras 20-21).

A maior parte das células subepidérmicas possui apenas um único vacúolo repleto de secreção elétrón-opaca com citoplasma restrito a sua periferia (figura 25).

Vacúolos de diversos tamanhos são encontrados nas células epidérmicas e sub-epidérmicas, estes podem conter restos celulares (figuras 22-23) ou podem estar preenchidos de secreção osmiofílica de diferentes opacidades. Os vacúolos das células epidérmicas e subepidérmicas apresentam secreção elétrón-densa (figuras 20-21, 23-24) ou elétrón-opaca (figura 20).

Plastídios são encontrados nas células epidérmicas e subepidérmicas (figuras 23, 25). Estes plastídios possuem matriz densa e diferenças estruturais podendo ser ovais ou alongados de forma não definida (figuras 27-28, 30). Gotas elétrón-densas são observadas nos plastídios das células epidérmicas e gotas elétrón-opacas nos plastídios de algumas células subepidérmicas (figura 30). Os plastídios são quase sempre envolvidos total ou parcialmente por retículo endoplasmático rugoso (figura 27).

Ribossomos livres (figura 27), mitocôndrias (figura 24, 27, 29), complexo de Golgi e suas vesículas (figuras 26, 27) e retículo endoplasmático rugoso (figura 29) também estão presentes no citoplasma das células epidérmicas e subepidérmicas. Pequenas gotas elétron-densas são encontradas no interior de algumas mitocôndrias das células epidérmicas (figura 27) e corpos multivesiculares e gotas elétron-opacas também são encontradas nestas mesmas células.

Discussão

O fruto de *T. guianensis* é classificado como drupa, uma vez que o epicarpo e mesocarpo são carnosos e o endocarpo no fruto maduro é formado por várias camadas de células esclerificadas (Von Teichman 1990). Em frutos do tipo drupa, o pericarpo apresenta o exo, meso e endocarpo em três camadas bem distintas. O exocarpo ou epicarpo geralmente funciona como a camada protetora do fruto, o mesocarpo é na maioria das vezes, parênquimático e fica entre o epicarpo e o endocarpo, que é duro, com camadas esclerificadas que protegem a semente (Roth 1977). Baseados nos poucos estudos até então existentes, Netolitzky (1924) e Corner (1976) consideraram que, a função protetora, geralmente desempenhada pela testa ou pelo tégmen, parece ter sido transferida para o endocarpo em Anacardiaceae

Um aspecto interessante observado em *T. guianensis* é presença de um endocarpo secretor em frutos não maduros. Nos frutos jovens, as camadas celulares do endocarpo não estão ainda lignificadas; portanto, o endocarpo ainda não tem a função de proteção da semente. O conteúdo das células da camada do endocarpo em contato com o lóculo reage positivamente para mucilagem e lipídios ácidos. Também foi possível observar a presença de material com aspecto de “gotas” na superfície do endocarpo e na testa da semente. Desta forma, a camada do endocarpo em contato como o lóculo é secretora em *T. guianensis*, fato nunca antes descrito na literatura. O funículo da semente também é secretor, porém a composição desta secreção e a anatomia desta estrutura não foram estudadas neste trabalho, supõe-se que a composição da secreção funicular seja semelhante à

composição do exsudato do endocarpo, devido a similaridade do aspecto dos dois, quando observados em microscopia eletrônica de varredura. A única referência encontrada sobre secreção em frutos e sementes de *T. guianensis* relata a presença de mucilagem nas sementes, que devem ser lavadas para posterior plantio (Pereira 1982). Pode-se inferir que a secreção encontrada na semente, além de ser proveniente do funículo da mesma, seja proveniente do endocarpo, que está em contato direto com a semente.

Segundo Fahn (1990), a mucilagem é comum em muitas sementes e frutos com uma única semente e sua presença já foi relatada em Cruciferae, Labiatae, Compositae, Plantaginaceae, Lythraceae e em outras famílias. Suas funções são muitas: quando a unidade de dispersão é umedecida após sua liberação, ela pode aderir à superfície do solo, tendo a vantagem de não ser levada pelo vento ou chuva para locais desfavoráveis; pode causar redução do peso específico da diáspora na água; regular a germinação da semente, prevenindo o dessecamento ou, em caso de excesso de água, quando a semente torna-se totalmente coberta pela mucilagem, impedir a passagem do oxigênio, prevenindo a germinação (Fahn 1990).

As funções atribuídas à porção mucilagínosa da secreção do endocarpo de *T. guianensis* podem ser similares às funções da mucilagem descritas por Fahn (1990). Porém, estudos de germinação e dispersão são necessários para se ter certeza da função da mucilagem nas sementes e nos frutos desta espécie e da função específica do endocarpo e funículos secretores.

A presença de testa secretora de mucilagem já foi descrita para *Linum usitatissimum* (Hayward 1938), *Plantago ovata* (Hyde 1970), *Cuphea calophylla* e *Mesostemon* (Schoenberg & Hofmeister 1986), *Cuphea viscosissima*, *Lycopersicon esculentum*, *Plantago lanceolata* (Fahn 1990), para várias espécies de *Chamaesyce* (Jordan & Hayden 1992) e para *Euphorbia milii* (Demarco comunicação pessoal); porém, a presença de funículo secretor na semente nunca foi descrita até este trabalho.

Um disco secretor foi observado na base dos frutos em vários estádios de desenvolvimento de *T. guianensis*. Este disco é encontrado nas flores pistiladas (capítulo 5) e persiste após a fecundação crescendo concomitantemente com o desenvolvimento do fruto. Segundo Mabberley (1997) e Judd *et al.* (1999), as flores de Anacardiaceae possuem um disco nectarífero intraestaminal. Por meio de microscopia eletrônica de varredura, Wannan e Quinn (1991) constataram a presença de um disco na base do ovário de muitas flores desta família. Porém até este momento, *T. guianensis* é a única espécie de Anacardiaceae para a qual se registrou que o disco secretor presente na flor é persistente no fruto (capítulo 5).

A ultra-estrutural do disco de *T. guianensis* indica que as células epidérmicas e subepidérmicas exibem características de células secretoras, tais como citoplasma denso, vacúolos preenchidos por secreção osmiofílica, plastídios e mitocôndrias com inclusões lipídicas e vesículas provenientes do complexo de Golgi.

Células epidérmicas com diferenças ultra-estruturais em um mesmo estágio de desenvolvimento do disco e do fruto provavelmente indicam que estas estão em diferentes estádios de secreção. As células com muitas mitocôndrias e núcleo e nucléolo central, sem a presença de vacúolos, provavelmente estão em estágio inicial de secreção com as mitocôndrias fornecendo a energia necessária para o início da síntese do exsudato. Em *A. occidentale* L., os autores sugerem que grande parte da energia requerida para a síntese e transporte de material é derivada das mitocôndrias que são abundantes nas células epiteliais durante a fase ativa da secreção dos ductos (Nair *et al.* 1983). As células com pequenos vacúolos preenchidos por material osmiofílico e com núcleo e nucléolo centrais estão em um estágio secretor diferente do supracitado e as células epidérmicas ocupadas por um único vacúolo que preenche toda a célula e restringe o citoplasma à periferia representam um estágio posterior, originado pela coalescência dos pequenos vacúolos observados no estágio anterior. Por fim, as células com citoplasma escurecido podem estar em

senescência. Citoplasma escuro foi notado por Joel e Fahn (1980a) como um fenômeno associado à degeneração celular.

Os vacúolos contendo fragmentos celulares observados nas células epidérmicas do disco do fruto de *T. guianensis* têm sido interpretados como vacúolos autofágicos por Matile (1978), Hall *et al.* (1981) e Monteiro (1986) e os corpos multivesiculares visualizados nas células deste mesmo disco já foram descritos para outros tipos de estruturas secretoras (Rachmilevitz & Fahn 1973, Fahn & Benouaiche 1979), e podem estar relacionados ao sistema endossômico/lisossômico, contribuindo para a reciclagem de diferentes compartimentos de membranas citoplasmáticas (Hall *et al.* 1981).

Pela análise histoquímica e ultra-estrutural, pode-se concluir que as células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular do fruto de *T. guianensis* produzem substâncias lipofílicas. Estas mesmas substâncias também foram detectadas histoquimicamente na secreção das células do disco das flores desta mesma espécie (capítulo 5).

Os plastídios podem estar associados com a síntese e armazenamento de diferentes substâncias e o aspecto destes varia dependendo na natureza do material secretado e da fase secretora (Fahn 1979, 1988). Tuner e Croteau (2004) por meio de imunocitoquímica conseguiram identificar as enzimas responsáveis pela produção de monoterpenos não só nos plastídios como em outras organelas presentes nas células secretoras estudadas; e estabeleceram neste trabalho algumas relações entre os plastídios e outras organelas na produção de monoterpenos. Nas células epidérmicas e subepidérmicas detectou-se a presença de plastídios de formato oval ou alongado com inclusões osmiofílicas, sugerindo que esta organela tenha um papel na atividade secretora. Nas células secretoras de substâncias lipofílicas, a característica ultra-estrutural mais comum é a ocorrência de material osmiofílico nos plastídios (Fahn 1988; Duke & Paul, 1993; Sacchetti *et al.* 1996, Monteiro *et al.* 1998). Os plastídios têm sido descritos como possíveis sítios da síntese de lipídios de muitos sistemas secretores, incluindo células oleíferas, ductos resiníferos e tricomas glandulares (Vermeer & Peterson 1979).

Como em muitas células produtoras de material lipofílico, os plastídios do disco de *T. guianensis* são encontrados parcialmente ou completamente envolvidos por retículo endoplasmático, denominado de retículo endoplasmático periplastidial (Fahn & Evert 1974, Fahn & Benayoun 1976, Joel & Fahn 1980b, Bosabalidis & Tsekos 1982 a, Heirich & Schultze 1985, Pedro *et al.* 1991, Bhatt e Mohan Ram 1992, Ascensão *et al.* 1997, Fahn & Shimony 1998, Machado *et al.* 2006, capítulo 7). Bhatt e Mohan Ram (1992) sugerem que o retículo periplastidial encontrado em muitos plastídios de células epiteliais de ductos secretores é responsável pela translocação do material secretado para o espaço periplasmático e posteriormente para o lúmen.

Pequenas gotas elétron-densas foram observadas no interior das mitocôndrias das células epidérmicas do disco de *T. guianensis*. Material osmiofílico também foi observado em mitocôndrias, complexos de Golgi e envelope nuclear de células secretoras de outras espécies (Vassilyev, 1970; Fahn & Evert 1974, Fahn & Benayoun 1976, Joel & Fahn 1980b, Fahn & Shimony 1998). A produção de material lipofílico no citoplasma foi sugerida nas glândulas do cálice de *Plumbago capensis* Thumb. (Rachmilevitz & Joel 1976) e em glândulas de óleo de *Origanum dictamnus* L. (Bosabalidis & Tsekos 1982b).

Segundo Fahn (2000), a ocorrência de gotas osmiofílicas em diferentes organelas em uma mesma célula secretora permite três possíveis interpretações sobre os sítios da síntese de material lipofílico: (1) cada organela na qual o material osmiofílico ocorre é capaz de sintetizar, independentemente, todos os componentes do óleo ou da resina sintetizados; (2) há muitos passos na síntese do óleo essencial ou da resina e cada um é realizado em uma organela específica; e (3) diferentes componentes são sintetizados por diferentes organelas. Em células epiteliais dos ductos secretores de *Mangifera indica* L., as gotas lipofílicas associadas aos dictiossomas são menos osmiofílicas que as dos plastídios e do retículo endoplasmático e ambos os tipos de gotas são encontrados fora da membrana celular, desta forma, Joel e Fahn (1980b) sugeriram que a terceira interpretação seja a mais provável neste caso. Em células secretoras do disco de *T. guianensis*, as

gotas osmiofilicas só foram encontradas associadas aos plastídios e as mitocôndrias; possuem semelhante opacidade mas diferentes tamanhos; baseado nisto, podemos sugerir que estas duas organelas estão envolvidas na produção dos compostos lipofílicos. Não há indícios suficientes para inferir qual das hipóteses levantadas por Fahn (2000) sobre as organelas e a síntese de material lipídico seria a mais aplicável neste caso

A respeito do retículo endoplasmático, elementos de retículo endoplasmático liso freqüentemente ocorrem no citoplasma de células secretoras de material lipofílico (Amelunxen & Arbeiter 1967, Schnepf 1972, Joel & Fahn 1980b, Danilova & Kashina 1987, Pedro *et al.* 1991); porém, apenas retículo endoplasmático rugoso pôde ser observado no citoplasma das células secretoras do disco de *T. guianensis*.

Em *T. guianensis*, o citoplasma das células secretoras do disco contém um número abundante de ribossomos livres, revelando a presença de maquinaria de síntese protéica. Nesta espécie, a grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso (RER) presente no citoplasma das células secretoras poderia também atuar no processo de formação do material protéico por estas células. O RER, segundo Baht & Mohan Ram (1992) é uma fonte bem conhecida de proteínas e fosfolipídios e para Pridgeon & Stern (1983) este é o responsável tanto pela síntese como pelo transporte das substâncias nos osmóforos de *Restrepia*. Bath & Mohan Ram, (1992) também sugeriram que o RER poderia estar envolvido no processo de formação da goma-resina dos ductos secretores de *Semecarpus anacardium* L.

Complexo de Golgi e vesículas translúcidas podem estar relacionados à produção dos componentes hidrofílicos da secreção (Findlay 1988, Meyberg 1988, Figueiredo & Pais 1992, Jian *et al.* 1997, Machado *et al.* 2006) bem como envolvidos na glicosilação dos compostos, especialmente alguns componentes tóxicos dos óleos essenciais (Venkaiah 1992, Figueiredo & Pais 1994). Desta forma, pode-se sugerir que os complexos de Golgi estariam fazendo a glicosilação de

compostos lipofílicos produzidos pelas células secretoras do disco de *T. guianensis*, uma vez que, compostos hidrofílicos não foram detectados histoquimicamente neste trabalho.

Gotas elétron-opacas dispersas no citoplasma foram observadas em algumas células epidérmicas do disco estudado, o que sugere a presença de mais de um tipo de substância lipídica na secreção destas células.

Para os frutos de Anacardiaceae, além dos idioblastos, canais e cavidades secretoras estão descritos apenas tricomas glandulares em *Rhus glabra* (Judd et al. 1999) e nectários extraflorais em *Anacardium occidentale* (Wunnachit et al. 1992 e Rickson & Rickson 1998). Rickson & Rickson (1998) observaram inúmeros estômatos abertos e gotas de material secretado em uma região específica dos frutos de *A. occidentale*, em apenas um determinado estágio de desenvolvimento destes. Estes mesmos autores verificaram inúmeras formigas forrageando esta região específica dos frutos e sugeriram que estas são atraídas pela secreção de néctar liberada pelos estômatos abertos; porém, não foi realizado nenhum estudo químico ou histoquímico que comprove que a secreção liberada por estes frutos seja néctar.

Glândulas secretoras foram reportadas por Morellato & Oliveira (1994) em frutos de *Guarea macrophylla* (Meliaceae). Segundo estes autores, estas glândulas são nectaríferas e este seria o primeiro registro para nectários extraflorais em frutos de uma espécie da Ordem Sapindales, a mesma ordem que agrega a família Anacardiaceae. Outros pesquisadores sugerem que glândulas nectaríferas ocorrem em frutos de muitas espécies de Bignoniaceae (Elias & Prance 1978). No estudo realizado para a espécie *Guarea macrophylla*, bem como, em muitos outros estudos de glândulas presentes em frutos, apenas a caracterização estrutural é realizada em microscopia óptica, não sendo determinada a composição da secreção (Morellato & Oliveira, 1993, Elias & Prance 1978). Desta forma, muitas vezes os nectários extraflorais aos quais os autores se referem podem ser glândulas lipídicas, como o observado em *Passiflora foetida* (Bertol.) Mast. Durkee et al. (1984) e no fruto de *T. guianensis*. Várias plantas tropicais possuem estruturas especializadas análogas a

NEFs que atraem formigas para a sua defesa, como por exemplo, em *Macaranga* e *Ochroma*, cujas estruturas secretoras produzem lipídios, e *Acacia* e *Piper* que produzem proteínas e lipídios (Buckley 1982). Como não foi observada a presença de formigas forrageadoras no disco do fruto de *T. guianensis* pode-se apenas inferir que os compostos lipofílicos produzidos por este disco estejam envolvidos na defesa química dos frutos aumentando o potencial reprodutivo desta espécie, pois estas substâncias são tóxicas, antibióticas, dissuasivas de herbivoria e oviposição (Nishida 2002).

Referências bibliográficas

- AMELUNXEM, F. & H. ARBEITER., 1967. Untersuchungen an den Spritzdrüsen von *Dictamnus albus* L. Zschr. Pflanzenphys. 58:49-69.
- ASCENSÃO, L., MARQUES, N. & PAIS, M.S., 1997. Peltate glandular trichomes of *Leonotis* leaves; ultrastructure and histochemical cracterization of secretions. Int J Plant Sci 158:249-258.
- BARFORD, A. 1987. Anacardiaceae. In Flora of Ecuador.eds Harling, G. & Anderson, L., No 30, Berlings, Arlov.
- BARFORD, A. & HOLM-NIELSEN, L.B. 1986. Two new Anacardiaceae from Ecuador. Nord. J. Bot. 6:423-426.
- BHATT, J.R. & MOHAN RAM, H.Y., 1992. Development and ultrastructure of primary secretory ducts in the stem of *Semecarpus anacardium* (Anacardiaceae). IAWA Bulletin 13:173-185.
- BOSABALIDIS, A. & TSEKOS, I., 1982 a. Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* Tem. II. Development of the oil-accumulating central space of the gland and process of active secretion. Protoplasma 112:63-70.
- BOSABALIDIS, A. & TSEKOS, I., 1982 b. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. Planta 156:496-504.

- BUCKLEY, R.C. 1982. Ant-plant interactions in Australia. Dr W. Junk Publishers, The Hague-Boston-London.
- CAIN, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. Quarterly Journal of Microscopical Science 88:383-392.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2000. Estrutura do pericarpo e da semente de *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae) com notas taxonômicas. Revista brasileira de Botânica 23:87-96.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2002. Ontogeny and Structures of the Pericarp of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Brazilian Archives of Biology and Technology 45:73-79.
- CORNER, E.J.H., 1976. The seeds of Dicotyledons. Cambridge: Cambridge University Press, v.2.
- CORRÊA, M.P., 1978. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/ Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v.5.
- DANILOVA, M.F. & KASHINA, T.K. 1987. Ultrastructure of glandular scales in *Perilla ocymoides* (Lamiaceae) in connection with their possible involvement in the synthesis of steroid hormones and gibberellins. Botanicheskii Zhurnal SSSR 72:427-435.
- DUKE, S.O. & PAUL, R.N. 1993. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. International Journal of Plant Sciences 154:107-118.
- DURKEE, L.T.; BAIRD C.W. & COHEN, P.F. 1984. Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae). American Journal of Botany 71:596-602.
- ELIAS, T. S. & PRANCE, G.T., 1978. Nectaries on the fruit of *Crescentia* and other Bignoniaceae. Brittonia. 30(2): 175-181.

- ENGLER, A., 1892. Anacardiaceae. In: ENGLER, A & PRANTL, K (Eds). Die Naturlichen Pflanzenfamilien. Leipzig: Englemann, 3: 138-178.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press Inc., London.
- FAHN, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. New Phytol. 108: 229-257.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. Advances in Botanical Researchs 31:37-75.
- FAHN, A. & BENAYOUN J., 1976. Ultrastructure of resin ducts in *Pinus halepensis*. Development, possible sites of resin synthesis, and mode of elimination from de protoplast. Ann. Bot. 40:857-863.
- FAHN, A. & BENOUAICHE, P. 1979. Ultrastructure, development and secretion in the nectary of banana flowers. Ann.Bot. (London) 37:1-9.
- FAHN, A. & EVERT, R.F., 1974. Ultrastructure of secretory ducts of *Rhus glabra* L. American Journal of Botany 61:1-14.
- FAHN, A. & SHIMONY, C. 1998. Ultrastructure and secretion of secretory cells of two species of *Fagonia* L. (Zygophyllaceae). Annals of Botany 81:557-565.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. American Journal of Botany 55:123-142.
- FIGUEIREDO A.C.S., PAIS M.S. 1992. Ultrastructural aspects of the nectary spur of *Limodorum abortivum* (L) Sw. (Orchidaceae). Annals of Botany 70:325-331.
- FIGUEIREDO, A.C. & PAIS, M.S. 1994. Ultrastructural aspects of glandular cells from the secretory trichomes and from the cell suspension cultures of *Achillea millefolium* L. ssp. Millefolium. Annals of Botany 74:179-190.

- FINDLAY, N. 1988. Nectaries and other glands. In: Baker D, Hall J, eds. Solute transport in plant cells. New York: Longman Scientific and Technical, 538–560.
- GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969, 1970. Histologie normale et pathologique. v. 1 e 2, Gauthier – Villars, Paris.
- GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38:125-174.
- HARADA, M., 1937. On the distribution and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. *Botanical Magazine* 51: 846-56.
- HAYWARD, H.E. 1938. The structure of economic plants. Macmillan Co., New York.
- HALL, J.L., FLOWERA, T.J. & ROBERTS, R.M. 1981. Plant cell structure and metabolism. Longman Group Limited, London.
- HEINRICH, G. & SCHULTZE, W., 1985. Composition and site of biosynthesis of the essential oil in fruits of *Phellodendron amurense* Rupr. (Rutaceae). *Isr. J. Bot.* 34:205-217.
- HIGH, O.B. 1984. Lipid histochemistry. Oxford University Press, New York.
- HYDE, B.B. 1970. Mucilage-producing cells in the seed coat of *Plantago ovata*: developmental fine structure. *American Journal of Botany* 57:1197-1206.
- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- JIAN, Z., ZHENG-HAI, H., MULLER, M. 1997. Ultrastructure of the floral nectary of *Arabidopsis thaliana* L. prepared from high pressure freezing and freeze substitution. *Acta Botanica Sinica* 39:289–295.

- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980a. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). I. Differentiation and senescence of the shoot ducts. *Annals of Botany* 46:225-33.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980b. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). II. Resin secretion in the primary stem ducts. *Annals of Botany* 46: 779-783.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980c. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). III. Secretion of protein- polysaccharide mucilage in fruit. *Annals of Botany* 46: 785-790.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book, New York.
- JORDAN, M.S. & HAYDEN, W.J. 1992 A survey of mucilaginous testa in *Chamaesyce*. *Collectanea Botanica* 21:79-89.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.S. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LOZANO, N.B. 1986. Desarrollo y Anatomía del fruto del jobo (*Spondias mombin* L.). *Caldasia* XIV (68-70): 465-490.
- MABBERLEY, D.J. 1997. *The plant-book*. 2 ed. Cambridge University Press, New York.
- MACHADO, S.R., GERGORIO, E.A. & GUIMARÃES, E. 2006. Ovary Peltate Trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): Developmental Ultrastructure and Secretion in Relation to Function. *Annals of Botany* 97:357-369.
- MATILE, P.H. 1978. Biochemistry and function of vacuoles. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29:193-213.
- MEYBERG, M. 1988. Cytochemistry and ultrastructure of the mucilage secreting trichomes of *Nymphoides peltata* (Menyanthaceae). *Annals of Botany* 62:537-548.

- MONTEIRO, W.R. 1986. Estruturas secretoras da folha de *Porophyllum lanceolatum* DC (Asteraceae): estudos morfológicos, histoquímicos e ultra-estruturais. Livre docência, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MONTEIRO, W.R., FAHN, A., CALDEIRA, W. & CASTRO, M.M. 1998. Ultrastructural observations on the foliar secretory cavities of *Porophyllum lanceolatum* DC. (Asteraceae). *Flora* 194:113-126.
- MORELLATO, L.P.C. & OLIVEIRA, P.S. 1994. Extrafloral nectaries in the tropical tree *Guarea macrophylla* (Meliaceae). *Can. J. Bot.* 72:157-160.
- NAIR, G.M., VENKAIAH, K. & SHAH, J.J. 1983. Ultrastructure of gum-resin ducts in cashew (*Anacardium occidentale*). *Annals of Botany* 51:297-305.
- NISHIDA, R. 2002. Sequestration of defensive substances from plants by lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 47:57-92.
- NETOLITZKY, F., 1924. Anatomie der Angiosperm-samen. In: LINSBAUER, K. (ed) *Handbuch der planzenanatomie*. Berlin: Gebrüder Borntraeger. v.10.
- PAULA, J.E. & ALVES, J.L.H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Bth, Ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). *Acta Amazônica* 3:39-53.
- PAULA, J.E. & HERINGER, P.E. 1978. Estudo anatômico do fruto *Anacardium curatellifolium* St. Hil. Com vistas a sua forma e as bolsas oleíferas. *Brasil Florestal* 8:33-39.
- PEARSE, A.G.E. 1985. *Histochemistry theoretical and applies*. v. 2, C. Livingstone, Edinburg.
- PEDRO, L., CAMPOS, P. & PAIS, M.S.S. 1991. Ultrastructure of the apical cell of procumbent (Type I) trichomes in *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae). *Israel Journal of Botany* 40:209-217.
- PEREIRA, A.P., 1982. Ensaios em viveiro florestal e frutificação de algumas espécies amazônicas. *Silvicultura em São Paulo* 16:1135-1138.

- PIENAAR, M.E. & VON TEICHMAN, I. 1998. The generic position of *Lithraea brasiliensis* Marchand (Anacardiaceae) evidence from fruit and seed structure. Botanical Journal of the Linnean Society 126:327-337.
- PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. 1973. Mayer's tannic acid- ferric cholride stain for mucins. Journal of Histochemistry and Cytochemistry 21:56-64.
- PRIDGEON, A.M. & STERN, W.L., 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orechidaceae). Amer. J. Bot. 70:208-212.
- RACHMILEVITZ, T. & FAHN, A. 1973. Ultrastructure of nectaries of *Vinca rosea* L., *Vinca major* L. and *Citrus sinensis* Osbeck cv. Valencia ad its relation to the mechanism of nectar secretion. Annals of Botany 37:1-9.
- RACHMILEVITZ, T. & JOEL, D.M. 1976. Ultrastructure of the calyx glands of *Plumbago capensis* Thunb. In relation to the process of secretion. Annals of Botany 25:127-139.
- REYNOLDS, E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron- opaque stain in electron microscopy. Journal of Cell Biology 17:208-212.
- ROTH, I. 1977. Fruits of Angiosperms; encyclopedia of plant anatomy. Berlin: Gebrüder Borntraeger, v.10.
- RICKSON, F.R. & RICKSON, M.M. 1998. The cashew nut, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), and its perennial association with ants: extrafloral nectary location and the potential for ant defense. American Journal of Botany 85:835-849.
- SACCHETTI, G., BRUNI, A., DALL'OLIO, G., NICOLETTI, M., DI FABIO, A. & POLI, F. 1996. Development and morphology of secretory trichomes of *Calceolaria volckmanni* (Scrophulariaceae). Nordic Journal of Botany 16:505-513.
- SCHNEPF, E. 1972. Tubulares endoplasmatisches Reticulum in Drüsen mit lipophilen Ausscheidungen von *Ficus*, *Ledun* und *Salvia*. Biochemie und Physiologie der Pflanzen 163:113-125.

- SCHOENBERG, M.M. & HOFMEISTER, R.M. 1986 A epiderme de semente em *Cuphea calophylla* ssp *mesostemon* (Koehne) Lourt. Estudos de Biologia 1:3-10.
- TURNER G.W. & CROTEAU R. 2004. Organization of monoterpene biosynthesis in *Mentha*. Immunocytochemical localizations of geranyl diphosphate synthase, limonene-6-hydroxylase, isopiperitenol dehydrogenase and pulegone reductase. Plant Physiology 136:4215-4227.
- VASSILYEV, A.E. 1970. On the localization of terpenoids synthesis in plant cells. Rastitel'nye Resursy 6:29-45.
- VENKALAH, K. 1992. Development, ultrastructure and secretion of gum ducts in *Lannea coromandelica* (Hout) Merrill (Anacardiaceae). Annals of Botany 69:449-457.
- VERMEER, J. & PETERSON, R.L. 1979. Glandular trichomes on the inflorescence of *Chrysanthemum morifolium* cv. Dramatic (Compositae). II. Ultrastructure and histochemistry. Can. J. Bot. 57:714-729.
- VON TEICHMAN, I. 1987. Development and structure of the pericarp of *Lannea discolor* (Sonder) Engl. (Anacardiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 95:125-135.
- VON TEICHMAN, I. 1990. Pericarp and seed coat structure in *Tapirira guianensis* (Spondiadeae: Anacardiaceae). S. Afr. J. Bot. 56:435-439.
- VON TEICHMAN, I. 1998. Micromorphological structure of the fruit and sees of *Smodingium argutum* (Anacardiaceae), as an adaptation to its natural habitat. S. Afr. J. Bot. 64:121-127.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A. E. 1991. Taxonomic position of *Rhus problematodes* (Anacardiaceae): Evidence from fruit and seed structure. S. Afr. J. Bot. 57:29-33.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1994. The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae) - evidence from fruit structure. Annals of Botany 73:175-184.

- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1996. Taxonomic significance of pericarp and seed structure in *Heeria argentea* (Thunb) Meisn (Anacardiaceae), including reference pachychalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* 122:335-352.
- WANNAN, B. S. & QUINN, C. J. 1991. Floral structure and evolution in the Anacardiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 107:349-385.
- WATSON, M. L., 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 4:475.
- WUNNACHIT, W., JENNER, C.F. & SEDGLEY, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale*. (Anacardiaceae): An andromonoecious species. *International Journal of Plant Science* 153:413-420.

Tabela 1. Testes histoquímicos em frutos de *Tapirira guianensis* Aubl.

Tratamento	Substância a ser evidenciada	Coloração (resultado positivo)	Endocarpo (Fig.)	Gotas de secreção do endocarpo (Fig.)	Disco (Fig.)
PAS	polissacarídeos	rosa a vermelho	++ (8)	++ (9)	-
vermelho derutênio	mucilagens ácidas	rosa a vermelho	++	++	-
ácido tânico/cloreto fêrrico	mucilagem	preto	++ (10)	+ (11)	-
cloreto fêrrico	compostos fenólicos hidrossolúveis	marrom a preto	-	-	-
sulfato azul do Nilo	lipídios ácidos	azul	++ (12)	++ (12, 13)	++ (17)
sulfato azul do Nilo	lipídios neutros	rosa	-	-	-
acetato de cobre/ ácido rubeânico	ácidos graxos	verde-escuro	-	-	++ (18)
cloreto fêrrico	compostos fenólicos lipossolúveis	marrom a preto	-	-	++ (19)

()=figura, +=fraco positivo, ++=positivo, -=negativo.

Figuras 1-5. Elétron-micrografias do fruto e semente de *Tapirira guianensis* Aubl. 1. Fruto jovem com disco glandular persistente (seta). 2. Secção longitudinal do fruto maduro onde se observa o endocarpo, o mesocarpo e a semente presa pelo funículo ao fruto. 3. Canais evidentes no mesocarpo e secreção no endocarpo. 4. Endocarpo com inúmeras gotas de secreção. 5. Funículo da semente com secreção. F=funículo, EN=endocarpo, M=mesocarpo. Barras = 50µm (1-3), 100µm (4-5).

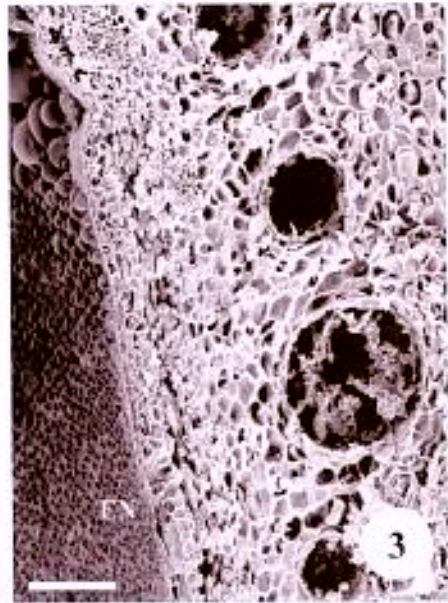
Figuras 6-13. Anatomia e testes histoquímicos em secções longitudinais do endocarpo glandular (6, 8, 10, 12) e semente (7, 9, 11, 13) de *Tapirira guianensis* Aubl. Material fixado em FAA.12-13. Material fixado em FNT. 6-7. Material corado com azul de toluidina. 8-9. Reação PAS.10-11. Teste com ácido tânico e cloreto férrico. 12-13. Teste com sulfato azul do Nilo. Barras= 25µm (6, 8, 10, 12), 30µm (7, 9,13), 50µm (11).

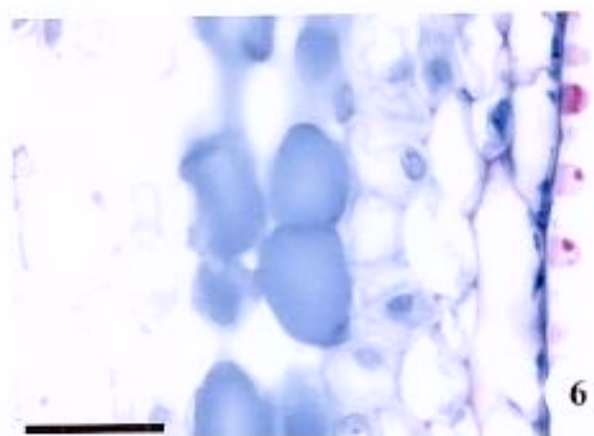
Figuras 14-19. Anatomia e testes histoquímicos do disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis* Aubl. Secção longitudinal. 14-15. Material fixado em FAA. 16-19. Material fixado em FNT. 14-15. Material corado com azul de toluidina. 17-19. Testes histoquímicos. 14. Vista geral do disco glandular; células epidérmicas e subepidérmicas com secreção. 15. Aumento da figura 14. 16. Material sem tratamento histoquímico. 17. Teste com sulfato azul do Nilo. 18. Teste com acetato de cobre e ácido rubeânico. 19. Teste com cloreto férrico. EP=epiderme, SE= células subepidérmicas, seta=cutícula distendida. Barras = 75µm (14), 30µm (15,16,18), 50µm (17), 25µm (18).

Figuras 20-24. Elétron-micrografias do disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis* Aubl. 20-21. Células epidérmicas e subepidérmicas secretoras. 22-24. Célula epidérmica. 22. Célula com núcleo central, vacúolos e mitocôndrias. 23. Célula com núcleo e nucléolo evidentes, vacúolos preenchidos com material osmiofílico e com restos celulares (seta curva) e plastídios (cabeças de seta). 24.

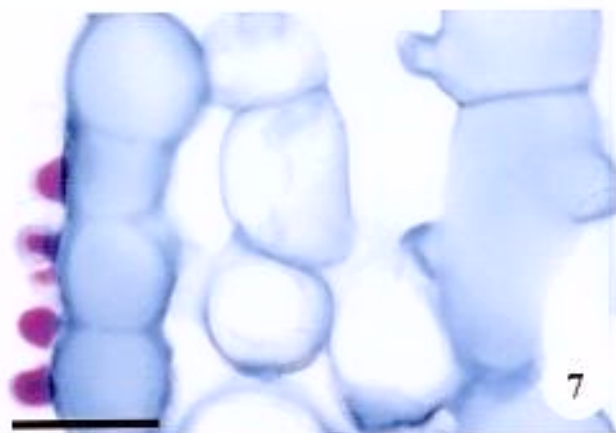
Célula com vacúolo central preenchido com material osmiofilico e citoplasma periférico (seta grossa). E=célula epidérmica; S=célula subepidérmica; M=mitocôndria; N=núcleo; V=vacúolo; MO=material osmiofilico. Aumentos : (5347X) 20, (5232X) 21, (8840X) 22, (6890X) 23, (7022X) 24, (4089X)

Figuras 25-30. Células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis* Aubl. 25,30. Células subepidérmicas. 26-29. Células epidérmicas. 25. Célula com vacúolo central preenchido por secreção elétron-opaca e com citoplasma periférico (seta) com inúmeros plastídios. 26. Complexo de Golgi com vesículas translúcidas. 27. Detalhe da fig. 23 evidenciando plastídios com retículo periplastidial (seta fina) e gotas elétron-densas, mitocôndrias com gotas elétron-densas e complexo de Golgi com vesículas translúcidas. 28. Plastídios com gotas elétron-densas. 29. Detalhe da figura 24 com corpos multivesiculares, retículo endoplasmático rugoso (seta curva) e gota elétron-opaca (seta fina). 30. Plastídios com gotas elétron-opacas e mitocôndria no citoplasma periférico. P=plastídio, G=complexo de Golgi, V=vesículas, M=mitocôndria, N=núcleo, ME=material elétron-opaco, C= corpos multi-vesiculares. Aumentos : 25, (83850X) 26, (43125X) 27, (42000X) 28-29, (16490X) 30.

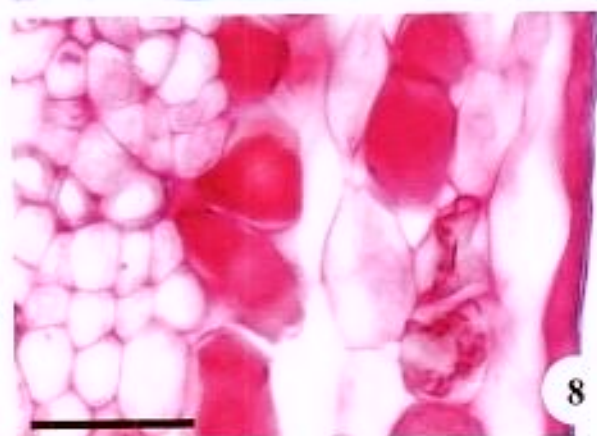




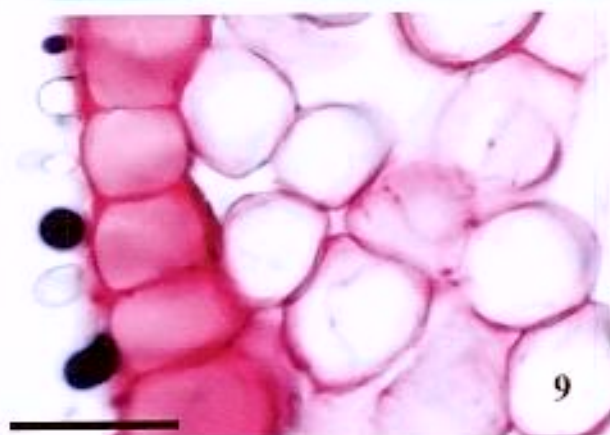
6



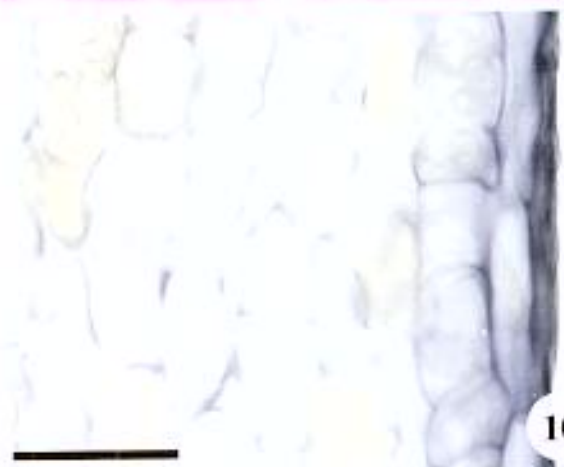
7



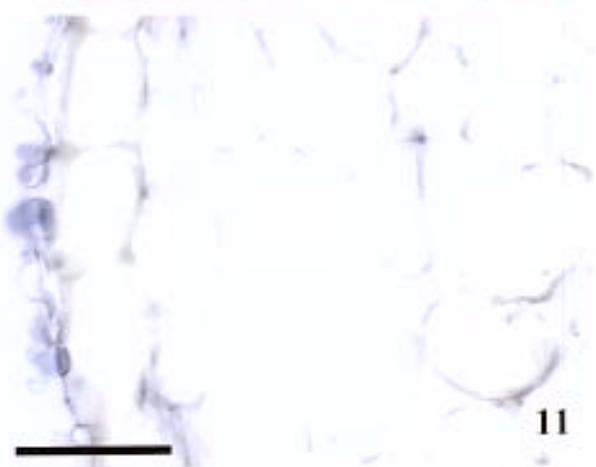
8



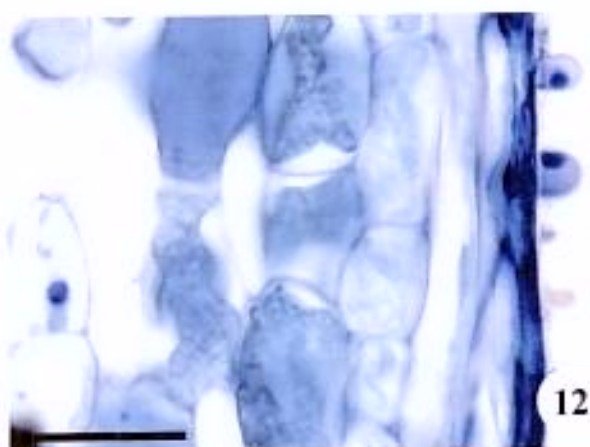
9



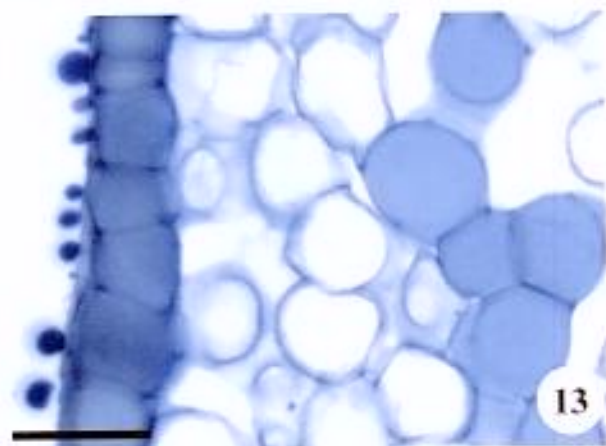
10



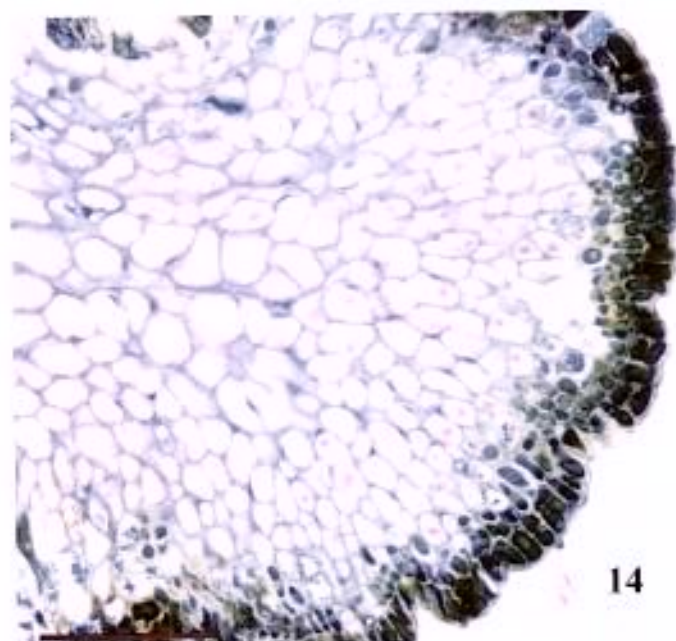
11



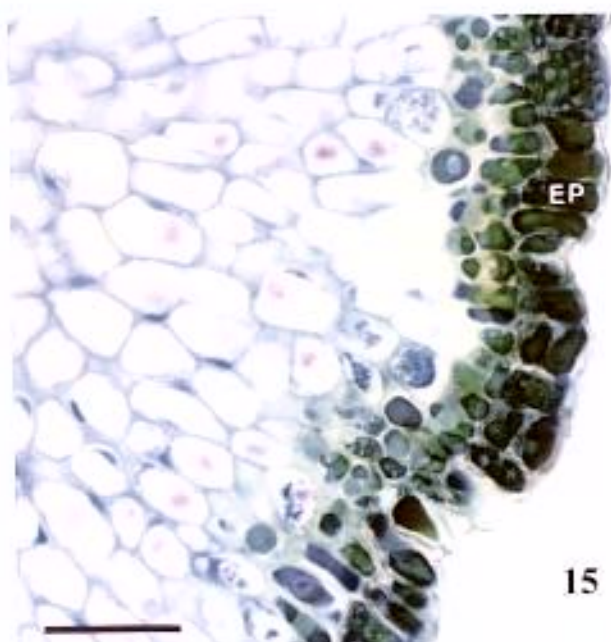
12



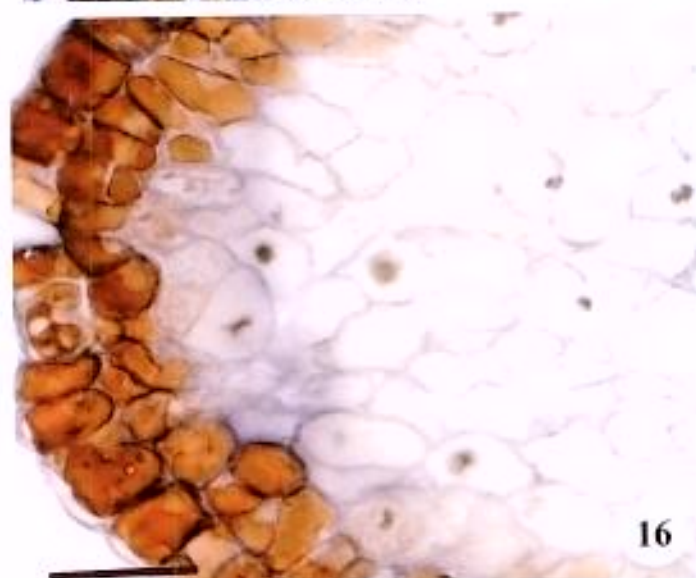
13



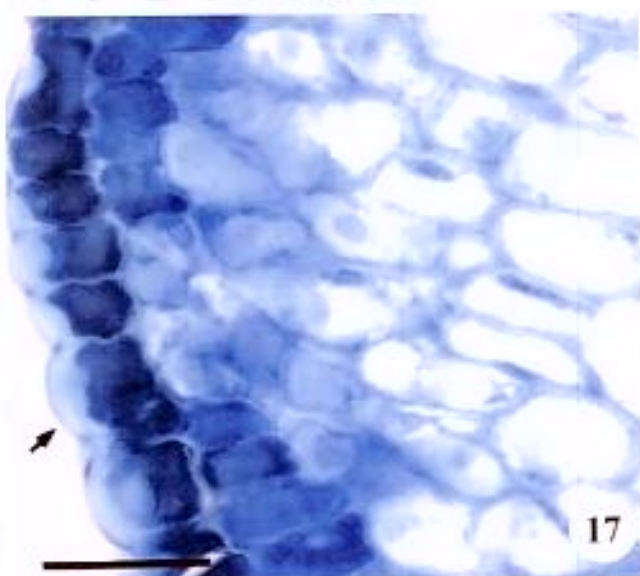
14



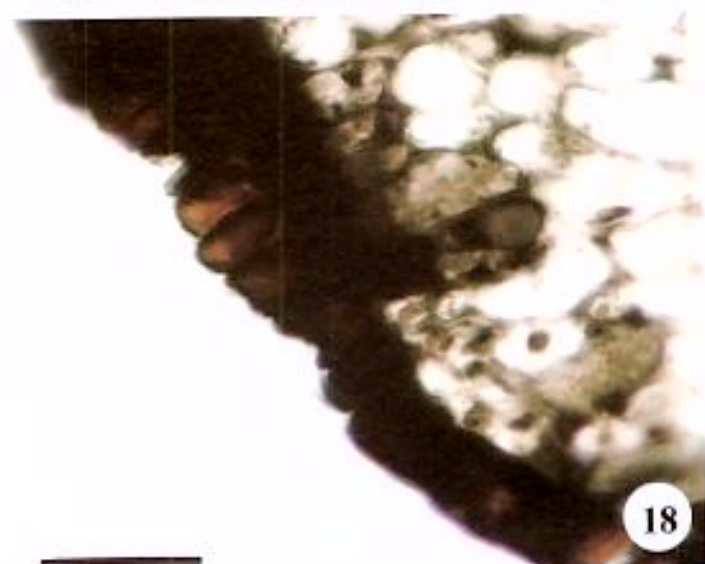
15



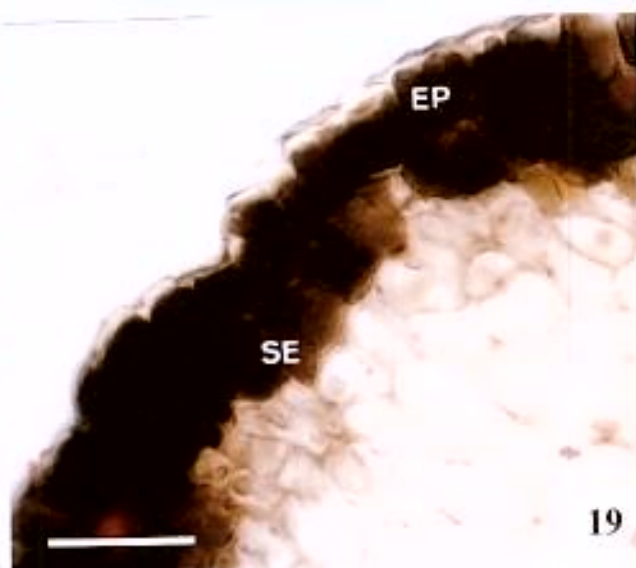
16



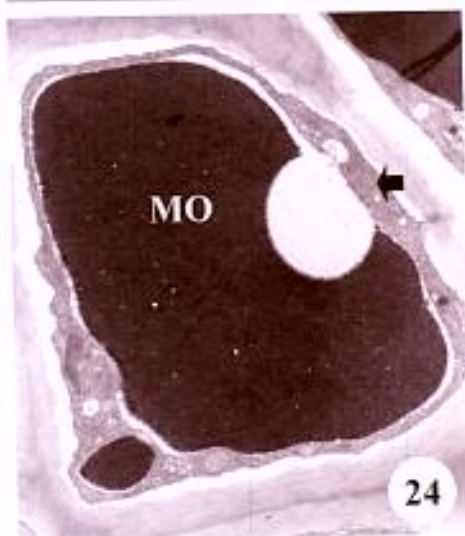
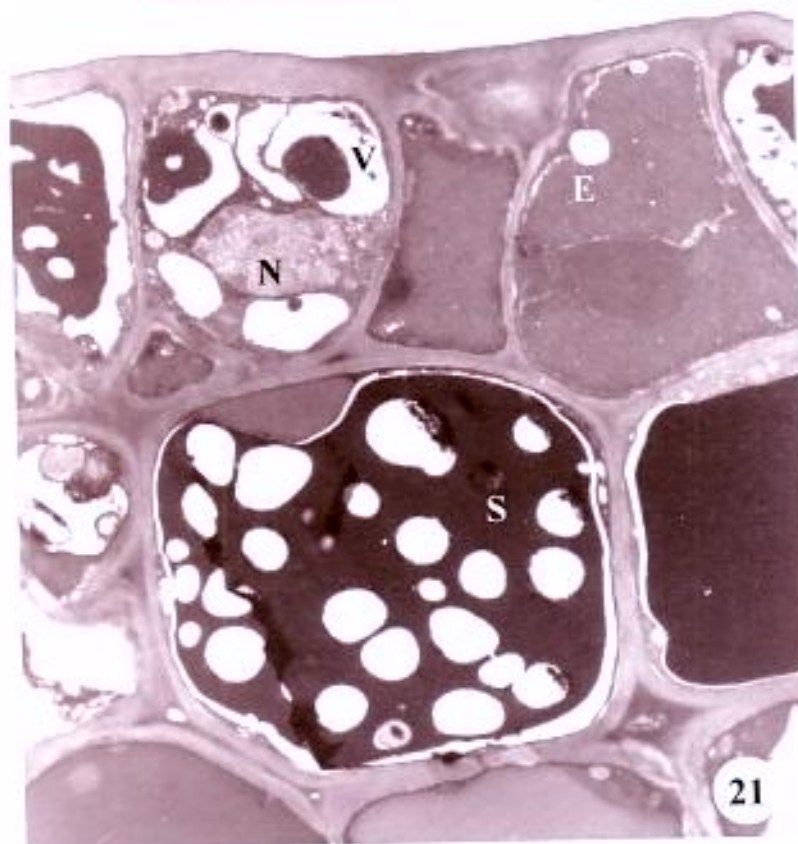
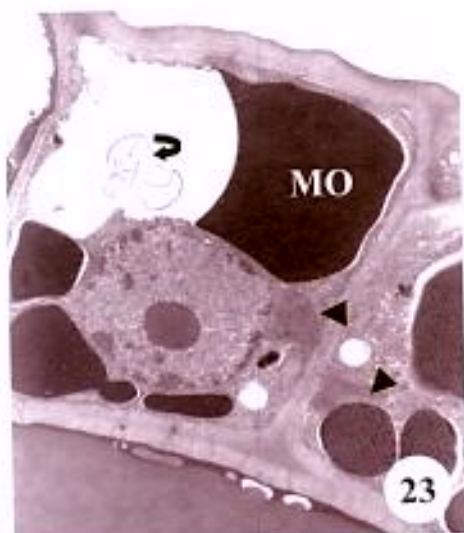
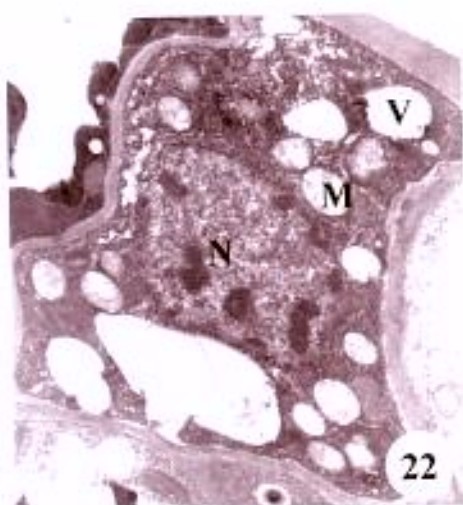
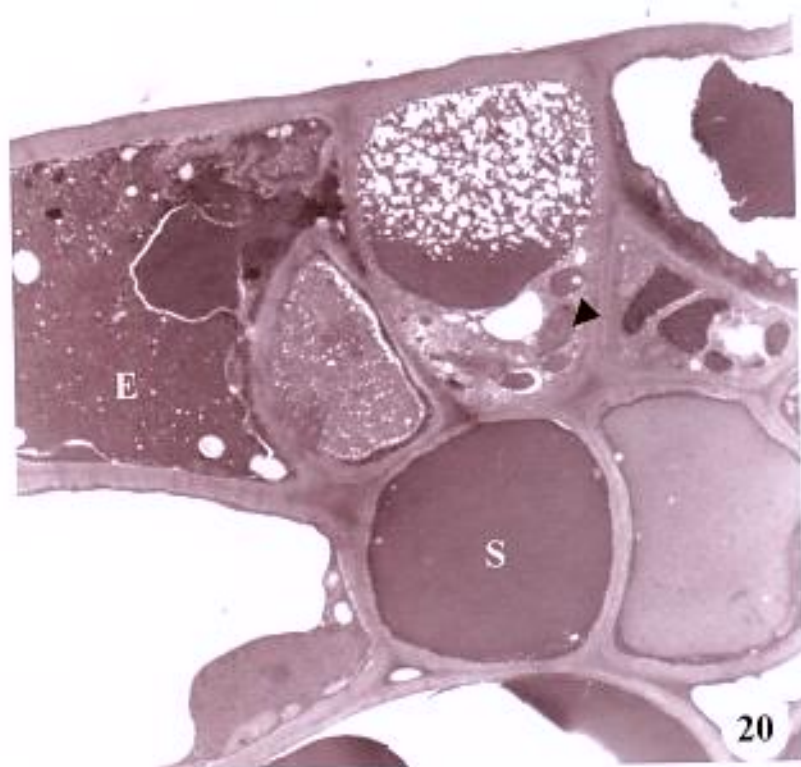
17

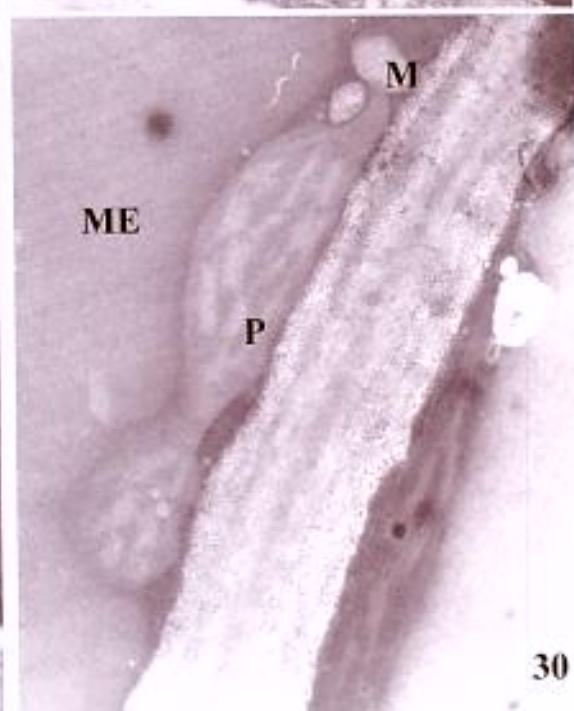
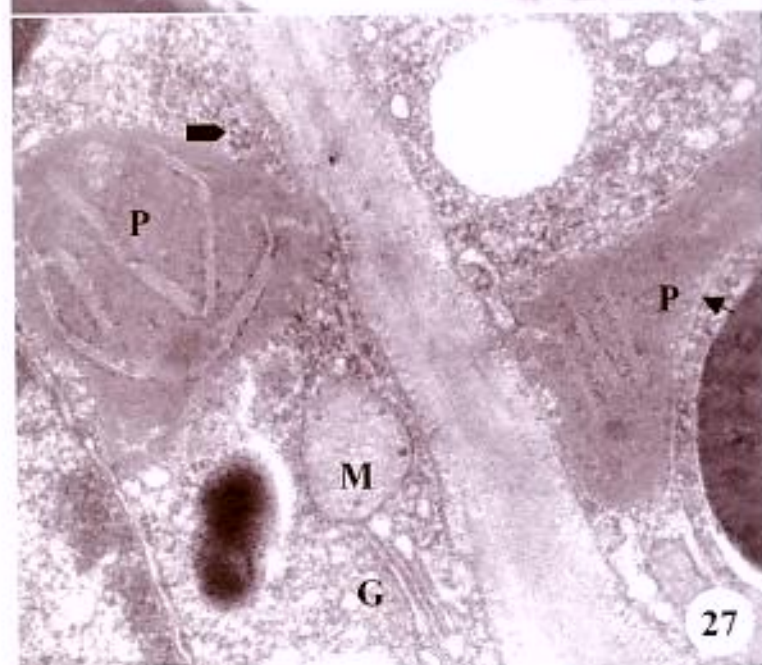
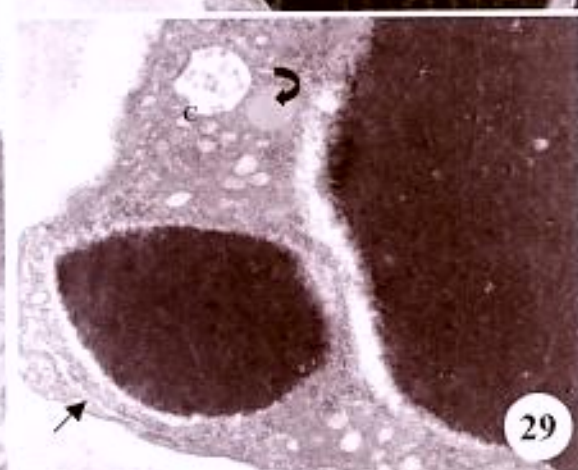
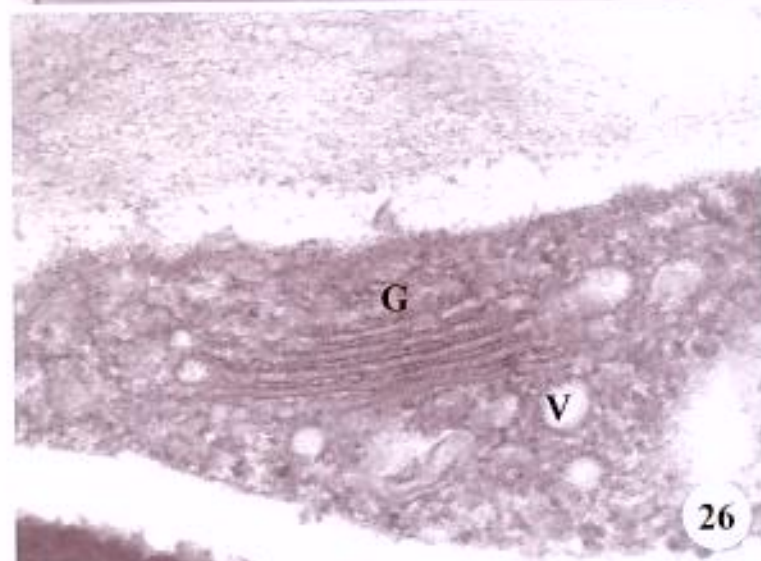
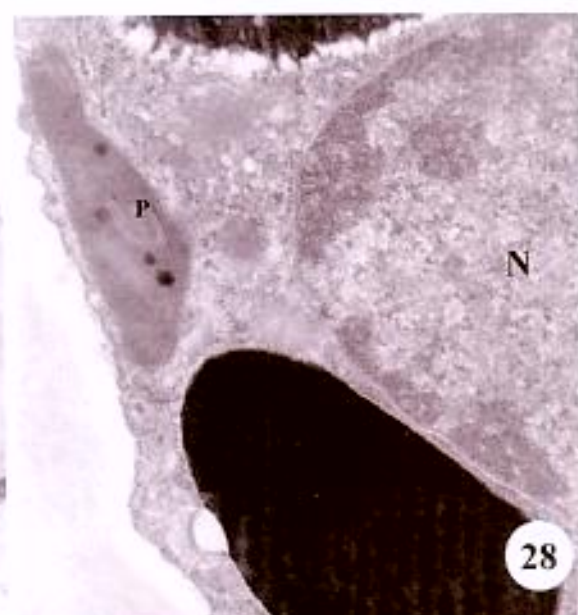
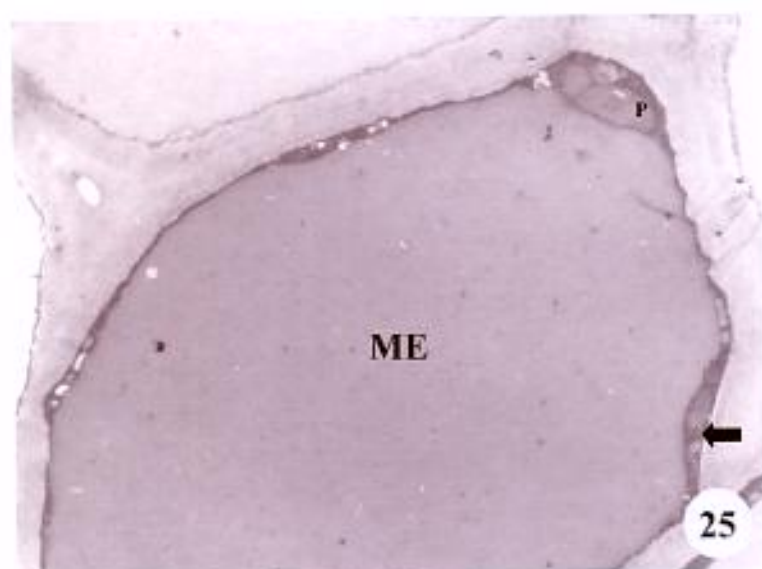


18



19





**Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de
espécies de Anacardiaceae**

ANA LACCHIA^{1,2}, SANDRA MARIA CARMELLO GUERREIRO^{2,3}

Título resumido: Ultra-estrutura dos canais secretores em espécies de Anacardiaceae

-
1. Parte da tese de doutorado de Ana Paula Stechhahn Lacchia, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.
 2. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.
 3. Autor para correspondência: smcg@unicamp.br

Resumo

(Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae). Neste trabalho foi estudado o modo de formação dos canais florais de *Tapirira guianensis* Aubl, e as características ultra-estruturais das células epiteliais dos canais secretores associados ao floema dos ápices caulinares de *Spondias dulcis* G. Forst e *T. guianensis* e das flores e frutos de *Anacardium humile* St-Hil. e de *T. guianensis*. Os canais secretores florais estudados desenvolvem-se de forma esquizógena e as células epiteliais dos canais secretores de *S. dulcis* e *T. guianensis* possuem características de células secretoras como citoplasma denso e rico em organelas (plastídios, ribossomos livres, retículo endoplasmático e Complexo de Golgi). No protoplasto das células epiteliais dos frutos de *A. humile* plastídios, vesículas, vacúolos e gotas elétron-opacas foram observados.

Introdução

A família Anacardiaceae está incluída na Ordem Sapindales (Engler, 1964) é composta por 60 a 80 gêneros com aproximadamente 600 espécies, principalmente de distribuição pantropical, com poucas de regiões temperadas (Cronquist, 1981). Esta família está dividida em cinco tribos, sendo que no Brasil estão representadas as tribos Anacardiëae, Rhoëae e Spondiadeae (Falcão, 1966).

A peculiaridade anatômica marcante das Anacardiaceae é a presença de canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos (Metcalf & Chalk, 1950, Pell 2004), nos órgãos vegetativos podem ser encontrados, dependendo da planta, no floema primário e secundário

A formação e a estrutura dos canais em Anacardiaceae foi descrita por muitos autores (Harada 1937, Venning 1948, Paula & Alves 1973, Fahn & Evert 1974, Joel & Fahn 1980 b, c, Nair *et al.*, 1983, Carmello *et al.* 1995, Machado & Carmello-Guerreiro, 2001).

O modo de formação dos canais em diferentes espécies e órgãos desta família é amplamente variado (Carmello *et al.* 1995). Os cientistas, freqüentemente, sustentam idéias contraditórias a respeito da formação do lume dos canais, os modos de formação mais freqüentes são: o modo lisígeno, o esquizógeno e o esquizolisígeno (Fahn 1979).

As células secretoras são altamente especializadas e estão envolvidas em processo de síntese, liberação e reabsorção de materiais, eventos estes acompanhados por uma série de modificações bioquímicas e ultra-estruturais. Estudos detalhados incluindo-se ontogênese, estrutura, histoquímica e ultra-estrutura constituem em cada caso, importantes auxílios, pois fornecem dados relacionados com várias transformações bioquímicas e morfo-ultra-estruturais (Fahn 1979; Joel & Fahn 1980 a,b,c; Monteiro 1986; Castro 1987; Monteiro *et al.* 1995; Carmello *et al.* 1995).

Anacardium humile St.Hil.e *Spondias dulcis* G. Forst são importantes membros desta família tanto por serem usadas na medicina popular (Correa 1926, Lorenze & Matos 2002) quanto por

serem utilizados na alimentação e fabricação de doces e bebidas (Correa 1926). *Tapirira guianensis* é uma espécie amplamente distribuída em terras baixas do Panamá ao Brasil e Peru (Barfod 1987) e é popularmente conhecida no Brasil como peito-de-pombo, fruta-de-pombo, pau-pombo, pombeiro entre outros nomes, com frutos muito procurados por aves em especial por papagaios, periquitos e pombos silvestres (Corrêa 1978).

A ultra-estrutura dos canais secretores destas espécies não foi estudada anteriormente. O objetivo do presente trabalho é caracterizar ultra-estruturalmente as células epiteliais dos canais secretores relacionando as organelas encontradas com a natureza da secreção detectada previamente (capítulos 1 e 2).

Material e Métodos

Material

Ápices caulinares com primórdios foliares medindo até 0,5 mm e folhas jovens medindo até 0,8 mm de comprimento, flores pistiladas e frutos de *Tapirira guianensis* Aubl e flores hermafroditas e frutos de *Anacardium humile* St.Hil foram coletados em três áreas de cerrado do estado de São Paulo (SP): Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, Fazenda Palmeira da Serra em Pratânia e distrito de Rubião Júnior em Botucatu. Os ápices vegetativos de *Spondias dulcis* G. Forst. foram coletados em um fragmento florestal na Fazenda Santa Eliza (Campinas) (SP): Os ápices foram obtidos de indivíduos masculinos e femininos de *T. guianensis* e de indivíduos femininos de *S. dulcis*. As coletas foram realizadas de setembro de 2002 a dezembro de 2005. Os materiais testemunha foram herborizados e serão incorporados ao Herbário UEC: *A. humile* St.Hil.: BRASIL, SÃO PAULO, Botucatu, 14-IX-2004, *A. Lacchia* 13; Moji Guaçu, 09-IX-2003, *A. Lacchia* 8; 06-X-2004, *A. Lacchia*, 18, 19, 20, 21; *S. dulcis* G. Forst.: BRASIL, SÃO PAULO, Campinas, 15-II-2005, *A. Lacchia* 20, 21, 22; *T. guianensis* Aubl.: BRASIL, SÃO PAULO, Moji Guaçu, 09-XI-2002, *A. Lacchia* 4, 01-V-2003, *A. Lacchia* 7; Pratânia, 03-IX-2002, *A. Lacchia*

1, 23-IX-2002, *A. Lacchia* 2, 13-X-2002, *A. Lacchia* 3, 18-III-2004, *A. Lacchia* 10. O material botânico foi identificado pelo professor Jorge Tamashiro, da Universidade Estadual de Campinas.

Métodos

Microscopia de Luz

Para o estudo estrutural do desenvolvimento dos canais secretores os ápices caulinares de *S. dulcis* foram fixados em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1: 18 v/v) por 24 horas (Johansen 1940) e em FNT (tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) por 48 horas (Lillie 1965). Após esses períodos, o material foi desidratado em série butílica e incluído em "Paraplast". Após a inclusão, o material foi seccionado transversalmente e longitudinalmente com 12 a 14 µm de espessura em micrótomo rotativo Microm HM340E. Para o estudo estrutural, as secções foram coradas com safranina 1% em etanol 50% e azul de astra 1% (Gerlach 1984). Todas as lâminas foram montadas em resina sintética. Em material fixado em FNT, também foi aplicado o tratamento histoquímico preto de Sudão B (Pearse 1985), para detecção de lipídios totais e para facilitar as observações estruturais, que não foram muito satisfatórias com a coloração dupla utilizada.

Microscopia eletrônica de transmissão

Para o estudo da ultra-estrutura do canal secretor os ápices caulinares de *Spondias dulcis* e *Tapirira guianensis*, as flores pistiladas de *T. guianensis* e as hermafroditas de *Anacardium humile*, os frutos de *T. guianensis* e *A. humile* em vários estádios de desenvolvimento foram fragmentados e imediatamente fixados em glutaraldeído 2,5% (tampão fosfato 0,1M, pH 7, 3), pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% (tampão fosfato 0,1M), desidratados em série crescente de solução de acetona e incluídos em araldite. As secções semifinas foram coradas com azul de toluidina a 1% e as secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila (Watson 1958) e citrato de chumbo (Reynolds 1963), recobertas por filme plástico (Formvar) e observadas em microscópio eletrônico de transmissão (Philips E.M. 301). Os aspectos mais relevantes foram registrados por meio de elétron-micrografias.

Resultados

Canais secretores em ápices caulinares de *S. dulcis* e *T. guianensis* (figuras 1-18)

Todos os canais observados em microscopia eletrônica de transmissão já estavam formados e em estado ativo de secreção ou senescentes. Em microscopia óptica, foi possível visualizar alguns canais secretores em início de formação no procâmbio dos ápices caulinares de *S. dulcis*. Nestas observações pode-se identificar que na região procambial, onde ocorre a formação dos canais associados ao floema, as células são grandes e estão dispostas concentricamente (figura 1 e 2). Algumas células passam por divisões em várias direções, para posteriormente se afastarem e formarem o lume do canal (figura 3). Desta forma o canal em formação torna-se mais distinto das células vizinhas. Posteriormente ocorre a lise de algumas células (figura 3) e a desobstrução do lume. Constatamos também a dissolução da lamela média entre as paredes anticlinais das células epiteliais desta espécie, o que acaba por promover a separação destas (figuras 4 e 8).

As células epiteliais dos canais secretores associados ao floema dos ápices caulinares de *S. dulcis* e *T. guianensis* são mais elétron-densas que as células parenquimáticas subjacentes, devido ao citoplasma rico em organelas, da presença de material osmiofílico e dos inúmeros ribossomos livres (figuras 5, 8, 11, 13).

Células epiteliais em diferentes estádios foram observadas em um mesmo canal secretor nas duas espécies estudadas (figuras 10-11). Algumas células epiteliais observadas são arredondadas e suas paredes periclinais voltadas para o lume apresentam contorno sinuoso (figuras 5, 9) e outras estão em estágio senescente, com paredes retas voltadas para o lume, grandes vacúolos e citoplasma periférico (figuras 10-11).

As células epiteliais dos canais secretores de *T. guianensis* apresentam vacúolos de vários tamanhos, que podem conter material elétron-denso (figura 11), material floculado elétron-denso (figura 15, 16), além de gotas elétron-opacas (figura 13 e 14) e figuras de mielina (figura 14). Estas células, bem como as células epiteliais dos canais de *S. dulcis* também apresentam plastídios de

formas variadas (figuras 6, 7, 8, 14, 16), mitocôndrias (figura 6, 8), complexo de Golgi (figuras 8, 15), ribossomos livres (figuras 6, 15) e retículo endoplasmático rugoso (figuras 8, 15). Alguns plastídios podem estar envolvidos por retículo endoplasmático rugoso, aqui denominado de retículo periplastidial (figuras 6,14). Em alguns plastídios das células epiteliais dos canais de *T. guianensis* observa-se a presença de pequenas gotas de material elétron denso (figuras 14 e 16). Nas células epiteliais desta espécie imagens de fusão e divisão de plastídios são comuns (figura 14).

Uma bainha de células com material elétron-denso pôde ser observada em alguns canais das duas espécies estudadas (figuras 5, 11).

Pela análise do material observou-se a presença de material de membrana, os corpos paramurais, no espaço periplasmático das células epiteliais de *T. guianensis* (figura 18).

Em canais de *T. guianensis*, a secreção encontrada no lume dos canais associados ao floema possui aspecto heterogêneo (duas fases), com material elétron-opaco de aspecto homogêneo e material elétron-denso floculado (figura 12).

Na análise em microscopia eletrônica os canais medulares do ápice vegetativo de *T. guianensis* aparecem com uma quantidade muito maior de secreção (figura 17) do que os canais associados ao floema (figura 12). O lume dos canais medulares apresentou uma quantidade muito grande de material homogêneo elétron denso e elétron opaco e de material floculado denso (figura 17).

No estágio final da atividade secretora do canal observou-se que as células epiteliais apresentam um grande vacúolo central como uma fina camada citoplasmática periférica (figura 10).

Canais secretores em órgãos reprodutivos de *T. guianensis* e *A. humile* (figuras 19-33)

Na flor de *T. guianensis*, a indicação da formação dos canais é o aparecimento no centro deles, de um espaço resultante da dissolução da lamela média e da progressiva separação das paredes celulares (figura 19). A dissolução da lamela média e separação das paredes faz com que o espaço intercelular formado possua substâncias floculadas elétron-densas (figura 20). Este material

floculado elétron-denso pode ser provido da dissolução parcial das paredes celulares anticlinais, bem como, da relativa dissolução das paredes periclinais externas (figura 20).

As células arranjadas ao redor deste espaço são células epiteliais do canal secretor e apresentam, nesta fase, citoplasma elétron-denso (figura 19). O citoplasma é rico em ribossomos livres (figura 21), retículo endoplasmático rugoso (figura 20), mitocôndrias (figura 20), vacúolos de diverso tamanhos com material floculado elétron-denso (figura 19) ou com restos de membrana (figura 23) e plastídios com estroma elétron-denso (figura 22-23); alguns destes plastídios são envolvidos parcial ou totalmente pelo retículo retículo periplastidial (figura 22) e podem apresentar gotas mais elétron-densas (figura 23). Gotas elétron densas também podem ser encontradas dispersas no citoplasma de algumas células epiteliais. Nesta fase, as células epiteliais também apresentam complexo de Golgi (figura 20).

Em canais em estágio mais avançado (com lume maior), a secreção preenche todo o lume e pode ser composta por material elétron-opaco de aspecto homogêneo (figura 24) e por material elétron-denso floculado, material elétron-denso de aspecto homogêneo e material elétron-opaco de aspecto homogêneo que contém material fino floculado elétron-denso (figura 25).

Nos canais do fruto de *T. guianensis*, observou-se células epiteliais com grandes vacúolos preenchidos por material elétron-denso (figuras 26-28). Nestas células observou-se também inúmero plastídios de diferentes formatos (figura 28, 29) que podem estar total ou parcialmente envoltos por retículo endoplasmático rugoso (retículo periplastidial). Retículo endoplasmático rugoso e ribossomos também puderam ser observados livres no citoplasma (figura 29).

Nas flores de *A. humile*, os canais observados já estavam em estágio de desenvolvimento final com secreção preenchendo o lume e citoplasma periférico em muitas células epiteliais, impedindo a caracterização ultra-estrutural destes. Nos frutos de *A. humile* pôde-se constatar canais em diferentes fases secretoras; alguns canais possuem células epiteliais com grande vacúolo central, restringindo o citoplasma a periferia celular e outros possuem células epiteliais com citoplasma

denso rico em vesículas, vacúolos e inúmeros plastídios de forma arredondada (figuras 32 e 33). Gotas elétron-opacas também foram observadas dispersas nestas células (figura 32). No lume de alguns canais secretores observou-se secreção de aspecto floculado elétron-denso (figura 32).

Discussão

Formação dos canais secretores

Os canais e cavidades podem ser formados de forma esquizógena, lisígena ou esquizolisígena (Fahn, 1979). A forma de desenvolvimento dos canais pode variar em diferentes órgãos de uma mesma planta ou entre espécies (Carmello *et al.*, 1995).

Diversos modos de formação de canais secretores em Anacardiaceae têm sido reportados. Em *Schinus* (Venning, 1948), *Rhus glabra* L. (Fahn & Evert, 1974), *Anacardium occidentale* L. (Nair *et al.*, 1983), os canais secretores são formados esquizogenamente. Desenvolvimento lisígeno dos canais foi observado nos órgãos florais de *Mangifera indica* L. (Venning, 1948) e em seus ápices e frutos (Joel & Fahn 1980 a, b, c), bem como, em ápices de *Lithraeae molleoides* (Carmello *et al.*, 1995). Siek (1895), Harada (1937), Copeland (1961), Paula & Alves (1973) e Bhatt & Mohan Ram (1992) constataram que em *Anacardium*, *Rhus*, *Cotinus* e *Semecarpus anacardium* L.f. o início de formação dos canais é esquizógena e o desenvolvimento é lisígeno, formando, então, canais tipicamente esquizolisígenos.

Em *S. dulcis* e *T. guianensis* a formação dos canais secretores nos ápices caulinares e o desencadeamento de sua atividade secretora iniciam-se muito cedo, antes mesmo da completa diferenciação dos elementos de condução. Assim, todos os canais observados em microscopia eletrônica de transmissão já estavam formados e em estado ativo de secreção ou senescentes, impedindo a avaliação da dinâmica da formação destes canais secretores. Em *Spondias dulcis* através de microscopia óptica obteve-se indícios de que os canais do floema desenvolvem-se de

forma esquizolisígena, o mesmo fato foi registrado para os canais medulares desta mesma espécie por Venning (1948)

Na flor de *T. guianensis*, os canais secretores começam a se formar ainda no estágio procambial, junto com a formação e diferenciação dos elementos do protoxilema e protofloema. O início da formação dos canais se dá pela lise da lamela média, com conseqüente separação das paredes das células centrais dispostas concentricamente presentes junto às células procambiais no tecido fundamental do ovário, caracterizando o processo como esquizógeno. As células ao redor do espaço formado (lume) tornam-se altamente especializadas em secreção, comprovado pela microscopia eletrônica de transmissão, pela presença de organelas como: RER, ribossomos, mitocôndrias, plastídios e dictiossomos.

A presença de RER bem desenvolvido caracteriza um sistema de síntese de proteínas (Vassilyev & Muravnik, 1988; Jones & Robinson, 1989) e a presença de um complexo de Golgi com inúmeras vesículas sendo formadas, indica que as células epiteliais no estágio inicial de diferenciação dos canais secretam essencialmente glicoproteínas (Vassilyev 1977; Vassilyev & Muravnik 1993).

Em *T. guianensis*, a separação das paredes radiais das células epiteliais no desenvolvimento dos ductos ocorre concomitantemente com o aparecimento dos dictiossomos e do RER. Alguns autores acreditam que as vesículas formadas por estes dictiossomos e pelo RER carregam enzimas líticas para a dissolução da lamela média das paredes radiais das células epiteliais (Venkaiah 1992; Fahn & Benayoun 1976).

Vassilyev (2000) verificou que, embora os plastídios já estejam presentes nas fases iniciais de formação dos canais, a produção de compostos lipídicos é iniciada e potencializada apenas em estádios posteriores de desenvolvimento das células epiteliais.

Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores

Na microscopia óptica pôde-se observar através da análise do ápice caulinar de *T. guianensis* a presença de dois tipos de canais: os canais associados ao floema que seriam formados a partir de células procambiais e os canais medulares que seriam formados a partir do meristema fundamental. Pela análise em microscopia óptica pôde-se observar que o exsudato dos canais medulares é mais homogêneo e abundante do que o exsudato dos canais associados ao floema, da mesma forma, na análise em microscopia eletrônica os canais medulares aparecem com uma quantidade muito maior de secreção. O lume dos canais medulares apresentou uma quantidade muito grande de material homogêneo elétron denso e elétron opaco e de material floculado denso.

Nos canais secretores dos ápices vegetativos de *S. dulcis* e *T. guianensis*, observa-se externamente ao epitélio secretor uma camada de células dipostas radialmente que pode conter material elétron-denso. Segundo Machado & Carmello-Guerreiro (2001), a presença de uma bainha multiestratificada ao redor dos ductos secretores, produzindo novas células epiteliais, possibilita a renovação celular do canal e permite que este se mantenha em atividade secretora durante todo o desenvolvimento do órgão.

Nas células epiteliais dos canais secretores do ápice caulinar de *S. dulcis*, do ápice, da flor e do fruto de *T. guianensis* e do fruto de *A. humile* observou-se plastídios com matriz densa. Em *S. dulcis* e *T. guianensis* os plastídios possuem formas variadas e estão parcial ou totalmente envoltos pelo retículo endoplasmático periplastidial. Em *A. humile*, os plastídios são arredondados e apresentam internamente um sistema de membranas disposto de forma circular. Os plastídios podem estar associados com a síntese e armazenamento de diferentes substâncias e o aspecto destes varia dependendo na natureza do material secretado e da fase secretora (Fahn 1979, 1988). Nas células epiteliais dos canais secretores florais e do ápice de *T. guianensis* detectou-se a presença de plastídios com inclusões osmiofilicas, sugerindo que esta organela tenha um papel na atividade secretora. Nas células secretoras de substâncias lipofílicas, a característica ultra-estrutural mais comum é a ocorrência de material osmiofilico nos plastídios (Fahn 1988; Duke & Paul, 1993;

Sacchetti *et al.* 1996, Monteiro *et al.* 1998). Os plastídios têm sido descritos como possíveis sítios da síntese de lipídios de muitos sistemas secretores, incluindo células oleíferas, ductos resiníferos e tricomas glandulares (Vermeer & Peterson 1979). Tuner e Croteau (2004) por meio de imunocitoquímica conseguiram identificar as enzimas responsáveis pela produção de monoterpenos não só nos plastídios como em outras organelas presentes nas células secretoras de tricomas glandulares; e estabeleceram neste trabalho algumas relações entre os plastídios e outras organelas na produção de monoterpenos.

Como em muitas células produtoras de material lipofílico, os plastídios das células epiteliais dos canais de *S. dulcis* e de *T. guianensis* são encontrados parcialmente ou completamente envolvidos por retículo endoplasmático periplastidial (Fahn & Evert 1974, Fahn & Benayoun 1976, Joel & Fahn 1980b, Bosabalidis & Tsekos 1982, Heirich & Schultze 1985, Pedro *et al.* 1991, Bhatt e Mohan Ram 1992, Carmello *et al.* 1995, Ascensão *et al.* 1997, Fahn & Shimony 1998, Machado *et al.* 2006, capítulo 7). Bhatt e Mohan Ram (1992) sugerem que o retículo periplastidial encontrado em muitos plastídios de células epiteliais de ductos secretores é responsável pela translocação do material secretado para o espaço periplasmático e posteriormente para o lúmen. Ainda para alguns autores, a presença de retículo endoplasmático ao redor dos plastídios indica que monoterpenos podem ser produzidos por estas células mesmo em pequena quantidade (Wooding & Northcote, 1965; Vassilyev, 1977; Duke & Paul, 1993).

Retículo endoplasmático rugoso (RER) e ribossomos livres foram encontrados nas células epiteliais de *S. dulcis* e *T. guianensis*. Para Fahn (2000) o retículo endoplasmático participa na síntese de substâncias lipofílicas e pode também auxiliar no transporte intracelular deste material.

Nestas espécies, a grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso (RER) presente no citoplasma das células secretoras poderia também atuar no processo de formação do material lipídico. O RER, segundo Bahtt & Mohan Ram (1992) é uma fonte bem conhecida de proteínas e fosfolipídios e para Pridgeon & Stern (1983) este é o responsável tanto pela síntese como pelo

transporte das substâncias nos osmóforos de *Restrepia*. Bath & Mohan Ram, (1992) também sugeriram que o RER poderia estar envolvido no processo de formação da goma-resina dos ductos secretores de *S. anacardium*, além dos ribossomos livres revelarem a presença de maquinaria de síntese protéica.

Complexos de Golgi e poucas vesículas translúcidas foram observados nas células epiteliais de *S. dulcis* e *T. guianensis*. Complexos de Golgi e vesículas translúcidas podem estar relacionados à produção dos componentes hidrofílicos da secreção (Findlay 1988, Meyberg 1988, Figueiredo & Pais 1992, Jian *et al.* 1997, Machado *et al.* 2006) bem como envolvidos na glicosilação dos compostos, especialmente alguns componentes tóxicos dos óleos essenciais (Venkaiah 1992, Figueiredo & Pais 1994).

No lume dos canais associados ao floema dos ápices vegetativos de *S. dulcis* e *T. guianensis* e no lume dos canais das flores e frutos de *T. guianensis* foram detectadas histoquimicamente substâncias hidrofílicas e lipofílicas (capítulo 1 e 2); desta forma, o complexo de Golgi poderia estar relacionado tanto à produção de componentes hidrofílicos da secreção, quanto à glicosilação de componentes tóxicos das substâncias lipofílicas. A importância de organelas, como o Complexo de Golgi na produção de polissacarídeos, foi observada em ductos gomosos-resiníferos de *Mangifera indica* (Joel & Fahn, 1980c) e *Lannea coromandelica* (Venkaiah, 1992).

Segundo Bhatt & Mohan Ram (1992), as substâncias polissacarídicas encontradas na secreção também podem ser resultantes da separação das paredes celulares para formação do canal. Em *Rhus glabra* (Fahn & Evert, 1974), os autores sugeriram que os componentes polissacarídicos da secreção são originados pela dissolução das camadas externas das paredes, ao mesmo tempo que novo material, produzido pelo Complexo de Golgi, é aderido a superfície interna da parede.

Nas células epiteliais de *Spondias dulcis* e *T. guianensis*, a desintegração parcial das paredes periclinais externas pôde ser claramente observada; desta forma, infere-se que, parte das substâncias

polissacarídicas encontradas na secreção sejam provenientes da desintegração das paredes e parte seja proveniente diretamente da síntese pelo complexo de Golgi.

No pequeno espaço contido entre a membrana plasmática e a parede celular (espaço periplasmático) foram observados corpos paramurais. “Corpos paramurais” é um termo introduzido por Marchant e Robards (Robards, 1970) e é aplicado a algumas estruturas observadas entre a membrana plasmática e as paredes das células epiteliais dos canais. Estas estruturas são frequentemente observadas no estágio inicial de diferenciação dos canais, como visto nos canais da flor de *T. guianensis*. Robards (1970) sugere que os corpos paramurais tenham algum papel na síntese e na secreção dos compostos envolvidos com a formação da parede celular. Os corpos paramurais também foram encontrados em ductos gomosos resiníferos de outras espécies de Anacardiaceae, tais como *Anacardium occidentale* (Nair *et al.*, 1983) e *Lannea coromandelica* (Venkaiah, 1992). Estes autores também sugerem o envolvimento destas estruturas na secreção de polissacarídeos, principalmente de polissacarídeos que compõem a parede celular.

A análise ultra-estrutural das células epiteliais do canal presente no ápice de *S. dulcis*, no ápice e na flor de *T. guianensis* e no fruto de *A. humile* corrobora com os resultados positivos obtidos através dos testes histoquímicos do lume dos canais secretores para substâncias hidrofílicas e lipofílicas em *S. dulcis* e *T. guianensis* e para substâncias lipofílicas em frutos de *A. humile* (capítulo 1 e 2), uma vez que, as células epiteliais de *S. dulcis* e *T. guianensis* possuem as organelas necessárias (RE, ribossomos, plastídios e dictiossomos) para a produção de substâncias hidrofílicas e lipofílicas e que as células epiteliais do fruto apresentam plastídios, primordiais na secreção de substâncias lipofílicas.

Referências Bibliográficas

- ASCENSAO, L., MARQUES, N. & PAIS, M.S. 1997. Peltate glandular trichomes of *Leonotis* leaves; ultrastructure and histochemical cracterization of secretions. *Int J Plant Sci* 158:249-258.
- BHATT, J.R. & MOHAN RAM, H.Y. 1992. Development and ulatrastructure of primary secretory ducts in the stem of *Semecarpus anacardium* (Anacardiaceae). *IAWA Bulletin*. 13:173-185.
- BOSABALIDIS, A. & TSEKOS, I. 1982 . Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. *Planta* 156:496-504.
- CARMELLO, S.M.; MACHADO, S.R. & GREGÓRIO, E.A., 1995. Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 18:95-103.
- CASTRO, M.M .1987. Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos. São Paulo, 118p. (Tese – Doutorado – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo).
- COPELAND, H.F. 1961. Observations on the reproductive structure of *Anacardium occidentale*. *Phytomorphology* 11:315-325.
- CORREA, M.P. 1926. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e Comércio. p.170.
- CORREA, M.P. 1978. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/ Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v.5.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, 1262p.
- DUKE, S.O. & PAUL, R.N. 1993. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. *International Journal of Plant Sciences* 154:107-118.

- ENGLER, A. 1964. Syllabus der planzenfamilien. Berlin, Borntraeger.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- FAHN, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol.* 108: 229-257.
- FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Researchs* 31:37-75.
- FAHN, A. & BENAYOUN J. 1976. Ultrastructure of resin ducts in *Pinus halepensis*. Developmente, possible sites of resin synthesis, and mode of elimination from de protoplast. *Ann. Bot.* 40:857-863.
- FAHN, A. & EVERT, R.F. 1974. Ultrastructure of secretory ducts of *Rhus glabra* L. *American Journal of Botany* 61:1-14.
- FAHN, A. & SHIMONY, C. 1998. Ultrastructure and secretion of secretory cells of two species of *Fagonia* L. (Zygophyllaceae). *Annals of Botany* 81:557-565.
- FALCÃO, W.F.A. 1966. Chave para separar as famílias Anacardiaceae, Burseraceae e Simaroubaceae. *Rodriguésia* 25:203-217.
- FIGUEIREDO A.C.S., PAIS M.S. 1992. Ultrastructural aspects of the nectary spur of *Limodorum abortivum* (L) Sw. (Orchidaceae). *Annals of Botany* 70:325–331.
- FIGUEIREDO, A.C. & PAIS, M.S. 1994. Ultrastructural aspects of glandular cells from the secretory trichomes and from the cell suspension cultures of *Achillea millefolium* L. ssp. *Millefolium*. *Annals of Botany* 74:179-190.
- FINDLAY, N. 1988. Nectaries and other glands. In: Baker D, Hall J, eds. *Solute transport in plant cells*. New York: Longman Scientific and Technical.
- GERLACH, D. 1984. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. 3rd ed., Georg Thieme, Stuttgart.
- HARADA, M. 1937. On the distribuition and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. *Botanical Magazine* 51:846-56.

- HEINRICH, G. & SCHULTZE, W. 1985. Composition and site of biosynthesis of the essential oil in fruits of *Phellodendron amurense* Rupr. (Rutaceae). *Isr. J. Bot.* 34:205-217.
- JIAN, Z., ZHENG-HAI, H., MULLER, M. 1997. Ultrastructure of the floral nectary of *Arabidopsis thaliana* L. prepared from high pressure freezing and freeze substitution. *Acta Botanica Sinica* 39:289-295.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980a. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). I. Differentiation and senescence of the shoot ducts. *Annals of Botany* 46:225-33.
- JOEL, D. M. & FAHN, A. 1980b. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). II. Resin secretion in the primary stem ducts. *Annals of Botany* 46:779-783.
- JOEL, D. M. & FAHN, A. 1980c. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). III. Secretion of protein- polysaccharide mucilage in fruit. *Annals of Botany* 46:785-790.
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book, New York.
- JONES, R.D. & ROBINSON, D.G. 1989. Protein secretion in plants. *New Phytoln* 111:567-597.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LORENZE, H. & MATOS, F.S.A. 2002. *Plantas medicinais: Nativas cultivadas e exóticas no Brasil*. Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda, Nova Odessa.
- MACHADO, S.R. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 15:189-195.

- MACHADO, S.R., GREGORIO, E.A. & GUIMARÃES, E. 2006. Ovary Peltate Trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): Developmental Ultrastructure and Secretion in Relation to Function. *Annals of Botany* 97:357-369.
- MEYBERG, M. 1988. Cytochemistry and ultrastructure of the mucilage secreting trichomes of *Nymphoides peltata* (Menyanthaceae). *Annals of Botany* 62:537-548.
- METCALFE, C. R. & CHALK, L., 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford Clarendon Press, v.1, 724p.
- MONTEIRO, W.R. 1986. Estruturas secretoras da folha de *Porophyllum lanceolatum* D. C. (Asteraceae); estudos morfológicos, histoquímicos e ultra-estruturais São Paulo, (Tese - Livre Docência - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo).
- MONTEIRO, W.R., FAHN, A., CALDEIRA, W. & CASTRO, M.M. 1998. Ultrastructural observations on the foliar secretory cavities of *Porophyllum lanceolatum* DC. (Asteraceae). *Flora* 194:113-126.
- NAIR, G.M., VENKAIAH, K. & SHAH, J.J. 1983. Ultrastructure of gum-resin ducts in cashew (*Anacardium occidentale*). *Annals of Botany* 51:297-305.
- PAULA, J.E. & ALVES, J.L.H. 1973. Anatomy of *Anacardium spruceanum* Bth. ex. Engl. (Anacardiaceae) of Amazonia. *Acta Amazonica* 3:39-52.
- PEARSE, A.G.E. 1985. *Histochemistry theoretical and applies*. v. 2, C. Livingstone, Edinburg.
- PEDRO, L., CAMPOS, P. & PAIS, M.S.S. 1991. Ultrastructure of the apical cell of procumbent (Type I) trichomes in *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae). *Israel Journal of Botany* 40:209-217.]
- PELL, S.K. 2004. *Molecular Systematics of the cashew family (Anacardiaceae)*. Dissertation, Department of Biological Sciences, Faculty of the Louisiana State University, Louisiana.

- PRIDGEON, A.M. & STERN, W.L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orechidaceae). Amer. J. Bot. 70:208-212.
- REYNOLDS, E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron- opaque stain in electron microscopy. Journal of Cell Biology 17:208-212.
- ROBARDS, A. W. 1970. Electron microscopy and plant structure. Mc Graw-Hill, London.
- SIECK, W. 1985. Die schizolysigenen secretbehalter. Jb. Wiss. Bot., 27:227, pls.6-
- SACCHETTI, G., BRUNI, A., DALL'OLIO, G., NICOLETTI, M., DI FABIO, A. & POLI, F. 1996. Development and morphology of secretory trichomes of *Calceolaria volckmanni* (Scrophulariaceae). Nordic Journal of Botany 16:505-513.
- VASSILYEV, A.E., 1977. Functional morphology of plant secretory cells. Nauka, Leningrad.
- VASSILYEV, A.E., 2000. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron*. Int. J. Plant Sci. 161:615-630
- VASSILYEV, A.E & MURAVNIK, L.E. 1988. The ultrastructure of the digestive glands in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae) relative to their function. 1. The changes during maturation. Annals of Botany 62:329-341.
- VASSILYEV, A.E & MURAVNIK, L.E. 1993. Functional morphology of plant Golgi apparatus. Tsitologia 35:5-21.
- VENNING, F.D. 1948. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. American Journal of Botany 35:637-644.
- VENKAIAH, K. 1992. Development, ultrastructure and secretion of gum ducts in *Lannea coromandelica* (Hout) Merrill (Anacardiaceae). Annals of Botany 69:449-457.
- VERMEER, J. & PETERSON, R.L. 1979. Glandular trichomes on the inflorescence of *Chrysanthemum morifolium* cv. Dramatic (Compositae). II. Ultrastructure and histochemistry. Can. J. Bot. 57:714-729.

- WOODING, F.B.P. & NORTHCOTE, D.H.. 1965. Association of endoplasmatic reticulum and the plastidis in *Acer* and *Pinus*. Amer. J. Bot. 52:526-531.
- WATSON, M. L. 1958. Staining of tissue sections for eletron microscopy with heavy metals. Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 4:475.

Figuras 1-8. Fotomicrografias (1-4) e elétron-micrografias (5-8) dos canais secretores do floema dos ápices caulinares de *Spondias dulcis* G.Forst .1-4. Material fixado em FNT e tratado com preto de Sudão B. 1-2. Canais em formação. 3. Canal em formação com lume e célula central em lise. 4. Canal totalmente formado; células epiteliais afastadas. 5. Canal secretor com células epiteliais de citoplasma denso e organelas (plastídios e vacúolos); bainha do canal composta por idioblastos. 6. Detalhe da célula epitelial; plastídio com retículo periplastidial (seta grossa), RER (seta fina) e mitocôndria (m). 7. Plastídios. 8. Células epiteliais com dissolução da lamela média entre as paredes anticlinais; complexo de Golgi (seta branca), RER (seta preta), plastídios (p) e mitocôndrias (m). Barras=30µm (1-4). Aumentos = (5175X) 5, (16790X) 6, (23000X) 7, (1649X) 8.

Figuras 9-14. Elétron-micrografias dos canais secretores do floema dos ápices caulinares de *Spondias dulcis* G.Forst (9-10) e *Tapirira guianensis* Aubl. (11-14). 9. Detalhe de uma célula epitelial com parede periclinal externa de contorno sinuoso e gota de material elétron-opaca sendo liberada para o lume. 10. Células epiteliais senescentes com citoplasma periférico; lume do ducto com secreção elétron-opaca (5). 11. Células epiteliais (c) em diferentes fases de secreção; bainha de cobertura formada por idioblastos (I). 12. Secreção floculada elétron-densa e homogênea elétron-opaca (seta) no lume do canal. 13. Células epiteliais (c) com vacúolos (v) com gotas elétron-opacas (cabeça de seta); lume (l) com secreção floculada elétron-Densa. 14. Células epitelial com plastídios (p) envoltos por retículo periplastidial (seta curva), RER (seta fina), vacúolos (v) com figuras mielínicas (f) e gotas elétron-opacas (cabeça de seta); plastídio com constrição (seta branca). Aumentos = (6267X) 9, (2925X) 10, (4657X) 11, (9750X) 12, (6045X) 13, (7750X) 14.

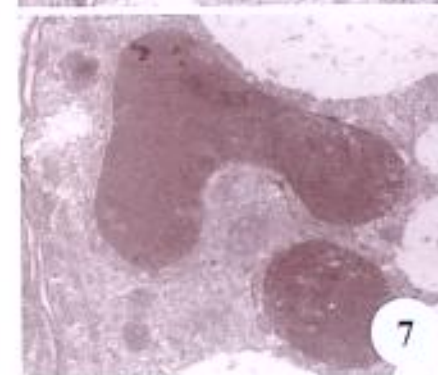
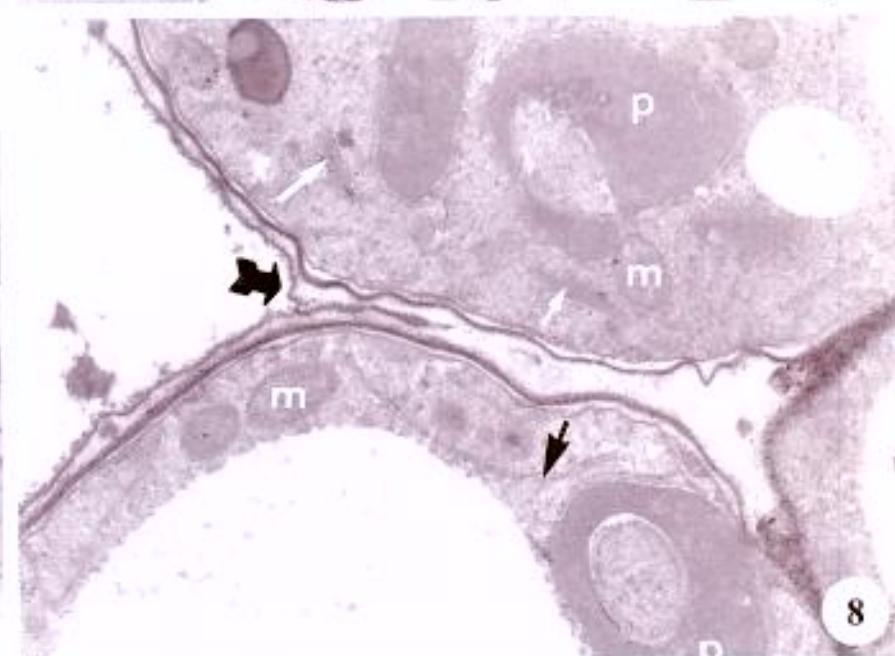
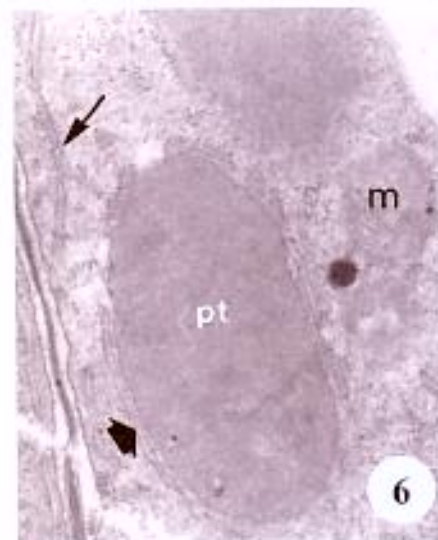
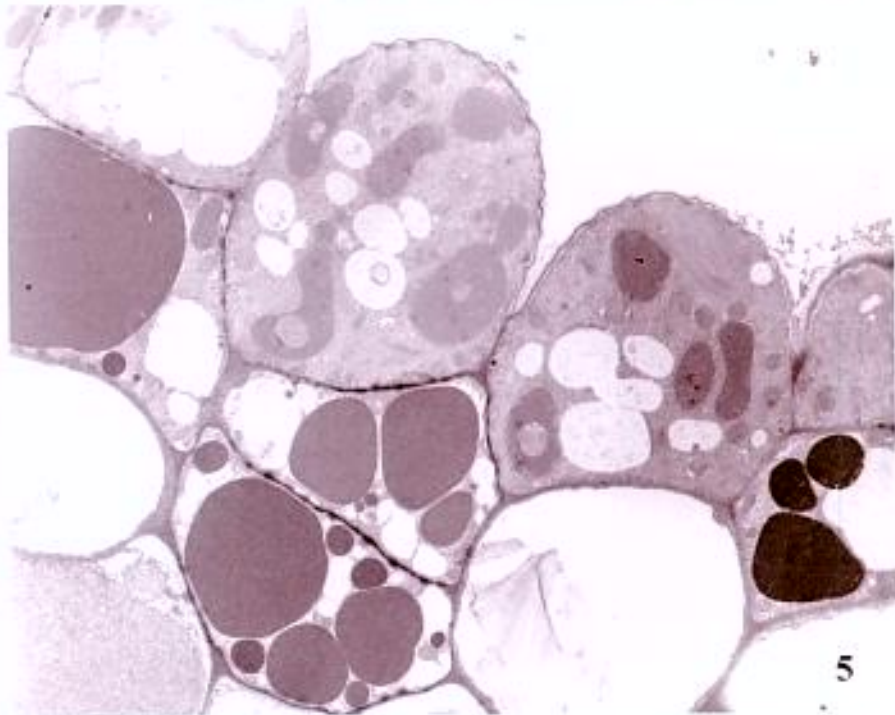
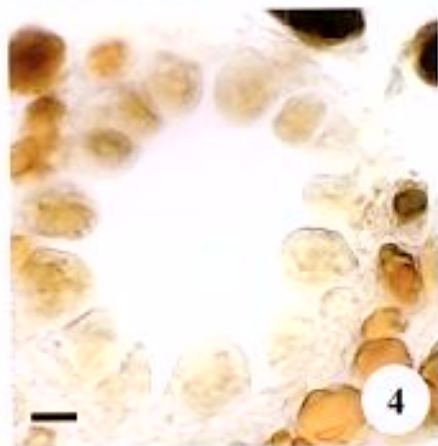
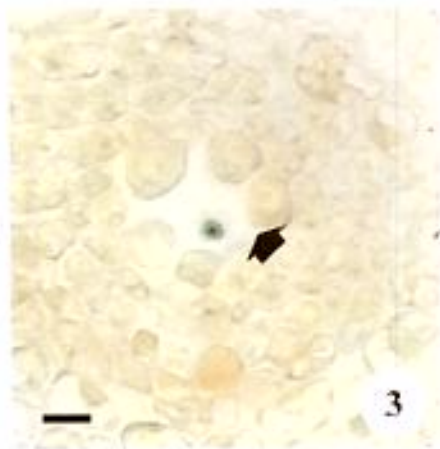
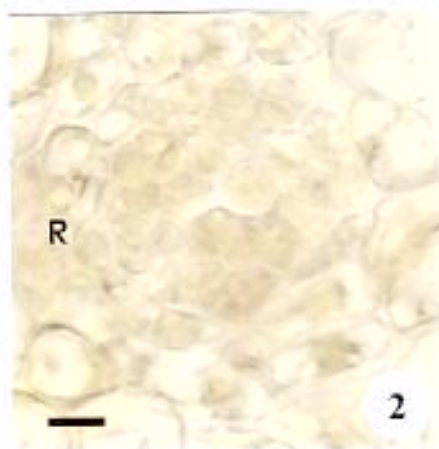
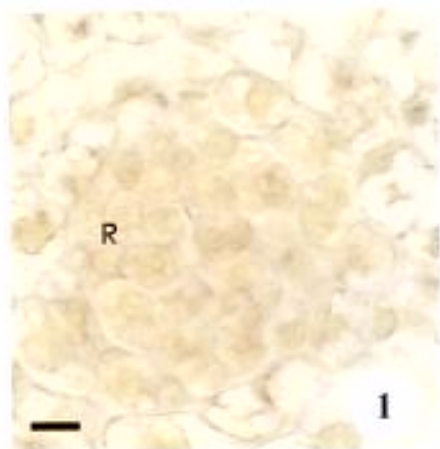
Figuras 15-21. Elétron-micrografias dos canais secretores dos ápices caulinares (15-18) e flores (19-21) de *Tapirira guianensis* Aubl. 15-16 e 18. Canal do floema. 17. Canal medular. 15. Célula epitelial com vacúolos (v), RER (seta branca), Complexo de Golgi (seta preta cheia), vesículas (seta

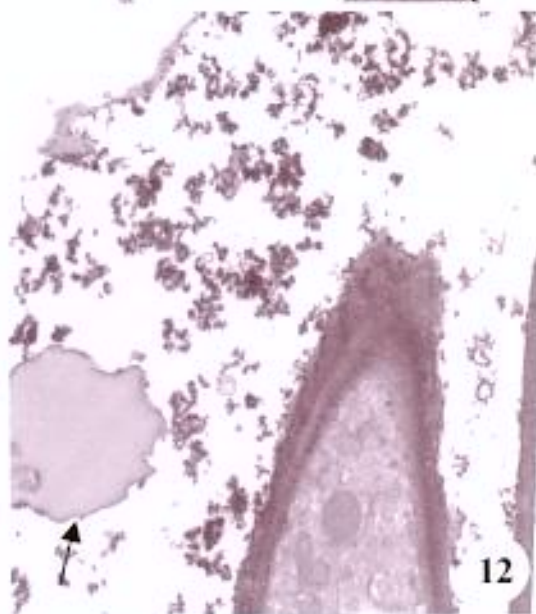
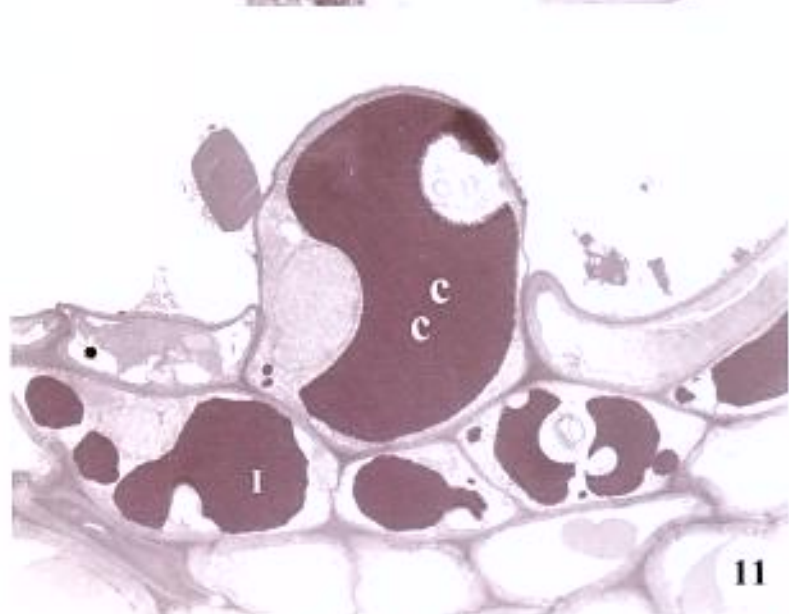
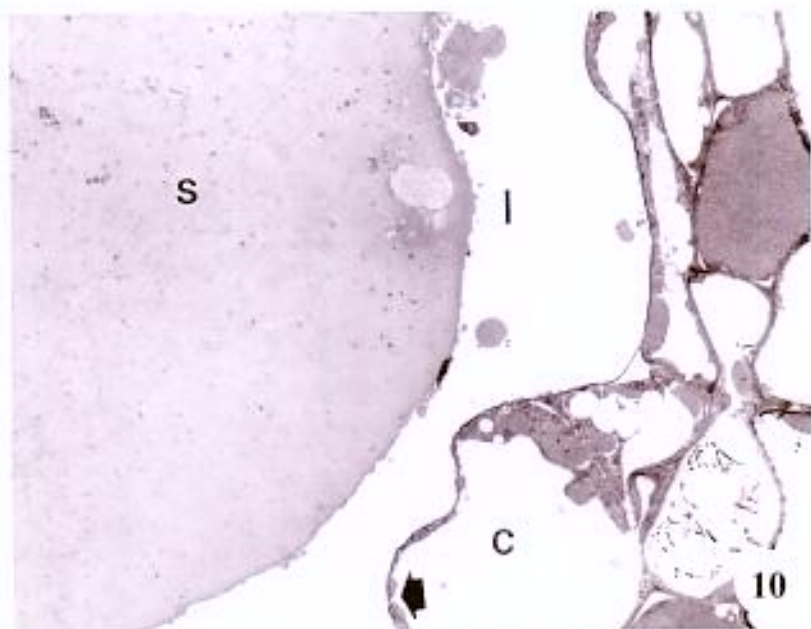
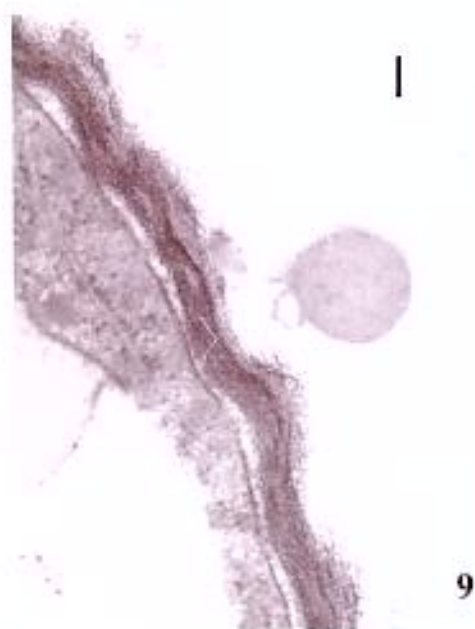
vazia) e gotas elétron-densas (cabeça de seta). 16. Plastídios de diversos formatos (p) com gotas elétron-densas (seta fina branca). 17. Canal medular com secreção heterogênea composta por material elétron-opaco homogêneo (estrela), elétron-opaco com granulações elétron-densas (asterisco), elétron-denso floculado e elétron-denso homogêneo; células epiteliais de paredes periclinais externas retas (c) e células parenquimáticas subjacentes (p). 18. Detalhe da célula epitelial com corpos paramurais no espaço periplasmático. 19. Canal em início de desenvolvimento com lume (L) reduzido e células epiteliais com citoplasma denso. 20. Célula epitelial (c) com Complexo de Golgi (G), RER (seta) e mitocôndrias (M); material elétron-denso no espaço formado pela separação das paredes periclinais. 21. Plastídios com gotas elétron-densas. Aumentos = (28560X) 15, (22440X) 16, (3523X) 17, (4200X) 18, (8750X) 19, (13090X) 20, (31500X) 21.

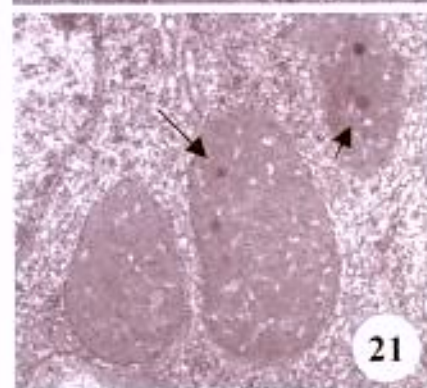
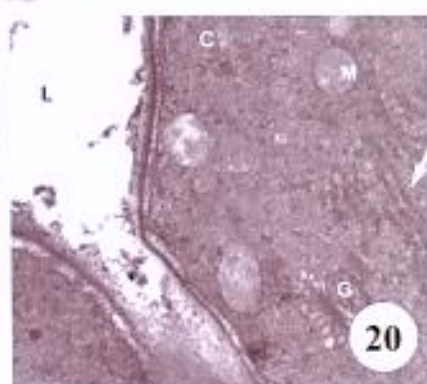
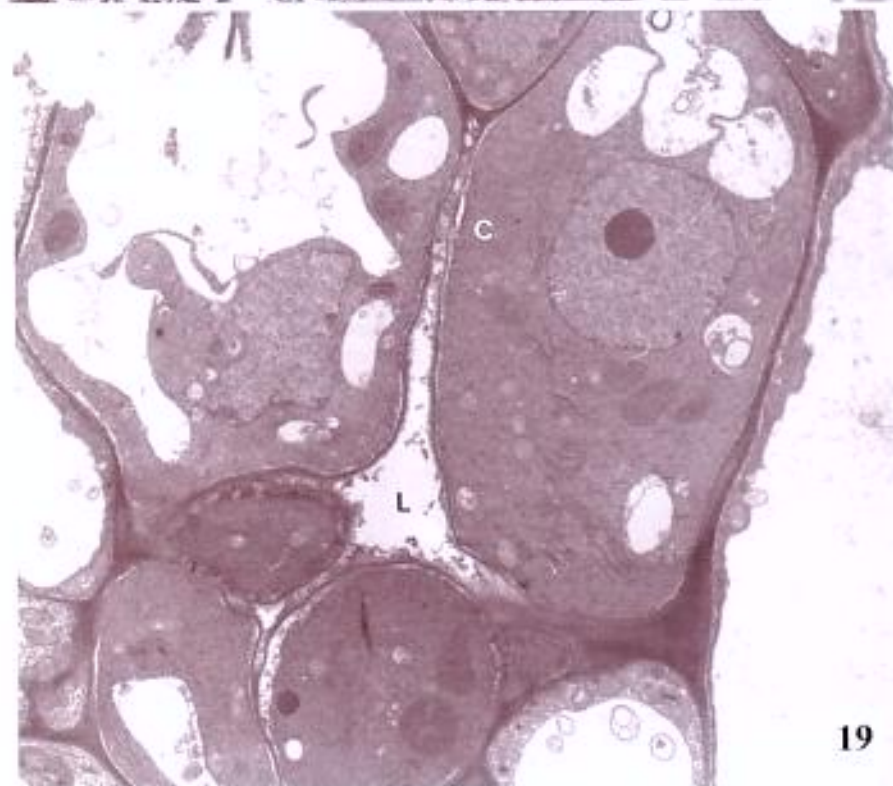
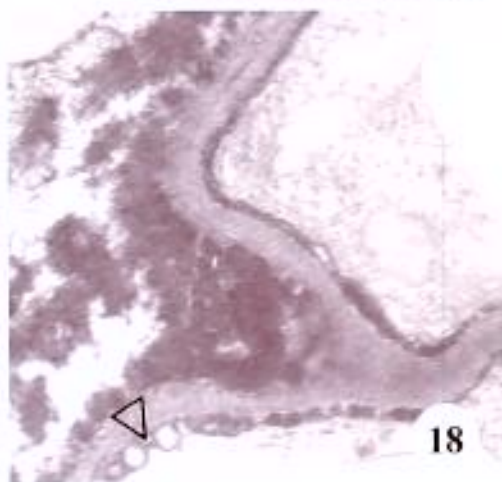
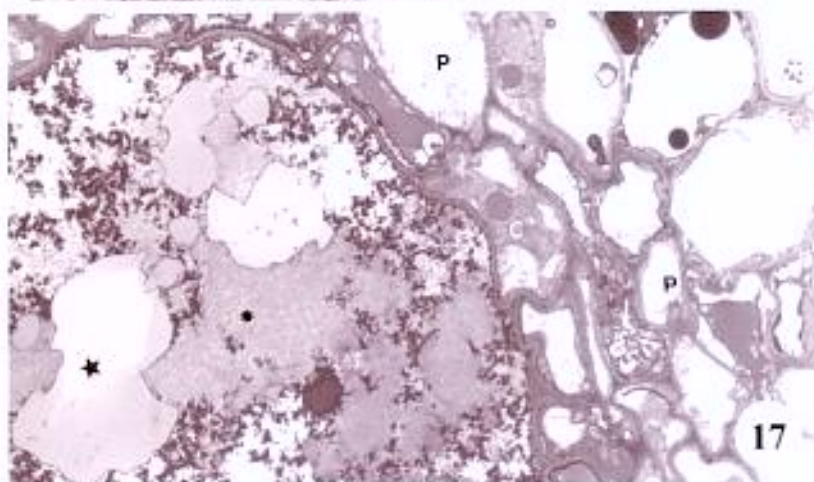
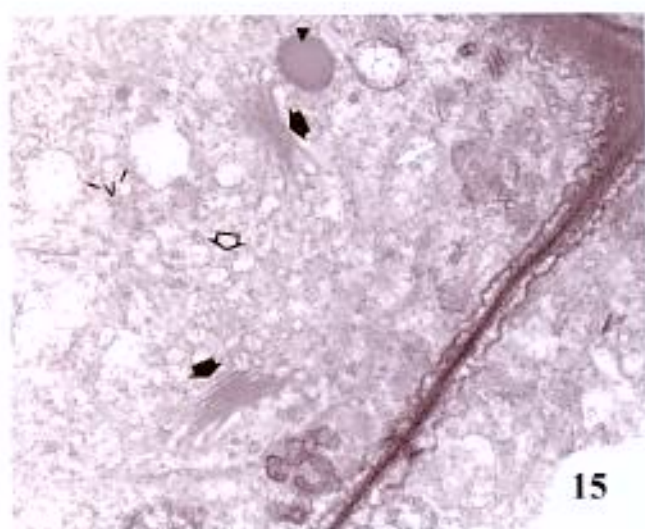
Figuras 22-27. Elétron-micrografias dos canais secretores das flores (22-25) e dos frutos (26-27) de *Tapirira guianensis* Aubl. 22. Plastídios com retículo periplastidial (seta). 23. Célula epitelial com plastídios (p) com gotas elétron-densas (seta) e vacúolos com restos de membrana. 24. Canal com secreção elétron-opaca (EO) no lume. 25. Canal com secreção heterogênea composta por material elétron-denso homogêneo (ED), elétron-denso opaco com granulações elétron-densas (EDI) e material elétron-denso floculado. 26. Canal com células epiteliais de parede periclinal externa côncava; vacúolos com material elétron-denso. 27. Detalhe da figura 26; célula epitelial com vacúolos de secreção elétron-densa (v), plastídios e gotas elétron-opacas (seta). Aumentos = (5750X) 22, (31500X) 23, (2470X) 24, (5750X) 25, (1790X) 26, (7750X) 27.

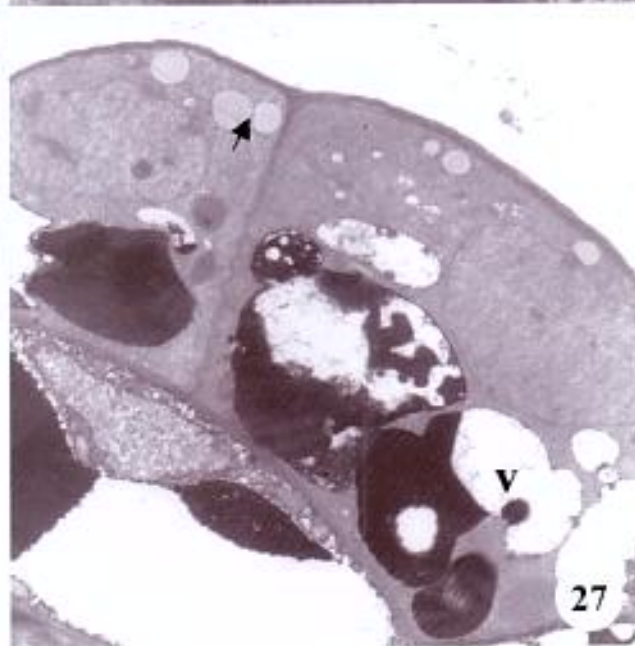
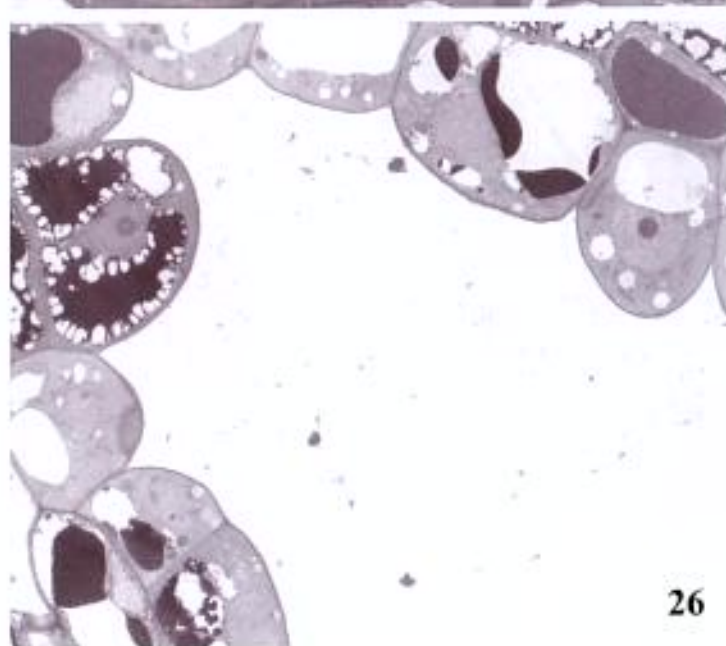
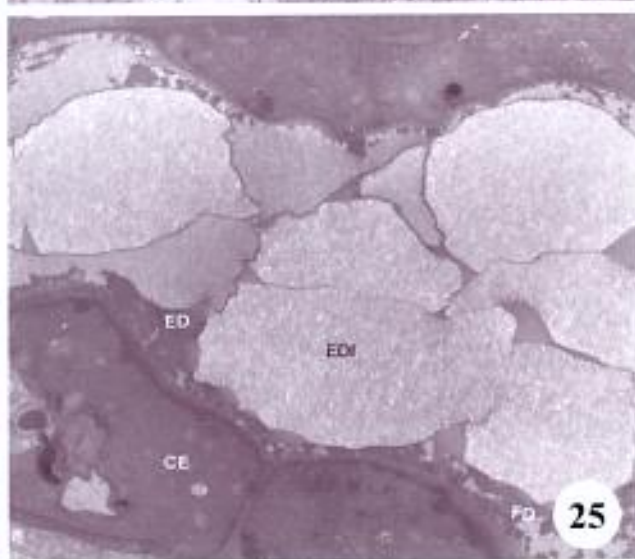
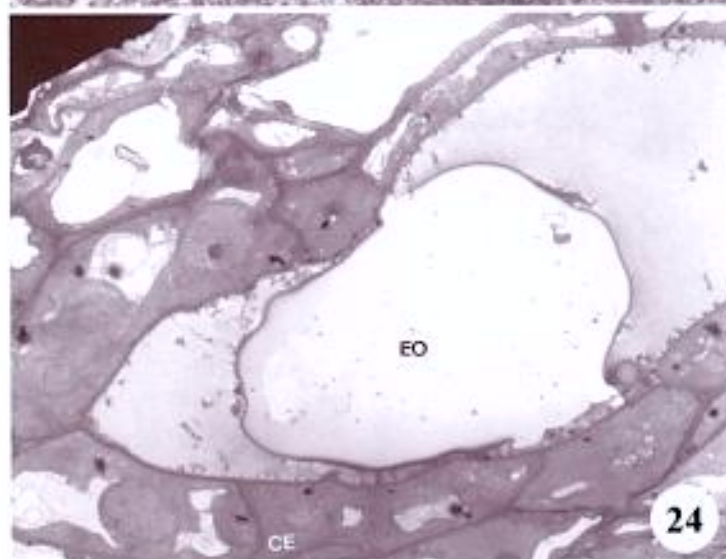
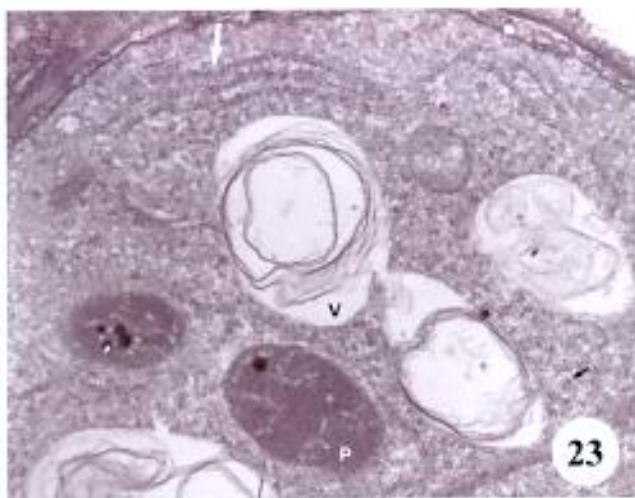
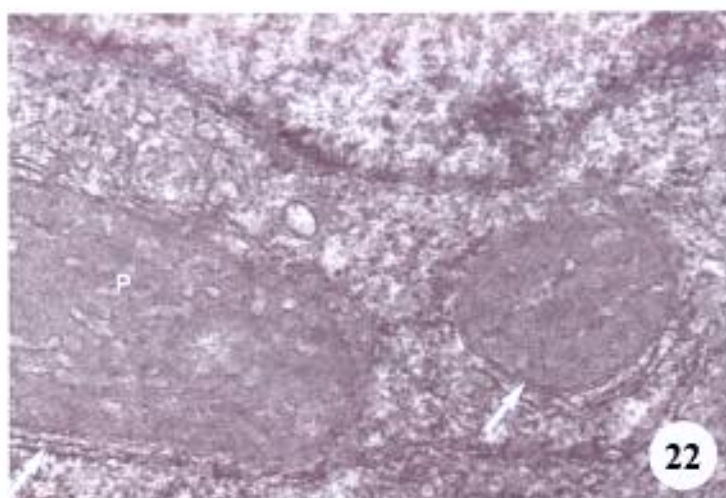
Figuras 28-33. Elétron-micrografias dos canais secretores dos frutos (28-29) de *Tapirira guianensis* Aubl. e das flores (30) e dos frutos (31-33) de *Anacardium humile* St.Hil. 28. Célula epitelial com vacúolos de material elétron-denso, plastídios (p) e gotas elétron-opacas. 29. Plastídios (P) com retículo periplastidial (seta curva) e RER (seta fina). 30. Canal secretor com células epiteliais (c) de

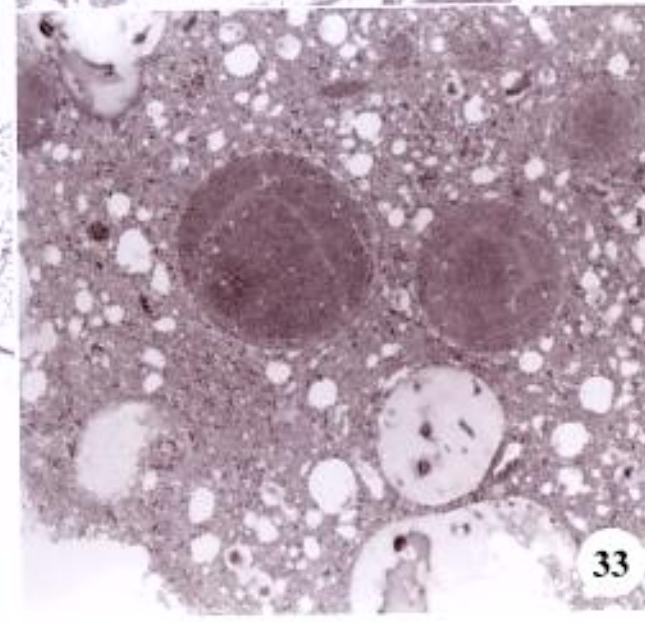
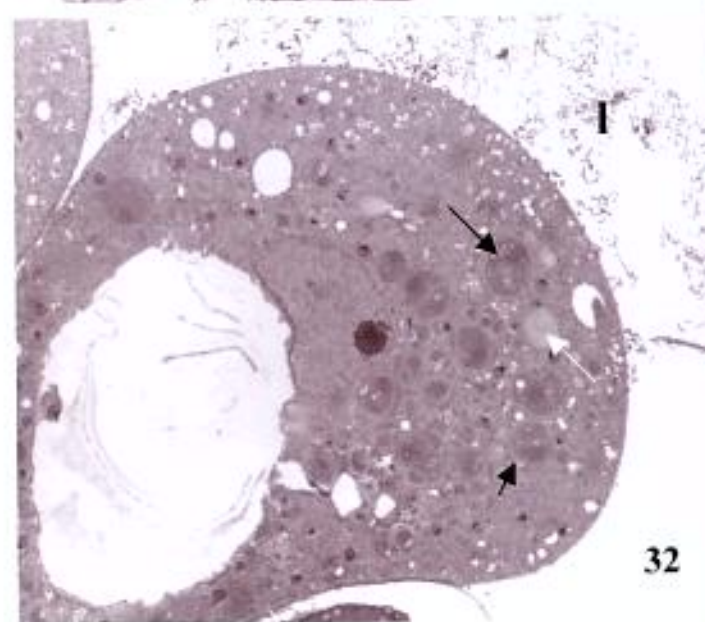
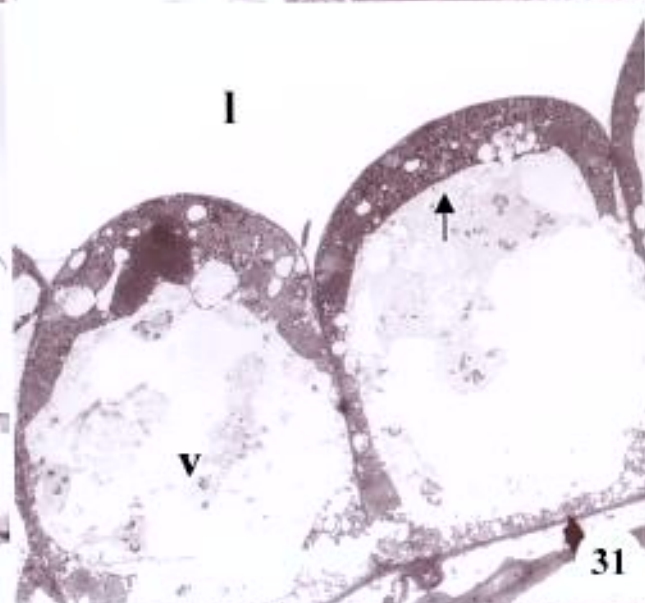
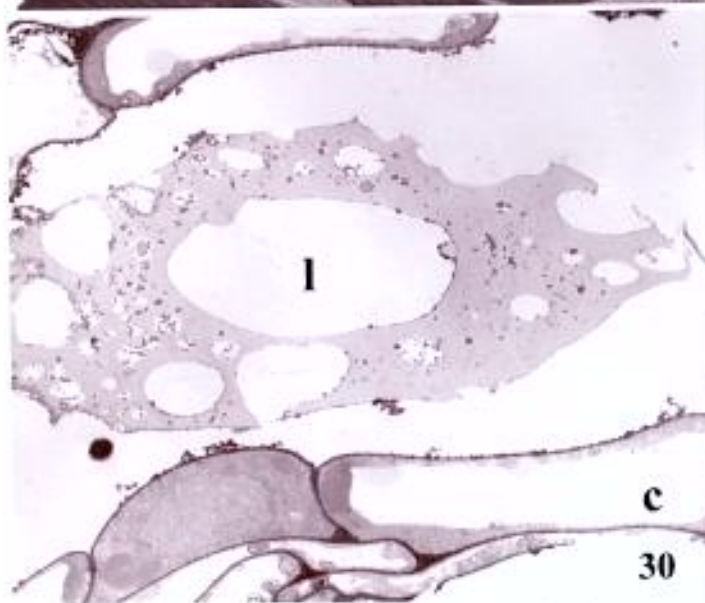
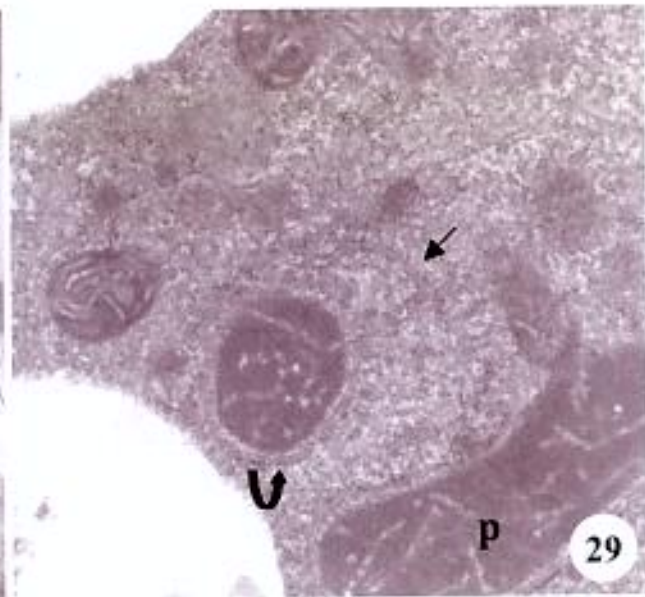
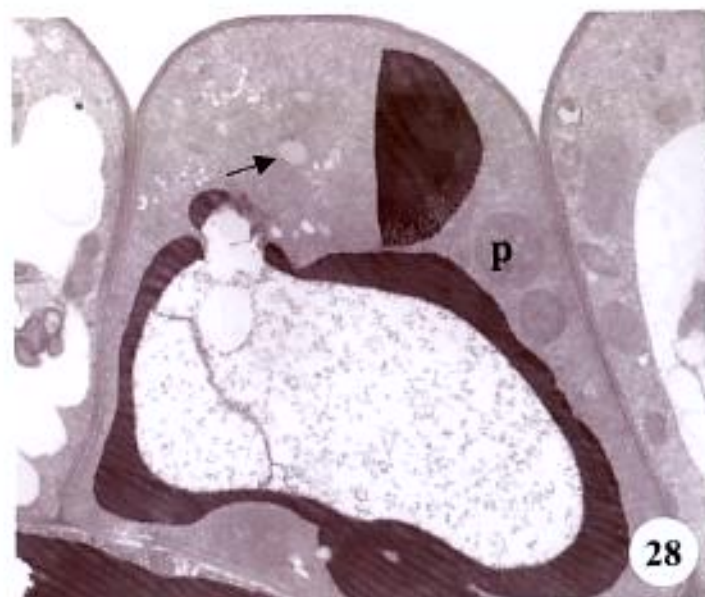
parede periclinal externa reta e citoplasma periférico; secreção elétron-opaca no lume (l). 31. Células epiteliais de parede periclinal externa côncava, citoplasma periférico e vacúolo central. 32. Célula epitelial com plastídios (seta), vesículas, vacúolos e gotas elétron-opacas (seta branca); secreção elétron-densa floculada no lume (l). 33. Plastídios circulares com membranas internas circulares e vesículas. Aumentos = (9142X) 28, (32340X) 29, (4350X) 30, (3250X) 31, (3045X) 32, (13250X) 33.











Discussão Geral

Anacardiaceae possui 70 gêneros com aproximadamente 600 espécies de distribuição principalmente pantropical, com poucas de regiões temperadas (Judd *et al.* 1999). Seus representantes possuem importância econômica e medicinal e podem ser causadores de sérias alergias devido à presença de algumas classes de metabólitos secundários presentes na secreção de seus canais (Pell 2004, Aguilar-Ortigoza *et al.* 2003). Os mais variados compostos estão presentes nos membros desta família devido à existência de vários tipos de estruturas secretoras envolvidas na sua produção, tanto em órgãos vegetativos quanto em órgãos reprodutivos, como canais, cavidades, idioblastos, tricomas e nectários (Solereider 1908, Metcalfe & Chalk 1950, 1983, Wunnachit *et al.* 1992, Judd *et al.* 1999,).

Nas Anacardiaceae, a estrutura secretora mais estudada é o canal, sendo que pouca ou nenhuma informação é dada sobre a anatomia, histoquímica e ultra-estrutura de outras glândulas secretoras. Nas espécies estudadas neste trabalho, verificou-se a presença de estruturas secretoras nunca antes descritas para a família Anacardiaceae, como coléteres, idioblastos de secreção heterogênea (compostos fenólicos e ácidos graxos), disco floral secretor de lipídios, endocarpo e funículos secretores. Desta forma, o estudo de um maior número de órgãos e de espécies desta família poderia contribuir com mais informações inéditas, além de contribuir com dados, que seriam essenciais para a comparação com as espécies já estudadas, auxiliando assim na interpretação dos resultados obtidos até o momento.

Dentre as estruturas secretoras, os **canais** destacam-se pela sua ocorrência universal na família (Metcalfe & Chalk 1950) e por serem atribuídas as propriedades medicinais e alergênicas às suas secreções (Pell 2004, Aguilar-Ortigoza *et al.* 2003). Até o momento, pelo nosso levantamento bibliográfico, canais de Anacardiaceae foram estudados em órgãos vegetativos de aproximadamente 25 espécies (Harada 1937, Venning 1948, Paviani 1965, Morretes 1967, Szabó 1971, Fahn & Evert 1974, Tewfic & Habib 1977, Joel & Fahn 1980b, Gibson 1981, Nair *et al.* 1983, Luo & Xu 1984,

Venkaiah 1992, Torres & Jáuregui, 1999, Sawidis *et al.* 2000, Vassilyev 2000) e em órgãos reprodutivos de 14 espécies (Harada 1937, Venning 1948, Lozano 1986, von Teichman 1987, 1998, von Teichman & van Wyk 1991, 1994, 1996, Pienaar & von Teichman 1998, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005). Estes estudos ainda são muito poucos frente ao número de aproximadamente 600 espécies existentes na família.

A localização dos canais secretores dos órgãos vegetativos de *Anacardium humile* St.Hil., *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Spondias dulcis* G. Forst. e *Tapirira guianensis* Aubl. segue o padrão das espécies de Anacardiaceae; nesta família, os canais estão sempre associados aos feixes vasculares, mais especificamente ao floema, e podem também estar presentes na medula e córtex (Harada 1937, Venning 1948, Paviani 1965, Morretes 1967, Szabó 1971, Fahn & Evert 1974, Sant'anna 1975, Tewfic & Habib 1977, Joel & Fahn 1980 b, Gibson 1981, Nair *et al.* 1983, Luo & Xu 1984, Den Outer & van Vaenendaal 1986, Bhatt & Mohan Ram 1992, Venkaiah 1992, Carmello *et al.* 1995, Sawidis *et al.* 2000, Vassilyev 2000).

Como nos órgãos vegetativos, os canais secretores dos órgãos reprodutivos em Anacardiaceae estão sempre associados ao floema dos feixes vasculares e nas flores podem estar presentes na sépala, pétala, receptáculo, pedicelo, ovário e pistilódio (Harada 1937, Venning 1948, Lozano 1986, von Teichman & van Wyk, 1994, 1996, von Teichman 1987, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000). Em flores hermafroditas e estaminadas de *A. humile* e em flores pistiladas e estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis*, os canais foram encontrados na sépala, pétala, receptáculo e pedicelo; esta mesma estrutura pôde ser observada no tecido fundamental do ovário das flores de todas espécies estudadas e no pistilódio das flores estaminadas de *L. molleoides* e *T. guianensis*. Porém no tecido fundamental do ovário da flor hermafrodita de *A. humile*, os canais estão restritos apenas à região do feixe dorsal, enquanto que nas outras espécies os canais também podem ser encontrados associados aos feixes laterais. Um fato interessante é a quantidade de canais

no tecido fundamental do ovário, que é muito maior do que a presente no pistilódio das flores estaminadas.

Nos frutos da maioria das espécies de Anacardiaceae, como em *A. humile* e em *T. guianensis* os canais secretores estão localizados no mesocarpo (Harada 1937, Lozano 1986, von Teichman, 1987, von Teichman & van Wyk, 1991, 1994, 1996, von Teichman, 1998, Pienaar & von Teichman 1998, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000). Diferentemente do que está descrito para *Anacardium curatellaefolium* St.Hil. (Paula & Heringer 1978) e para *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Paula & Alves 1973), são canais e não cavidades as estruturas secretoras encontradas nos frutos de *A. humile*. Em *A. humile* observa-se a formação de novos canais nos primeiros estádios de desenvolvimento do fruto, mas em *T. guianensis* os canais encontrados no mesocarpo são os mesmos canais observados no tecido fundamental do ovário das flores pistiladas, que crescem em diâmetro concomitantemente com o desenvolvimento do fruto.

A maior parte dos estudos em canais secretores apenas faz referência à localização, estrutura ou desenvolvimento destas estruturas sem estudarem a natureza de suas secreções; existe apenas um estudo histoquímico da secreção dos canais (Sant'Anna-Santos *et al.* 2006) e poucos trabalhos em que alguns corantes e reagentes foram utilizados, sem controle específico para tais substâncias (Paula & Alves 1973, Fahn & Evert 1974, Paula & Heringer 1978, Joel & Fahn 1980 b,c, Carmello *et al.* 1995, Vassilyev 2000).

Estudos químicos do exsudato dos canais de Anacardiaceae são abundantes na literatura; entretanto, a maioria destes trabalhos analisa apenas uma classe de substâncias presente na secreção, não caracterizando todos os seus componentes (Rao *et al.* 1973, Gross *et al.* 1975, Corbett & Billets 1975, Joel *et al.* 1978, Monaco *et al.* 1982, Adawadkar & El Solí 1983, Yalpani & Tyman 1983, Du *et al.* 1984, Bestman *et al.* 1988, Marner *et al.* 1991, Corthout *et al.* 1992, Pinto *et al.* 1995, Alencar *et al.* 1996, Rossini *et al.* 1996, Oelrichs *et al.* 1997, Paula *et al.* 1998). Há ainda alguns autores que identificam os canais como resiníferos sem realizarem nenhum estudo químico ou histoquímico que

comprove a natureza de sua secreção. Todos estes fatos descritos dificultam a tentativa de comparações entre as espécies no que diz respeito à secreção dos canais e dificultam também a inferência de uma possível função para estas estruturas.

Para a família Anacardiaceae, já foram descritos canais produtores de resina (Harada 1937, Morretes 1967, Paula & Alves 1973, Joel & Fahn 1980 a, b, c, Gibson 1981, Lozano 1986, Sawidis *et al.* 2000), óleo-resina (Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978), goma-resina (Bhatt & Mohan Ram 1992, Nair *et al.* 1983), goma (Venkaiah 1992) e látex. (Venning 1948, Luo & Xu 1984).

Outra problemática que dificulta o estudo da secreção e a comparação entre os canais secretores está relacionada ao conceito de resina. Devido às dificuldades na interpretação da nomenclatura das substâncias dos canais em Anacardiaceae, propomos dois novos termos: resina *stricto sensu* e resina *sensu lato*. O termo resina *stricto sensu* refere-se às resinas compostas apenas por terpenos voláteis e não voláteis e o termo resina *lato sensu* refere-se às resinas compostas por terpenos voláteis e não voláteis e outras substâncias diversas, como polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos. Utilizando os novos termos propostos, os canais associados ao floema dos ápices vegetativos de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e os canais do floema e da medula de *T. guianensis* são resiníferos (*lato sensu*), enquanto os canais medulares de *A. humile* e *S. dulcis* são mucilaginosos. A presença de canais em um mesmo órgão de uma mesma espécie produzindo secreções quimicamente distintas está sendo descrita pela primeira vez na literatura, neste trabalho.

Os canais florais da sépala, pétala, pedicelo, bractéola e bráctea de *A. humile* e os canais destas mesmas peças florais e do mesófilo ovariano de *T. guianensis* e *L. molleoides* são resiníferos (*lato sensu*). Os canais do fruto e do pedúnculo de *A. humile* por produzirem apenas lipídios são resiníferos (*stricto sensu*) e os canais do fruto de *T. guianensis* por produzirem lipídios e polissacarídeos são resiníferos (*lato sensu*). Por estes resultados, conclui-se que em uma mesma espécie os canais secretores presentes em diferentes órgãos podem produzir substâncias distintas,

como em *A. humile*, cujos canais dos órgãos vegetativos produzem substâncias lipofílicas e hidrofílicas ou só substâncias hidrofílicas e os canais do fruto e pedúnculo produzem apenas substâncias lipofílicas. Os estudos e as comparações entre os canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos são muito importantes, pois quando comparações são feitas entre canais e cavidades nestes órgãos, na maioria das vezes, são encontradas diferenças, quer na composição da secreção ou no modo de formação dos canais. Joel & Fahn (1980c) estudando os canais secretores presentes no fruto de *Mangifera indica* L. puderam constatar que estes canais além de secretarem resina como os órgãos vegetativos secretam também polissacarídeos e proteínas.

As resinas presentes em muitos canais de Anacardiaceae por serem misturas complexas de substâncias podem ser tóxicas ou dissuasivas e têm o potencial de encobrir os organismos que atacam as plantas (Langenheim 1990). Ainda segundo este autor, os diterpenóides presentes nas resinas facilmente polimerizam e podem rapidamente selar os ferimentos das plantas, impedindo invasões microbianas. Segundo Farrell *et al.* (1991), as plantas produtoras de resina e látex têm sido mais bem sucedidas que os grupos relacionados que não os produzem; para estes autores, a presença da resina e do látex está relacionada com o sucesso das plantas no ambiente.

A formação dos canais secretores nos ápices caulinares e o desencadeamento de sua atividade secretora iniciam-se muito cedo, antes mesmo da completa diferenciação dos elementos de condução. Assim, todos os canais observados em microscopia eletrônica de transmissão já estavam formados e em estado ativo de secreção ou senescentes, impedindo a avaliação da dinâmica da formação destes canais secretores. Em *S. dulcis* através de microscopia óptica obteve-se indícios de que os canais do floema desenvolvem-se de forma esquizolisígena, o mesmo fato foi registrado para os canais medulares desta mesma espécie por Venning (1948). Na flor de *T. guianensis*, os canais secretores começam a se formar ainda no estágio procambial, junto com a formação e diferenciação dos elementos do protoxilema e protofloema.

O início da formação dos canais, em flores de *T. guianensis*, se dá pela lise da lamela média, com conseqüente separação das paredes das células centrais da roseta de células procambiais presentes no mesofilo ovariano, caracterizando o processo como esquizógeno. As células ao redor do espaço formado (lume) tornam-se altamente especializadas em secreção, comprovado pela microscopia eletrônica de transmissão, pela presença de organelas como: RER, ribossomos, mitocôndrias, plastídios e complexos de Golgi em grande quantidade.

A análise ultra-estrutural das células epiteliais do canal presente no ápice de *S. dulcis*, no ápice e na flor de *T. guianensis* e no fruto de *A. humile* corrobora com os resultados positivos obtidos através dos testes histoquímicos do lume dos canais secretores para substâncias hidrofílicas e lipofílicas em *S. dulcis* e *T. guianensis* e para substâncias lipofílicas em frutos de *A. humile*, uma vez que, as células epiteliais de *S. dulcis* e *T. guianensis* possuem as organelas necessárias (RE, ribossomos, plastídios e complexo de Golgi) para a produção de substâncias hidrofílicas e lipofílicas e que as células epiteliais do fruto apresentam presomamente plastídios, primordiais na secreção de substâncias lipofílicas.

Segundo Solereder (1908), **idioblastos** taníferos ocorrem mais ou menos abundantemente no floema de todos os membros da família Anacardiaceae; apesar desta consideração existem poucos trabalhos que descrevem idioblastos secretores em órgãos vegetativos de Anacardiaceae (Paviani 1965, Szabó 1971, Paula & Alves 1973, Gibson 1981, Naranjo & Pernía 1990, Sawidis *et al.* 2000); nestes órgãos, os idioblastos podem ser encontrados no córtex, medula e associados aos canais secretores (no floema). Nos ápices vegetativos de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, estas células seguem o padrão de distribuição para a família. Idioblastos presentes em órgãos vegetativos foram caracterizados como taníferos para algumas espécies de Anacardiaceae (Paviani 1965, Szabó 1971, Paula & Alves 1973, Gibson 1981, Naranjo & Pernía 1990), mas em muitas destas, nenhum teste histoquímico foi realizado para comprovar a presença de tanino. Desta forma, muitos idioblastos podem ter sido erroneamente identificados. Por meio do estudo histoquímico dos

ápices vegetativos de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis*, idioblastos contendo secreção heterogênea (ácidos graxos, óleos essenciais e compostos fenólicos) estão sendo descritos pela primeira vez nesta família. Devido à heterogeneidade da secreção encontrada nos idioblastos das espécies estudadas, pode-se dizer que estas células produzem resina (*sensu lato*). Idioblastos resiníferos já foram descritos para muitas famílias, mas não para Anacardiaceae (Metcalf & Chalk 1983). De acordo com a composição da secreção destes idioblastos, provavelmente sua função seja a mesma atribuída à secreção dos canais. Além dessa função, os idioblastos podem também ser responsáveis pelos efeitos alergênicos causados por espécies desta família, pois compostos fenólicos, que são as principais substâncias tóxicas de Anacardiaceae, são encontrados em abundância nos idioblastos e muitas vezes não estão presentes na secreção dos canais como em *T. guianensis*. As espécies estudadas neste trabalho pertencem a três tribos diferentes e todas possuem idioblastos com secreção heterogênea; deste modo, pode-se inferir que, se mais testes e estudos fossem realizados nos idioblastos das espécies de Anacardiaceae, o número de descrições de células com secreção heterogênea provavelmente seria muito maior.

Tricomas glandulares foram observados nos órgãos vegetativos (Metcalf & Chalk 1950; Paviani 1965; Morretes 1967; Paula & Alves 1973; Sant'Anna 1975; Tewfic & Habib 1977; Gibson 1981; Mitchell & Mori 1987; Naranjo & Pernía 1990; Mitchell 1992; Mitra & Datta 1993; Tomer *et al.* 1996; Torres & Jáuregui 1999) de algumas espécies de Anacardiaceae. Em órgãos reprodutivos os tricomas foram encontrados na epiderme externa ovariana das flores femininas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Carmello-Guerreiro & Paoli 2002), em pétalas de *Ozoroa namaquensis* L. von Teichman & A.E. van Wyk (Von Teichman & Van Wyk, 1994) e nos frutos de *Rhus glabra* L. (Judd *et al.* 1999).

Em *A. humile*, tricomas glandulares foram encontrados em primórdios foliares e folhas jovens dos ápices vegetativos, em depressões da lâmina foliar, nas brácteas, nas bractéolas e no eixo da inflorescência e na base das pétalas das flores hermafroditas e estaminadas. Em *L. molleoides*, os

tricomas secretores foram observados nos primórdios foliares e folhas jovens dos ápices vegetativos, no pedicelo e na inserção da bractéola a este em todas as fases de desenvolvimento da flor pistilada e estaminada e no estigma das flores pistiladas. Para *S. dulcis*, tricomas glandulares foram descritos nos primórdios foliares e nas folhas jovens dos ápices vegetativos. Em *T. guianensis*, tricomas secretores foram localizados nos primórdios foliares e folhas jovens dos ápices vegetativos, na epiderme externa do ovário e do pistilódio e no estigma das flores pistiladas e estaminadas.

Somente os tricomas secretores encontrados no estigma das flores de *L. molleoides* e *T. guianensis* possuem porção secretora multicelular unisseriada, todos os demais tricomas possuem porção secretora multicelular e multisseriada. Tricomas secretores multicelulares foram localizados nas folhas de algumas espécies de Anacardiaceae (Morretes 1967, Paula e Alves 1973, Sant'Anna 1975, Gibson 1981, Mitchell & Mori 1987, Mitchell 1992, Tomer *et al.* 1996, Torres & Jáuregui 1999); nas pétalas de *O. namaquensis* (von Teichman & van Wyk 1994) e no ovário de *S. terebinthifolius* (Carmello-Guerreiro & Paoli 2002). Tricomas glandulares com porção secretora unisseriada foram descritos apenas para folhas de *Anacardium spruceanum* (Paula & Alves, 1973).

Apesar de muitos trabalhos indicarem a presença de tricomas glandulares em Anacardiaceae, poucos fazem referência à composição da secreção (Metcalf & Chalk 1950, Tomer *et al.* 1996, Wunnachit *et al.* 1992) e a função a ela atribuída. Os tricomas dos ápices vegetativos das quatro espécies estudadas; das depressões foliares, das brácteas, das bractéolas e do eixo da inflorescência e das pétalas de *A. humile*; bem como do pedicelo das flores de *L. molleoides* e da epiderme externa do ovário e do pistilódio das flores de *T. guianensis* produzem secreção heterogênea composta por substâncias lipofílicas e hidrofílicas. Entretanto, os tricomas secretores das depressões foliares de *A. humile* diferentemente dos demais tricomas citados não possuem ácidos graxos na composição de suas secreções. Pela primeira vez na literatura estão sendo descritos, neste trabalho, tricomas de secreção heterogênea para as Anacardiaceae. Os tricomas do estigma das flores de *T. guianensis* e *L. molleoides* produzem apenas substâncias lipofílicas.

Os tricomas glandulares dos primórdios foliares e das folhas jovens de *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis* e os tricomas das brácteas, bractéolas e do eixo das inflorescências de *A. humile* podem ser denominados **coléteres** por serem encontrados em órgãos jovens em desenvolvimento e por secretarem mucilagem dentre outras substâncias, que envolvem e protegem estes órgãos. A presença de coléteres em folhas e em inflorescências de Anacardiaceae está sendo descrita neste trabalho pela primeira vez. Sugere-se que os coléteres em Anacardiaceae protegem os meristemas dos ápices vegetativos e os meristemas florais contra o dessecamento e a proliferação de fungos. A função de proteção dos meristemas em *A. humile* pode ser confirmada pela ausência de tricomas em ápices vegetativos hipógeos (Naranjo & Pernía 1990); desta forma, não há coléteres nos órgãos que estão protegidos sob o solo, mas à medida que os ápices tornam-se epígeos e perdem esta proteção, a presença desta glândula é observada. Em espécies de Anacardiaceae é comum a presença de tricomas glandulares nos órgãos vegetativos, mas estas estruturas estão descritas apenas para órgãos vegetativos já desenvolvidos, desta forma, provavelmente se um número maior de ápices vegetativos fosse estudado certamente encontraríamos coléteres, uma vez que, das quatro espécies estudadas de diferentes gêneros e tribos, as quatro possuem coléteres.

A secreção dos tricomas glandulares das depressões foliares de *A. humile* reage positivamente para compostos fenólicos lipossolúveis e polissacarídeos. Há duas hipóteses para os resultados histoquímicos da secreção dos tricomas foliares de *A. humile*: pode-se inferir que estes tricomas produzem secreção de composição heterogênea composta por substâncias hidrofílicas e lipofílicas ou que estes tricomas produzem néctar com uma grande quantidade de lípidios e compostos fenólicos. Rickson e Rickson (1998) atribuíram caráter nectarífero à secreção produzida pelas papilas glandulares encontradas nas depressões foliares de *Anacardium occidentale* L., mesmo sem terem realizado testes histoquímicos ou químicos que caracterizassem a natureza da secreção. Wunnachit *et al.* (1992) também classificaram de néctar o exsudato observado na epiderme da face

adaxial foliar de *A. occidentale*; estes autores também não realizaram nenhum estudo para caracterizar as substâncias presentes nesta secreção. Os autores supracitados denominaram de nectários extraflorais (NEFs) as estruturas secretoras foliares de *A. occidentale*. Em *A. occidentale*, Wunnachit *et al.* (1992) e Rickson & Rickson (1998) sugerem que as secreções dos (NEFs) podem atrair formigas para a proteção das folhas e frutos contra predadores. Provavelmente, a observação de formigas forrageando as folhas e frutos de *A. occidentale* levou estes autores a conclusão de que as estruturas secretoras presentes nestes órgãos são NEFs. Em *A. humile*, muitas formigas também foram observadas forrageando as folhas, mas o fato das formigas serem atraídas pela secreção dos tricomas foliares não exclui a possibilidade de que esta não seja néctar e sim uma mistura de substâncias lipídicas e polissacarídicas. Neste caso, pode-se inferir que as formigas que estavam forrageando as folhas de *A. humile* estariam na verdade sendo atraídas por uma mistura de lipídios e polissacarídeos e não pelo néctar. Para refutar ou considerar qualquer uma das duas hipóteses propostas para a secreção dos tricomas foliares de *A. humile* e para se poder atribuir uma função a estas estruturas o ideal seria realizar a coleta e a caracterização química do secretado, porém neste estudo não se pode observar secreção profusa advinda destas estruturas.

Os tricomas glandulares florais multicelulares e multisseriados encontrados em *A. humile*, *L. molleoides* e *T. guianensis* possuem secreção composta por ácidos graxos, mucilagem e compostos fenólicos; a presença de substâncias lipofílicas na secreção dos tricomas corolinos de *A. humile*, pode sugerir que estas estruturas estejam relacionadas à defesa química das flores, atuando como dissuasivos de herbivoria e oviposição (Nishida 2002). Tricomas glandulares com secreção heterogênea foram encontrados nas flores de *Zeyheria montana* Mart. e a presença de lipídios e alcalóides na secreção permite que estes tricomas sejam estruturas de defesa química das flores (Machado *et al.* 2006). Em *A. occidentale* L., a secreção de néctar por tricomas glandulares encontrados na base da corola da flor hermafrodita e da flor estaminada foi confirmada através de cromatografia (Wunnachit, *et al.* 1992). Tanto *A. humile* quanto *A. occidentale* possuem tricomas

estruturalmente semelhantes, de mesma localização, mas com secreções e funções distintas. Fato similar pôde ser observado em glândulas foliares de *Passiflora foetida* (Bertol.) Mast., quando comparadas com as glândulas das demais espécies do gênero, Durkee *et al.* (1984) observaram que as glândulas de *P. foetida*, apesar de terem localização e estrutura semelhante aos nectários extraflorais das demais espécies do gênero, produzem resina. Para os autores, essas glândulas podem representar uma transição de um verdadeiro nectário extrafloral para glândulas que secretam lipídios. Esta mesma inferência pode ser feita para os tricomas corolinos de *A. humile*.

Os tricomas estigmáticos de *L. molleoides* e *T. guianensis* estão em fase secretora durante todo o desenvolvimento floral e na flor pistilada em pós-antese de *T. guianensis*, a secreção dos tricomas estigmáticos contém ácidos graxos e compostos fenólicos. Como o estudo histoquímico da secreção dos tricomas estigmáticos não foi realizado em todas as fases de desenvolvimento floral pode-se sugerir, que em outros estádios da flor o estigma produz outros tipos de substâncias como polissacarídeos e proteínas ou que produz apenas lipídios e compostos fenólicos, já detectados na flor em pós-antese; compostos lipídicos de secreções estigmáticas são considerados essenciais para a penetração e direcionamento do crescimento do tubo polínico no estigma (Lush *et al.* 1998; Wolters-Arts *et al.* 1998).

Após o estudo da distribuição, anatomia e histoquímica dos tricomas glandulares em *A. humile*, *L. molleoides*, *S. dulcis* e *T. guianensis* pode-se concluir que em um mesmo órgão, de uma mesma espécie, podem existir tricomas com morfologia, secreções e funções distintas, como é o caso dos tricomas da epiderme externa ovariana e dos tricomas estigmáticos de *T. guianensis*, aliado a isto observa-se que as flores de todas espécies estudadas possuem tricomas, que aparentemente têm a mesma função (defesa química), independentemente de suas diferentes localizações (pétala, pedicelo e epiderme externa ovariana) em cada espécie.

Segundo Mabberley (1997) e Judd *et al.* (1999), as flores de Anacardiaceae possuem um **disco nectarífero intraestaminal**. Alguns estudos florais realizados em microscopia eletrônica de

varredura constataram a presença de disco na base do ovário de muitas flores de Anacardiaceae (Wannan e Quinn, 1991). Descrições micromorfológicas também são escassas e foram realizadas apenas em discos de quatro espécies de Anacardiaceae. Embora muitas das espécies de Anacardiaceae possuam disco intraestaminal, não há relatos na literatura de estudos anatômicos, histoquímicos ou cromatográficos que comprovem a secreção de néctar por esta estrutura.

Verificou-se diferenças estruturais em relação ao disco encontrado na base do ovário e do pistilódio das flores pistiladas e estaminadas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl.

Em *L. molleoides* o disco apresenta parênquima secretor com células de paredes finas e citoplasma denso, epiderme unisseriada não secretora com inúmeros estômatos e vascularização por elementos floemáticos. O parênquima secretor apresentou resultado positivo para carboidratos pelos testes histoquímicos realizados. As características estruturais deste disco e a secreção de carboidratos pelas células parenquimáticas permitiu a inferência pela autora de que este disco seja nectarífero. Em *T. guianensis*, o disco floral é secretor apenas em sua região cortical, não apresenta tecido nectarífero característico como *L. molleoides*, e a secreção das células epidérmicas e subepidérmicas reage positivamente apenas para substâncias lipofílicas. Neste disco, a epiderme tem inúmeros estômatos e as células parenquimáticas desta estrutura possuem apenas amido. Duas hipóteses podem ser propostas para o disco glandular de *T. guianensis*: A presença de estômatos na epiderme e de amido nas células parenquimáticas do disco pode sugerir que este disco produz néctar além de substâncias lipídicas, caracterizando uma glândula mista. O amido poderia ser um precursor do néctar como observado para as flores pistiladas de *Cucumis sativus* L. (Peng *et al.* 2004); nesta espécie, os amiloplastos e vacúolos são responsáveis pela produção de néctar.

Caso não seja possível constatar a produção de néctar pela região medular do disco floral de *T. guianensis*, na segunda hipótese, propõe-se que esta glândula produz apenas lipídios na região cortical e que os estômatos encontrados na epiderme do disco são uma herança filogenética do grupo

a qual esta espécie pertence. Desta forma, o disco em *T. guianensis* não seria nectarífero, como caracterizado por Almeida *et al.* (1998) e as flores ofereceriam outras substâncias como recurso floral e não o néctar como sugerido por Lenza & Oliveira (2005). Para podermos refutar ou apoiar as hipóteses propostas a coleta e análise química do secretado do disco floral seria útil, porém neste trabalho não observou-se secreção profusa advinda desta estrutura.

Nas pétalas das flores de *A. humile*, foi detectada a presença de uma epiderme secretora. Pelos testes histoquímicos não se conseguiu identificar as substâncias que compõem a secreção desta estrutura; pode-se inferir que esta epiderme secretora seja um ósmoforo e que devido à alta volatilidade dos compostos de sua secreção, esta não pôde ser preservada em material fixado e incluído.

Para os frutos de Anacardiaceae, além dos idioblastos, canais e cavidades secretoras, estão descritos também tricomas glandulares em *R. glabra* (Judd *et al.* 1999) e nectários em *A. occidentale* (Wunnachit *et al.* 1992 e Rickson & Rickson 1998).

Em *T. guianensis*, observou-se que o disco intraestaminal, pouco desenvolvido nas flores, cresce concomitantemente com o desenvolvimento do fruto. A presença de um disco glandular presente na flor e persistente no fruto é um registro inédito para Anacardiaceae. As células epidérmicas deste disco e uma a três camadas de células subjacentes reagem positivamente para ácidos graxos e compostos fenólicos, caracterizando este **disco como glandular**. O detalhamento ultra-estrutural do disco de *T. guianensis* indica que as células epidérmicas e subepidérmicas exibem características de células secretoras, tais como citoplasma denso, vacúolos preenchidos por secreção osmiofílica, plastídios e mitocôndrias com inclusões lipídicas e vesículas provenientes do complexo de Golgi. Pela análise histoquímica e ultra-estrutural, pode-se concluir que as células epidérmicas e subepidérmicas do disco glandular do fruto de *T. guianensis* produzem substâncias lipofílicas. Estas mesmas substâncias também foram detectadas histoquimicamente na secreção das células do disco das flores desta mesma espécie. Glândulas secretoras foram reportadas por Morellato & Oliveira

(1994) em frutos de *Guarea macrophylla* (Meliaceae). Segundo estes autores, estas glândulas são nectaríferas e este seria o primeiro registro para nectários extraflorais em frutos de uma espécie da Ordem Sapindales, a mesma ordem que agrega a família Anacardiaceae. Outros pesquisadores sugerem que glândulas nectaríferas ocorrem em frutos de muitas espécies de Bignoniaceae (Elias & Prance 1978). No estudo realizado para a espécie *Guarea macrophylla*, bem como, em muitos outros estudos de glândulas presentes em frutos, apenas a caracterização estrutural é realizada em microscopia óptica, não sendo determinada a composição da secreção (Morellato & Oliveira, 1993, Elias & Prance 1978). Desta forma, muitas vezes os nectários extraflorais aos quais os autores se referem podem ser glândulas lipídicas, como o observado em *P. foetida* por Durkee *et al.* (1984) e no fruto de *T. guianensis*. Pode-se apenas inferir que os compostos lipofílicos produzidos pelo disco glandular do fruto de *T. guianensis* estejam envolvidos na defesa química dos frutos aumentando o potencial reprodutivo desta espécie, pois estas substâncias são tóxicas, antibióticas, dissuasivas de herbivoria e oviposição (Nishida 2002).

Observou-se também, que em um determinado estágio de desenvolvimento do fruto, o endocarpo exsuda substâncias lipídicas e polissacarídicas, evidenciando a presença de **endocarpo secretor**, que até este trabalho, nunca fora descrito na literatura. O **funículo** da semente também é secretor, porém a composição desta secreção e a anatomia desta estrutura não foram estudadas neste trabalho, supõe-se que a composição da secreção funicular seja semelhante à composição do exsudato do endocarpo, devido à similaridade do aspecto das duas, quando observadas em microscopia eletrônica de varredura. A única referência encontrada sobre secreção em frutos e sementes de *T. guianensis* relata a presença de mucilagem nas sementes, que devem ser lavadas para posterior plantio (Pereira 1982). Pode-se inferir que a secreção encontrada na semente, além de ser proveniente do funículo da mesma, seja proveniente do endocarpo, que está em contato direto com a semente. Segundo Fahn (1990), a mucilagem é comum em muitas sementes e frutos com uma única semente e sua presença já foi relatada em Cruciferae, Labiatae, Compositae, Plantaginaceae,

Lythraceae e em outras famílias. Suas funções são muitas: quando a unidade de dispersão é umedecida após sua liberação, ela pode aderir à superfície do solo, tendo a vantagem de não ser levada pelo vento ou chuva para locais desfavoráveis; pode causar redução do peso específico da diáspora na água; regular a germinação da semente, prevenindo o dessecação ou, em caso de excesso de água, quando a semente torna-se totalmente coberta pela mucilagem, impedir a passagem do oxigênio, prevenindo a germinação (Fahn 1990).

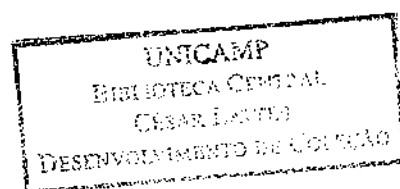
As funções atribuídas à porção mucilagínosa da secreção do endocarpo de *T. guianensis* podem ser similares às funções da mucilagem descritas por Fahn (1990). Porém, estudos de germinação e dispersão são necessários para se ter certeza da função da mucilagem nas sementes e nos frutos desta espécie e da função específica do endocarpo e funículos secretores.

Bibliografia (Introdução e Discussão gerais)

- ADAWADKAR, P.D. & EL SOLÍ, M.A. 1983. An urushiol derivative from poison sumac. *Phytochemistry* 22:1280-1281.
- AGUILAR-ORTIGOZA, C.J., SOSA, V. & AGUILAR-ORTIGOZA, M. 2003. Toxic phenols in various Anacardiaceae species. *Economic Botany* 57:354-364.
- ALENCAR, J.W., MATOS, F.J.A., MACHADO, M.I.L. & CRAVEIRO, A.A. 1996. Essential oil from *Astronium fraxinifolium* Schott. (Anacardiaceae) in different growth stages. *Journal of Essential Oil Research* 8:177-178.
- ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M. & RIBEIRO, J.F. 1998. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC.
- BARROSO, G.M. 1991. Sistemática de Angiospermas do Brasil. vol. 2. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, Viçosa
- BESTMAN, H., CLASSEN, B., KOBOLD, U., VOSTROWSKY, O., KLINGAUF, F. & STEIN, U. 1988. Stem volatile constituents from leaves of *Rhus typhina*. *Phytochemistry* 27:85-90.

- BHATT, J.R. & MOHAN RAM, H.Y. 1992. Development and ultrastructure of primary secretory ducts in the stem of *Semecarpus anacardium* (Anacardiaceae). IAWA Bulletin. 13:173-185.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2000. Estrutura do pericarpo e da semente de *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae) com notas taxonômicas. Revista Brasileira de Botânica 23: 87-96.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.S. 2002. Ontogeny and structure of the pericarp of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). Brazilian Archives of Biology and Technology 45:73-79.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M. & PAOLI, A.A.S. 2005. Ontogeny and structure of the pericarp and seed coat of *Lithraea molleoides* Vell. Engl. (Anacardiaceae) with taxonomic notes. Brazilian Archives of Biology and Technology, Brasil 48:599-610.
- CARMELLO, S.M., MACHADO, S.R. & GREGÓRIO, E.A. 1995. Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). Revista Brasileira de Botânica 18:95-103.
- COIMBRA, R. 1958. Notas de fitoterapia. Revista anual do Rio de Janeiro, Laboratório Clínico Silva Araújo 2: 56-59.
- CORBETT, M. & BILLETS, S. 1975. Characterization of poison oak urushiol. Journal of Pharmaceutical Sciences 64:1715-1718.
- CORREA, M.P. 1926. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e Comércio. p.170.
- CORTHOUT, J., PIETERS, L., CLAEYS, M., VAN DEN BERGHE, D. & VLIETNINCK, A. 1992. Antiviral caffeoyl esters from *Spondias mombin*. Phytochemistry 31:1979-1981.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, 1262p.

- DEN OUTER, R.W. & VAN VEENENDAAL, W.L.H. 1986. Distribution and development of secretory ducts in trichoscypha (Anacardiaceae). *Acta Botanica Neerlandica* 35:425-435.
- DU, Y., OSHIMA R., IWATSUKI, H. & KUMANOTANI, J. 1984. High resolution of gas liquid chromatographic analysis of urushiols of Lac tree (*Rhus vernicifera*) without derivitization. *Journal of Chromatography* 295:179-186.
- DURKEE, L.T.; BAIRD C.W. & COHEN, P.F. 1984. Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae). *American Journal of Botany* 71:596-602.
- ELIAS, T. S. & PRANCE, G.T., 1978. Nectaries on the fruit of *Crescentia* and other Bignoniaceae. *Brittonia*. 30(2): 175-181.
- ENGLER, A., 1892. Anacardiaceae. In: ENGLER, A & PRANTL, K (Eds). *Die Naturlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig: Englemann, 3: 138-178.
- FAHN, A. 1990. *Plant anatomy*. 4th ed., Pergamon Press, New York.
- FAHN, A. & EVERT, R.F. 1974. Ultrastructure of secretory ducts of *Rhus glabra* L. *American Journal of Botany* 61:1-14.
- FARRELL, B.D., DUSSOURD, D.E. & MITTER, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? *American Naturalist* 138:881-900.
- FLEIG, M. 1989. The Anacardiaceae family in Rio Grande do Sul, Brazil. *Ihergia Ser Bot* : 141-156.
- GALLANT, J. B.; KEMP, J. R. & LACROIX, C. R., 1998. Floral development of dioecious staghorn sumac, *Rhus hirta* (Anacardiaceae). *International Journal of Plant Science* 159(4): 539-549.
- GIBSON, A.C. 1981. Vegetative anatomy of *Pachycormus* (Anacardiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 83:273-284.
- GROSS, M., BAER, H. & FALES, H. M. 1975. Urushiols of poisonous Anacardiaceae. *Phytochemistry* 14:2263-2266.



- HARADA, M. 1937. On the distribution and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. Botanical Magazine 51:846-56.
- HORMANZA, J.I. & POLITO, V.S., 1996. Pistillate and staminate development in dioecious *Pistacia vera*. American Journal of Botany 83: 759-766.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980a. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). I. Differentiation and senescence of the shoot ducts. Annals of Botany 46:225-33.
- JOEL, D.M. & FAHN, A., 1980b. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). II. Resin secretion in the primary stem ducts. Annals of Botany 46:779-783.
- JOEL, D.M. & FAHN, A. 1980c. Ultrastructure of resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). III. Secretion of protein- polysaccharide mucilage in fruit. Annals of Botany 46:785-790.
- JOEL, M.D., MARBACH, I. & MAYER, A.M. 1978. Laccase in Anacardiaceae. Phytochemistry 17:796-797.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.S. 1999. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Sunderland.
- LANGENHEIM, J.H. 1990. Plant Resins. American Scientist 78:16-24.
- LENZA, E. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Biologia reprodutiva de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), uma espécie dióica em mata de galeria do triângulo mineiro, Brasil. Revista Brasileira de Botânica 28 : 179-190.
- LINDLEY, J., 1830. An Introduction to the Natural System of Botany. London: Longman, Rees, Orme, Brown and Green.
- LORENZI, H. & MATOS, F.S.A. 2002. Plantas medicinais: Nativas cultivadas e exóticas no Brasil. Instituto Plantarum de estudos da flora Ltda, Nova Odessa.

- LOZANO, N.B. 1986. Desarrollo Y Anatomía del fruto del jobo (*Spondias mombim* L.). *Caldasia* XIV (68-70):465-490.
- LUO, D. & XU, Y.Y. 1984. Preliminary study on the blocked laticiferous canals in the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. *Scientia Silvae Sinicae* 20(4):418-422.
- LUSH, W.M.F., GRIESER, M. & WOLTERS-ARTS. 1998. Directional guidance of *Nicotiana glauca* pollen tubes *in vitro* and on the stigma. *Plant Physiol.* 118:733-741.
- MABBERLEY, D. J., 1997. The plant-book. 2 ed. Cambridge University Press, New York.
- MACHADO, S.R. & CARMELLO-GUERREIRO, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius*. *Acta Botanica Brasilica* 15:189-195.
- MACHADO, S.R., GERGORIO, E.A. & GUIMARÃES, E. 2006. Ovary Peltate Trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): Developmental Ultrastructure and Secretion in Relation to Function. *Annals of Botany* 97:357-369.
- MARNER, F.J., FREYER, A. & LEX, J. 1991. Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia lentiscus*. *Phytochemistry* 30(11):3709-3712.
- METCALFE, C.R., & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons. vol.1, Oxford Clarendon Press.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. Anatomy of the dicotyledons. Second edition. v. 2. Wood structure and conclusions of the general introduction. Clarendon Press, Oxford.
- MITCHELL, J.D., & MORI, S.A. 1987. The cashew and its relatives (*Anacardium*: Anacardiaceae). *Mem. New York Bot. Gard.* 42:1-76.
- MITCHELL, J.D. 1992. Additions to *Anacardium* (Anacardiaceae) *Anacardium amapaense*, a new species from French Guiana and eastern Amazonian Brazil. *Brittonia* 44:331-338.
- MITRA, B. & DATTA, P.C. 1993. The trichomes of the tribe Mangiferae (Anacardiaceae). *Journal of the National Botanical Society* 47: 37-53.

- MONACO, P., PREVITERA, L. & MANGONI, L. 1982. Terpenes in *Pistacia* plants: a possible defense role for monoterpenes against gall-forming aphids. *Phytochemistry* 21:2408-2410.
- MORELLATO, L.P.C. & OLIVEIRA, P.S. 1994. Extrafloral nectaries in the tropical tree *Guarea macrophylla* (Meliaceae). *Can. J. Bot.* 72:157-160.
- MORRETES, B. L. 1967. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do Cerrado II. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo* 305(Bot. 22):207-44.
- MORS, W.B., RIZZINI, C.T. & PEREIRA, N.A. 2000. *Medicinal Plants of Brazil*. Reference Publications, Inc. Algonac, Michigan.
- NAIR, G.M.; VENKAIAH, K. & SHAH, J.J. 1983. Ultrastructure of gum-resin ducts in cashew (*Anacardium occidentale*). *Annals of Botany* 51:297-305.
- NARANJO, H.L. & PERNÍA, N.E. 1990. Anatomia y Ecología de los organos subterrneos de *Anacardium humile* St. Hill. (Anacardiaceae). *Revista Florestal Venezolana* 24:55-76.
- NISHIDA, R. 2002. Sequestration of defensive substances from plants by lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 47:57-92.
- OELRICHS, P.B., MCLEOD, J.K., SEAWRIGHT, A.A. & NG, J.C. 1997. Isolation and characterization of urushiol components from the Australian native cashew (*Semecarpus australiensis*). *Natural Toxins* 5:96-98.
- PAULA, J.E. & ALVES, J.L.H. 1973. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). *Acta Amazonica* 3:39-53.
- PAULA, J.E. & HERINGER, P.E. 1978. Estudo anatômico do fruto *Anacardium curatellifolium* St. Hil. com vistas a sua forma e às bolsas oleíferas. *Brasil Florestal* 9:33-39.
- PAULA, R. C. M., HEATLEY, F. & BUDD, P. M. 1998. Characterization of *Anacardium occidentale* exudates polysaccharide. *Polymer International* 45:27-35.

- PAVIANI T. I. 1965. Contribuição ao conhecimento do gênero *Schinus* L. Anatomia de quatro espécies e uma variedade. Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica de Santa Maria 11:91-110.
- PELL, S.K. 2004. Molecular Systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Dissertation, Department of Biological Sciences, Faculty of the Louisiana State University, Louisiana.
- PENG, Y.B., LI, Y.Q., HAO, Y.J., XU, Z.H. & BAI, S.N. 2004. Nectar production and transportation in the nectaries of the female *Cucumis sativus* L. Flower during anthesis. Protoplasma 224:71-78
- PEREIRA, A.P., 1982. Ensaios em viveiro florestal e frutificação de algumas espécies amazônicas. Silvicultura em São Paulo 16:1135-1138.
- PIENAAR, M.E. & VON TEICHMAN, I. 1998. The generic position of *Lithraea brasiliensis* Marchand (Anacardiaceae) evidence from fruit and seed structure. Botanical Journal of the Linnean Society 126:327-337.
- PINTO, G.L., MARTINEZ, M., MENDOZA, J.A., OCANDO, E. & RIVAS, C. 1995. Comparison of three Anacardiaceae gum exudates. Biochemical Systematics and Ecology 23:151-156.
- RAO, N.S.P., ROW, L.R. & BROWN, R.T. 1973. Phenolic constituents of *Semecarpus anacardium*. Phytochemistry 12:671-681.
- RICKSON, F.R. & RICKSON, M.M. 1998. The cashew nut, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), and its perennial association with ants: extrafloral nectary location and the potential for ant defense. American Journal of Botany 85:835-849.
- RODRIGUES, V.E.G. & de CARVALHO, D.A. 2001. Plantas Medicinais no Domínio dos Cerrados, Editora UFLA. Lavras, Minas Gerais.
- ROSSINI, C., MENENDEZ, P., DELLACASSA, E. & MOYNA, P. 1996. Essential oils from leaves of *Schinus molle* and *S. lentiscifolius* of Uruguayan origin. Journal of Essential Oil Research 8:71-73.

- SANT'ANNA, W. 1975. Anatomia foliar da *Spondias tuberosa* Arruda. Acta Biol. Parana. 4:35-43.
- SANT'ANNA-SANTOS, B.F., THADEO, M., MEIRA, R.M.S.A. & ASCENSÃO, L. 2006. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). Revista Árvore 30:481-489.
- SAWIDIS, T., DAFNIS, S. & WERYZKO-CHMIELEWSKA, E. 2000. Distribution, development and structure of resin ducts in *Pistacia lentiscus* var. *chia* Duhamel. Flora 195:83-94.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Translated by L.A. Boodle & F.G. Fritsch, 2v., Oxford, Clarendon Press.
- SZABÓ, L. 1971. Development of balsam canals and the localization of tannin in some organs of Sumac (*Cotinus coggygria* Scop). Agrobotanika 11:219-233.
- TEWFIC, H.A., HABIB, A. 1977. Studies on gland development and distribution in Anacardiaceae: *Mangifera indica*. Egyptian Journal of Horticulture 4:3-8
- TOMER, E., COHEN, M. & GOTTFREICH, M. 1996. Light and scanning electron microscope (SEM) observations of trichomes in persimmon (*Diospyros kaki* L.) and mango (*Mangifera indica* L.) leaves. Isr. J. Plant Sci. 44:57-67.
- TORRES, M. & JÁUREGUI, D. 1999. Caracterización anatómica foliar de cuatro especies de árboles frutales: *Anacardium occidentale* L. (mamey); *Mangifera indica* L. (mango); *Spondias purpurea* L. (ciruela de huesito) y *Psidium guajava* L. (guayaba). Ernstia 9:155-173.
- VASSILYEV, A.E. 2000. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron*. International Journal of Plant Sciences 161:615-630.
- VENKATIAH, K. 1992. Development, ultrastructure and secretion of gum ducts in *Lannea coromandelica* (Hout) Merrill (Anacardiaceae). Annals of Botany 69:449-457.
- VENNING, F.D. 1948. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. American Journal of Botany 35:637-644.

- VON TEICHMAN, I. 1987. Development and structure of the pericarp of *Lannea discolor* (Sonder) Engl. (Anacardiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 95:125-135.
- VON TEICHMAN, I. 1998. Micromorphological structure of the fruit and seed of *Smodingium argutum* (Anacardiaceae), as an adaptation to its natural habitat. S. Afr. J. Bot 64:121-127.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1991. Taxonomic position of *Rhus problematodes* (Anacardiaceae): Evidence from fruit and seed structure. S. Afr. J. Bot. 57:29-33.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1994. The generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae) - evidence from fruit structure. Annals of Botany 73:175-184.
- VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. 1996. Taxonomic significance of pericarp and seed structure in *Heeria argentea* (Thunb) Meisn (Anacardiaceae), including reference pachychalazy and recalcitrance. Botanical Journal of the Linnean Society 122:335-352.
- WANNAN, B. S., WATERHOUSE, J. T., GADEK, P.A. & QUINN, C. J. 1985. Biflavonylis and the affinities of *Blepharocarya*. Biochemical Systematics and Ecology, 13: 105-108.
- WANNAN, B. S. & QUINN, C. J. 1988. Biflavonoids in the Julianiaceae. Phytochemistry, 27: 3161-3162.
- WANNAN, B. S. & QUINN, C. J. 1991. Floral structure and evolution in the Anacardiaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 107: 349-385.
- WOLTERS-ARTS M, LUSH, W.M. & MARIANI, C. 1998. Lipids are required for directional pollen-tube growth. Nature 392:818-821.
- WUNNACHIT, W., JENNER, C.F. & SEDGLEY, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale*. (Anacardiaceae): An andromonoecious species. International Journal of Plant Science 153:413-420.
- YALPANI, M. & TYMANN, J.H.P. 1983. The phenolic acids of *Pistacia vera*. Phytochemistry 22:2263-2266.