

ELISABETH EMILIA AUGUSTA DANTAS TÖLKE

**“ESTUDOS ESTRUTURAIS EM ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE
Tapirira guianensis AUBL. (ANACARDIACEAE)”**

**CAMPINAS
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

ELISABETH EMILIA AUGUSTA DANTAS TÖLKE

“ESTUDOS ESTRUTURAIS EM ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *TAPIRIRA GUIANESNIS* AUBL. (ANACARDIACEAE)”

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Elisabeth Emilia Augusta
Dantas Tölke
e aprovada pela Comissão Julgadora

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP para obtenção do Título de Mestra em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro
Coorientadora: Profa. Dra. Silvia Rodrigues Machado

CAMPINAS,
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MARA JANAINA DE OLIVEIRA – CRB8/6972
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

T577e

Tölke, Elisabeth Emília Augusta Dantas, 1984-
Estudos estruturais em órgãos reprodutivos de
Tapirira guianensis Aubl. (Anacardiaceae) / Elisabeth
Emília Augusta Dantas Tölke. – Campinas, SP: [s.n.],
2013.

Orientador: Sandra Maria Carmello Guerreiro.
Coorientador: Sílvia Rodrigues Machado.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Estruturas secretoras. 2. Ontogenia. 3. Peri-
carpo. 4. Semente. I. Carmello-Guerreiro, Sandra
Maria, 1963-. II. Machado, Sílvia Rodrigues. III.
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês *Structural studies on the reproductive organs of Tapirira guianensis*
Aubl. (Anacardiaceae)

Palavras-chave em Inglês:

Secretory structures

Ontogeny

Pericarp

Seed

Área de concentração: Anatomia Vegetal

Titulação: Mestra em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

Sandra Maria Carmello Guerreiro [Orientador]

Ana Paula Stechhahn Lacchia

Tatiane Maria Rodrigues

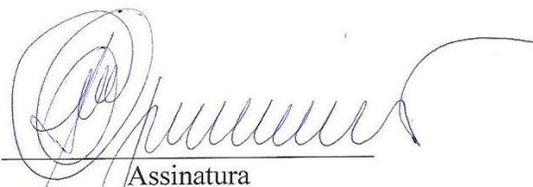
Data da defesa: 07-05-2013

Programa de Pós Graduação: Biologia Vegetal

Campinas, 7 de maio de 2013

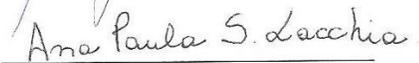
BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro (orientadora)



Assinatura

Profa. Dra. Ana Paula Stechhahn Lacchia



Assinatura

Profa. Dra. Tatiane Maria Rodrigues



Assinatura

Profa. Dra. Beatriz Appezzato Da Glória

Assinatura

Dra. Priscila Andressa Cortez

Assinatura

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de mestrado concedida durante os primeiros meses de desenvolvimento deste trabalho.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa de mestrado e reserva técnica concedida, que foram significativas para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Departamento de Biologia Vegetal e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da UNICAMP, pela excelência do curso oferecido.

À professora Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro pela orientação, por quem tenho grande admiração e respeito. Agradeço pela paciência e pela confiança, agradeço pelos ensinamentos que levarei comigo por toda uma vida.

Ao João Carlos, técnico do laboratório de taxonomia, pelo auxílio durante a realização das coletas, sua ajuda foi de fundamental importância. Ao Tião, técnico da anatomia vegetal, pelos serviços e ensinamentos prestados.

Aos professores Leonardo Galetto da Universidad Nacional de Córdoba e Silvia Rodrigues Machado da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, pelos ensinamentos em uma área que eu nunca havia explorado; a paciência e auxílio deles foram fundamentais para a realização do trabalho.

Aos colegas pesquisadores do laboratório de Anatomia Vegetal: Carolina, Juliana, Cristina, Rafael, Diego e Bárbara, por todo apoio durante todo o tempo que passei longe da minha família. Obrigada, sem vocês eu não teria conseguido.

Ao Iranildo Melo e Ana Paula Lacchia por me incentivarem a buscar sempre mais, foram eles os responsáveis pela minha inserção no mundo da Botânica, a quem serei eternamente grata. São meus mestres e minha inspiração.

A todos os meus amigos que torceram por mim, me deram apoio e me fizeram sentir uma pessoa querida. Agradeço por acreditarem que sou capaz.

À minha família, especialmente aos meus pais, Lúcia e Jürgen. Agradeço pelo amor e dedicação sem limites, por acreditarem em mim e por toda a força mesmo nos momentos mais difíceis.

À Allysson Allan por compartilhar todos os momentos da realização deste trabalho. Foi ele quem me deu força para continuar, mesmo nos momentos em que eu queria desistir. Agradeço pela compreensão, apoio, companheirismo, amor, amizade e por suportar a distância durante todo este tempo.

Sumário

Resumo	1
Abstract	3
Introdução geral	5
A família Anacardiaceae	5
O gênero <i>Tapirira</i> Aubl.	7
Estruturas secretoras em Anacardiaceae	9
Justificativa	16
Objetivos	16
Material e métodos	16
Referências	19
Capítulo 1. Nectário floral de <i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (Anacardiaceae): aspectos estruturais, ultraestruturais e composição química do néctar	27
Resumo	28
Abstract	29
Introdução	30
Material e Métodos	33
Microscopia de luz	33
Histoquímica	33
Microscopia eletrônica de transmissão	34
Análise da secreção produzida pelo tecido glandular	34
Resultados	36
Aspectos estruturais e histoquímica	36
Aspectos ultraestruturais	43

Análise da secreção produzida pelo tecido glandular	53
Discussão	54
Referências	62
Capítulo 2. Ontogenia do pericarpo e semente de <i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	70
(Anacardiaceae): aspectos estruturais, ultraestruturais e histoquímica	
Resumo	71
Abstract	72
Introdução	73
Material e Métodos	75
Microscopia de luz	75
Histoquímica	76
Microscopia eletrônica de varredura	76
Microscopia eletrônica de transmissão	77
Resultados	77
Ontogenia e histoquímica do pericarpo	77
Aspectos ultraestruturais do endocarpo jovem	91
Ontogenia e histoquímica da semente	92
Discussão	99
Referências	107
Considerações finais	114

Resumo

Tapirira guianensis Aubl. (Anacardiaceae) conhecida popularmente como pau-pombo é uma espécie importante para uso madeireiro, medicinal e pode ser empregada na recuperação de áreas degradadas e de matas ciliares. Diversas substâncias são produzidas em estruturas secretoras específicas, sendo a presença de canais e cavidades secretoras característica universal da família. Na literatura é relatada a presença de disco nectarífero intraestaminal nas flores de muitas Anacardiaceae. No entanto, estudos anatômicos e histoquímicos recentes não comprovaram a secreção de néctar por esta estrutura. Além disso, nestes trabalhos foi verificada a persistência do disco intraestaminal no fruto maduro de *T. guianensis*, bem como a presença de um endocarpo secretor em frutos não maduros. Aliado a estes fatores, a ontogenia de frutos e sementes também é um tema pouco explorado frente ao grande número de espécies da família. A anatomia dos frutos de Anacardiaceae tem-se mostrado de grande valor sistemático. Assim, o presente trabalho consistiu em verificar a estrutura e ultraestrutura do disco glandular de flores e frutos de *T. guianensis*, bem como examinar a natureza da secreção produzida e estudar a ontogenia do fruto e da semente. Com os resultados alcançados foi possível determinar que a glândula floral das flores hermafroditas de *T. guianensis* é uma glândula de secreção mista, produzindo néctar com predominância de sacarose, lipídios e substâncias fenólicas. Ultraestruturalmente esta glândula passa por mudanças profundas ao longo do desenvolvimento da flor, inicialmente rica em amiloplastos e posteriormente plastídios desprovidos de amido e mitocôndrias repletas de gotículas de óleo, indicando a mudança da secreção antes predominantemente hidrofílica para lipofílica. No que diz respeito à anatomia do fruto, observou-se que o mesmo possui características típicas da tribo Spondieae, porém algumas delas indicam uma condição menos derivada da espécie, como ausência de opérculo e endocarpo relativamente fino quando comparado com outras espécies da mesma tribo. O pericarpo possui grande quantidade de canais resiníferos na região do mesocarpo, epicarpo produzindo substâncias fenólicas e lipídios, e por meio de microscopia eletrônica de transmissão pôde-se observar o modo de secreção, as organelas envolvidas do processo, bem como a estrutura celular. A semente provém de um óvulo único, anátropo, bitegumentado, crassinucelado de funículo longo. A semente não possui camada

mecânica, tem a exotesta e endotégmen ricos em substâncias fenólicas, cristais no mesotégmen, desenvolvimento de paquicalaza parcial, hipóstase fenólica e lipídica, permanência de funículo aderido ao envoltório da semente, formando um arilo vestigial. O embrião armazena grande quantidade de proteínas e amido, indicando uma condição de transição da espécie, pois em Anacardiaceae as reservas são constituídas principalmente por proteínas e lipídios. O fruto e semente apresentaram algumas características anatômicas possivelmente relacionadas à dispersão como, formação de aerênquima no mesocarpo interno e na mesotesta, acúmulo de amido no mesocarpo. O trabalho traz contribuições no estudo de glândulas florais em Anacardiaceae e na área de ontogenia de frutos e sementes.

Palavras-chave: estruturas secretoras, ontogenia, pericarpo, semente.

Abstract

Tapirira guianensis Aubl. (Anacardiaceae) well-known as “pau-pombo” is an important species with uses as timber, in medicine and can be employed recovering degraded areas and riparian forests. Several substances are produced in specific secretory structures and the presence of cavities and ducts are universal features in the family. In literature is reported the presence of an intrastaminal receptacular nectary in the flowers of many Anacardiaceae, however anatomical and histochemical recent studies did not support the nectar secretion by this structure. Furthermore, in other studies were found the persistence of intrastaminal receptacular gland in *T. guianensis* ripe fruits and the presence of a secretory endocarp in unripe fruits. Allied these factors, the ontogeny of fruits and seeds is also a relatively unexplored subject, in contrast with the large number of species from this family. The fruit anatomy of Anacardiaceae has proved great systematic value. Thus, the present study verified *T. guianensis* structure and ultrastructure of flowers and fruits intrastaminal gland and examined the nature of substances produced as well the fruit and seed development. With the results obtained it was possible provide that the *T. guianensis* floral gland of hermaphrodite flowers is a mixed secretion gland, producing nectar with sucrose predominance, lipids and fenolic substances. Ultrastructurally, this gland undergoes deep changes during the development of the flower, originally rich in amyloplasts and subsequently chloroplasts devoids of starch and mitochondria replete with oil droplets, indicating the change in the secretion predominantly hydrophilic to lipophilic. With respect to the fruit anatomy, it was observed characteristics typical of the tribe Spodieae, but some of them indicate a condition less derived of this species, such as lack of operculum and endocarp relatively thin compared to other species of the same tribe. Pericarp has a large number of resiniferous ducts in mesocarp region, and epicarp produces phenolic substances and lipids. By transmission electron microscopy it was possible to observe the way of secretion, the organelles involved in process and the cell structure. Seed comes from a single ovule, anatropous, bitegmic, crassinucelate with longe funicle. Seed does not have mechanical layer, has exotest and endotegmen rich in phenolic substances, crystals in mesotegmen, development of partial pachycalaza, phenolic and lipid hypostasis, permanence of the funicle attached to the seed-coat, forming a vestigial aril. The

embryo stores large amounts of protein and starch, indicating a transitional condition in the species, because Anacardiaceae reserves comprehend mainly protein and lipids. Fruit and seed showed anatomical characteristics possibly related to dispersion, like formation of aerenchyma in the inner mesocarp and mesotest, starch accumulations in mesocarp. The work brings contributions in the study of Anacardiaceae floral glands and in the area of fruit and seeds ontogeny.

Key-words: secretory structures, ontogeny, pericarp, seed.

Introdução geral

A família Anacardiaceae

A família Anacardiaceae foi descrita pela primeira vez por Lindley em 1830, sendo incluída na ordem Sapindales por Cronquist (1981) juntamente com as famílias Julianiaceae e Burseraceae, permanecendo até hoje na mesma ordem de acordo com a APG III (2009).

Benth & Hooker (1862) foram os primeiros a proporem uma subdivisão da família em duas tribos: Anacardiaceae e Spondiaceae, a primeira contendo apenas um lóculo no ovário; e a segunda contendo de dois a cinco lóculos. A seguir, Marchand (1869) propôs a divisão em nove tribos: Astronieae, Buchananieae, Mangifereae, Pistacieae, Rhoideae, Semecarpeae, Spondiaceae, Tapirieae e Thyrsoideae. Posteriormente, Engler (1876) expandiu essa divisão para 11 tribos, no entanto, com base no número de carpelos e de lóculos na flor e no fruto, morfologia do estilete, inserção do óvulo e morfologia da flor, ele reduziu o número de tribos para cinco: Anacardiaceae, Dobiniaceae, Rhoëae, Semecarpeae e Spondiadeae (Engler 1892). Classificações mais recentes foram propostas por Takhtajan (1987, 1997), Mitchell e Mori (1987) e Wannan & Quinn (1991).

Os dados da estrutura floral (Wannan & Quinn 1991), assim como os da anatomia do pericarpo (Wannan & Quinn 1990), indicam que a divisão infrafamiliar em cinco tribos proposta por Engler (1892) é artificial, e que Blepharocaryaceae e Julianiaceae devem ser incluídas na família Anacardiaceae. As tribos Anacardiaceae, Dobiniaceae, Semecarpeae e Rhoëae são reconhecidas como um grande grupo monofilético, juntamente com Blepharocaryaceae e Julianiaceae (Wannan & Quinn 1990, Wannan & Quinn 1991, Aguilar-Ortigoza & Sosa 2004 Bachelier & Endress 2009). De acordo com os mesmos autores Spondiadeae e dois gêneros de Rhoëae (*Campnosperma* Thwaites e *Pentaspadon* Hook. f.) são muito diversos e são colocados em um grupo artificial caracterizado por um conjunto de plesiomorfias. Embora existam estas contradições, a classificação infrafamiliar proposta por Engler (1892) ainda é a mais aceita (Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009).

Segundo Wannan & Quinn (1990, 1991) e Judd *et al.* (2007) o primeiro grupo (Anacardiaceae, Dobiniaceae, Semecarpeae e Rhoëae) apresenta gineceu com três (ou menos) carpelos, ovários uniloculares com placentação apical e frutos contendo endocarpo composto por

camadas de células regularmente arrançadas. Já Spondiadeae, *Camptosperma* Thwaites e *Pentaspadon* Hook. f. apresentam gineceu pentacarpelar, ovário multilocular e frutos com endocarpo espesso devido a presença de esclereídes lignificadas arrançadas irregularmente.

Anacardiaceae reúne aproximadamente 600 espécies e 70 gêneros (Judd *et al.* 2007, Barroso *et al.* 2007). No Brasil está representada por 14 gêneros e 57 espécies, sendo os gêneros *Schinus* L., *Anacardium* L., *Astronium* Jacq. e *Spondias* L. os mais numerosos (Silva-Cruz & Pirani 2011). Possui distribuição tropical e subtropical, com poucas espécies em regiões temperadas, englobando arbustos ou árvores, raramente lianas ou ervas (Barroso *et al.* 2007, Judd *et al.* 2007, Souza & Lorenzi 2008). Os mesmos autores destacam aspectos morfológicos que caracterizam a família: folhas alternas compostas ou simples, sem estípulas; inflorescência geralmente cimosa, podendo ocorrer panículas; flores pouco vistosas, geralmente unissexuadas, actinomorfas, diclamídeas, disco nectarífero presente, ovário geralmente súpero com lóculos uniovulados, placentação ereta ou pêndula; fruto em geral drupa ou sâmara.

Suas espécies são conhecidas pela produção de frutos comestíveis, madeira, goma, resinas, taninos e outras substâncias utilizadas na medicina popular e na indústria (Dong & Bass 1993, Leon 2003, Pell 2004, Barroso *et al.* 2007, Judd *et al.* 2007). Economicamente, destacam-se *Anacardium occidentale* L. (cajuzeiro), *Mangifera indica* L. (mangueira), *Spondias* spp. (cajás), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Spondias purpurea* L. (seriguela) como produtoras de frutos comestíveis e, *Astronium fraxinifolium* Schott (gonçalo-alves), *Astronium graveolens* Jacq. (guaritá), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira), *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (aroeira-branca) e *Schinopsis brasiliensis* Engl. (braúna) como produtoras de madeira de boa qualidade (Souza & Lorenzi 2008). Os autores ainda relatam a utilização ornamental de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha), *Rhus succedanea* L. (charão) e *Schinus molle* L. (aroeira-salsa).

Possuem canais secretores bem desenvolvidos associados ao floema primário e secundário, característica universal da família (Metcalf & Chalk 1950, Joel & Fahn 1980, Wannan & Quinn 1991, Venkaiah 1992, Carmello *et al.* 1995, Machado & Carmello-Guerreiro 2001, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009). A dermatite provocada por quase todas as espécies da família é atribuída a compostos fenólicos e catecólicos ou a mistura de ambos produzidos em canais ou cavidades secretoras (Correia *et al.* 2006), tendo importância pelas propriedades tóxicas

e alergênicas (Mitchell 1990, Dong & Bass 1993). Os biflavonóides são substâncias fenólicas comuns na maioria das espécies de Anacardiaceae (Aguilar-Ortigosa & Sosa 2004) e são importantes na defesa da planta contra fungos patogênicos, insetos e herbívoros (Mitchell 1990, Aguilar-Ortigosa & Sosa 2004).

O uso medicinal popular despertou interesse pelo estudo da composição química e atividade biológica de seus extratos e metabólitos, sendo, nesse ponto de vista, os gêneros mais estudados: *Mangifera*, *Rhus*, *Anacardium*, *Spondias*, *Lanea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira* e *Melanorrhoea* (Correia *et al.* 2006). No estudo de muitas espécies desses gêneros foi possível detectar flavonóides (principalmente biflavonóides), terpenos, esteróides, xantonas, lipídios fenólicos e derivados (Anjaneyulu *et al.* 1999, Correia *et al.* 2001, Correia *et al.* 2003, Braca *et al.* 2003, Correia *et al.* 2006, Shimizu *et al.* 2006, Ceruks *et al.* 2007, Chryssagvi *et al.* 2008, Ono *et al.* 2008, Correia *et al.* 2008, Santos *et al.* 2010, Deveci *et al.* 2010, Tomaino *et al.* 2010, Moyo *et al.* 2010, Chaves *et al.* 2010).

No uso popular medicinal sobressaem-se *Semecarpus anacardium* L. f. utilizada no tratamento da hanseníase e da debilidade nervosa (Bhatt & Ram 1992); *Tapirira guianensis* Aubl. para hanseníase, diarréia e sífilis (Correia *et al.* 2008); utilização das cascas de *Spondias tuberosa* Arruda no controle de diarréias, verminoses e escorbuto (Nascimento-Silva *et al.* 2008); *Schinus terebinthifolius* Raddi, tendo propriedades febrífuga, homeostática e antitussígena (Machado & Carmello-Guerreiro 2001), na cicatrização de feridas e úlceras, tratamento de inflamações uterinas, atividades antimicrobiana, antiespasmódica e antireumática (Santos *et al.* 2010); *Myracrodouon urundeuva* Fr. All no tratamento de hemorragias, infecções respiratórias, urinárias e distúrbios do sistema digestório, além de possuir efeito antiinflamatório e cicatrizante (Pacheco *et al.* 2006); *Pistacia lentiscus* L. por conter propriedades diuréticas e por tratar a hipertensão, tosse, dor de garganta, eczema, dores no estômago, cálculo renal e icterícia (Benhammou *et al.* 2008); *Anacardium humile* St. Hill. contra úlcera, gastrite e diarréia (Luiz-Ferreira *et al.* 2010).

O gênero *Tapirira* Aubl.

Tapirira Aubl. foi descrito por Aublet em 1775; em 1883 Engler deu ao gênero sua presente circunscrição e o colocou na tribo Spondiadeae (Terrazas & Wendt 1995, Von-Teichman 1990). O gênero inclui aproximadamente 28 espécies arbóreas (Tropicos 2012)

ocorrentes principalmente na América do Sul, estendendo-se pelo México, Peru, Paraguai e Brasil (Terrazas & Wendt 1995). No Brasil ocorrem apenas quatro espécies: *Tapirira guianensis* Aubl., *T. obtusa* (Benth.) J.D. Mitch., *T. pilosa* Sprague e *T. retusa* Ducke. As espécies são amplamente distribuídas por todo território nacional, exceto nos Estados de Roraima, Amapá e Rio Grande do Sul (Silva-Cruz & Pirani 2011). Os indivíduos podem atingir alturas superiores a 30 m e diâmetro acima de 1 m, sendo frequentes em florestas tropicais e florestas de altitude, bem como em outras vegetações (Terrazas & Wendt 1995).

No que concerne à composição química de suas espécies e atividade biológica de seus extratos e metabólitos é um dos gêneros mais estudados da família Anacardiaceae (Correia *et al* 2006). Em estudos fitoquímicos foram isolados flavonóides, terpenos, esteróides, ferulatos e derivados de alquil e alquenil fenóis (David *et al.* 1998, Correia *et al* 2001, Correia *et al* 2003, Correia *et al* 2008, Roumy *et al.* 2009).

Poucos trabalhos anatômicos foram realizados para o gênero, destacando-se Von-Teichman (1990) no estudo acerca da estrutura do pericarpo e da semente de *Tapirira guianensis* Aubl. e Lacchia (2006) evidenciando as estruturas secretoras presentes nos ápices caulinares, nas folhas, nas flores e no fruto da mesma espécie, sendo destacada a presença de canais e idioblastos em todos os órgãos estudados.

A espécie escolhida para este estudo foi *Tapirira guianensis* Aubl. conhecida popularmente como pau-pombo, peito-de-pomba, cupuba ou camboatá (Silva-Cruz & Pirani 2011). É uma espécie arbórea, dióica (Fig. 1), importante para uso madeireiro, medicinal e para ser empregada na recuperação de áreas degradadas e de matas ciliares (Lorenzi 2002, Lenza & Oliveira 2005, Santana *et al.* 2009); florescendo de agosto à dezembro e frutificando de outubro à março (Guimarães 2003, Lenza & Oliveira 2005). Está distribuída em todo território brasileiro (Silva-Cruz & Pirani 2011), principalmente em áreas de solo úmido (Santana *et al* 2009).

É relatada para esta espécie atividade contra câncer humano de próstata e efeito estimulante uterino e é utilizada na medicina popular contra lepra, diarreia e sífilis (David *et al* 1998, Correia *et al* 2003, Correia *et al* 2008).



Figura 1. Inflorescência de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Inflorescência contendo flores hermafroditas. **B.** Inflorescência contendo flores estaminadas. Barras: 1 cm (A-B).

Estruturas secretoras em Anacardiaceae

Como dito anteriormente, a família Anacardiaceae é conhecida pela produção de substâncias importantes na indústria, na medicina popular e de efeito alergênico (Dong & Bass 1993, Leon 2003, Pell 2004, Barroso *et al.* 2007, Judd *et al.* 2007). Todas estas substâncias são produzidas e armazenadas por estruturas secretoras que, para esta família, podem ser de vários tipos: canais, cavidades, idioblastos, tricomas glandulares e nectários (Metcalf & Chalk 1950, Wunnachit *et al.* 1992, Pell 2004, Judd *et al.* 2007, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009).

As estruturas secretoras de maior ocorrência em Anacardiaceae são os canais e cavidades, tanto em órgãos vegetativos quanto reprodutivos (Metcalf & Chalk 1950, Machado & Carmello-Guerreiro 2001, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009). Geralmente estão associados ao floema primário, secundário e/ou medula (Metcalf & Chalk 1950). Os canais podem produzir resina,

goma-resina ou goma; já nas cavidades é mais comum a produção de resinas e óleo-resinas (Venning 1948, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009). Alguns idioblastos podem estar associados aos canais, como em *Tapirira guianensis* Aubl., ou ocorrerem dispersos em diferentes órgãos vegetativos ou reprodutivos (Lacchia 2006).

Entre as estruturas secretoras também merecem destaque os tricomas glandulares ocorrentes em algumas espécies, sendo poucos os estudos que fazem referência à composição química do material exsudado (Metcalf & Chalk 1950). A maioria desses tricomas está associada às folhas (Paula & Alves 1973), podendo ocorrer também nos órgãos reprodutivos, tais como flores, brácteas, eixos de inflorescência, ovário e pétalas (Lacchia 2006). Lacchia (2006) denominou os tricomas glandulares presentes em primórdios foliares e ápices caulinares em algumas espécies de Anacardiaceae de coléteres, por serem estes encontrados em órgãos jovens em desenvolvimento e secretarem mucilagem dentre outras substâncias, sendo descritos pela primeira vez para a família nesse trabalho.

Em *Anacardium occidentale* L., Wunnachit *et al.* (1992) consideraram os tricomas presentes na base da corola ao redor do ovário, como produtores de néctar, sendo comprovada a secreção da substância através de cromatografia. A mesma espécie foi estudada por Rickson & Rickson (1998), sendo atribuído caráter nectarífero à secreção produzida pelos tricomas glandulares que revestem depressões foliares. Lacchia (2006) por meio de testes histoquímicos em folhas e tricomas glandulares das pétalas florais de *Anacardium humile*, detectou a presença de compostos fenólicos lipossolúveis e polissacarídeos, apresentando duas hipóteses para estes resultados, os tricomas produzem secreção mista ou são secretores de néctar com grande quantidade de lipídios e compostos fenólicos. Os autores acreditam que a secreção atrai formigas responsáveis pela proteção das folhas contra herbivoria.

Além dos tricomas glandulares que podem ser responsáveis pela produção de néctar Judd *et al.* (2007) e Barroso *et al.* (2007) afirmam que em algumas espécies as flores de Anacardiaceae possuem um disco nectarífero intraestaminal. Wannan & Quinn (1991), Von-Teichman & Van-Wyk (1994, 1996), Gallant *et al.* (1998) e Lacchia (2006) constataram a presença desse disco na base do ovário de muitas espécies da família, no entanto não haviam estudos detalhados que comprovassem a secreção de néctar por este disco. Von-Teichman & Van-Wyk (1994, 1996) estudaram a estrutura anatômica da glândula presente em quatro espécies (*Heeria argentea*

Meisn., *Ozoroa namaquensis* (Sprague) I. von Teichman & A.E. van Wyk, *Ozoroa paniculosa* (Sond.) R. Fern. & A. Fern. e *Protorhus longifolia* (Bernh.) Engl.). No entanto, não realizaram nenhum estudo histoquímico ou bioquímico que comprovasse a composição do exsudato. No trabalho de Lacchia (2006) foi comprovada a presença de disco glandular na base do ovário de flores estaminadas e hermafroditas de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. e *Tapirira guianensis* Aubl. sendo que nesta última espécie, o mesmo permanece durante todo o desenvolvimento do fruto. Por meio de testes histoquímicos a autora constatou a produção de substâncias lipofílicas e polissacarídicas nessa estrutura, no entanto, também não ficou comprovada a secreção de néctar.

O presente estudo representa uma continuidade do trabalho “Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, histoquímica e ultraestrutura” desenvolvido como tese de doutorado por Lacchia (2006). Através dos dados obtidos pela autora, constatou-se que a flor de *Tapirira guianensis* Aubl. possui um disco intraestaminal e o mesmo persiste na base do fruto. Neste disco a epiderme tem inúmeros estômatos e as células parenquimáticas possuem amido. A autora levantou em seu trabalho duas hipóteses acerca da problemática: (1) a presença de estômatos na epiderme e de amido nas células parenquimáticas do disco poderia levar a supor que este disco produziria néctar além de substâncias lipídicas, sendo caracterizado como uma glândula mista; ou (2) esta glândula produz apenas lipídios na região cortical e os estômatos são uma herança filogenética do grupo ao qual pertence a espécie.

Outro aspecto interessante observado por Lacchia (2006) em *T. guianensis* foi a presença de um endocarpo secretor em frutos não maduros. O conteúdo das células da camada do endocarpo em contato com o lóculo reagiu 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, no entanto, não foi possível caracterizar a composição química exata da substância secretada. Estes resultados serviram de estímulo para análise dessas substâncias secretadas para que por meio dos novos dados obtidos averiguar se o disco intraestaminal presente na espécie em questão é um nectário floral.

Agrega-se a estes fatores acima mencionados a inserção da presente dissertação no projeto de pesquisa intitulado “Estruturas secretoras em espécies vegetais do Cerrado: abordagens morfológica, química e ecológica”, realizada na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita

Filho – UNESP, Campus de Botucatu, liderada pela pesquisadora Profa. Dra. Silvia Rodrigues Machado. O projeto tem por objetivo ampliar o conhecimento sobre aspectos da biologia e química da secreção em espécies vegetais do Cerrado e reúne pesquisadores de diversas instituições, inclusive da UNICAMP.

As estruturas secretoras em órgãos reprodutivos para a família Anacardiaceae ainda são pouco estudadas se comparados ao volume de informações acerca dessas estruturas em órgãos vegetativos (Tabela 1 e 2). Se considerarmos os estudos anatômicos, histoquímicos e bioquímicos relacionados especificamente as estruturas produtoras de néctar, teremos então um número ainda mais reduzido (Wunnachit *et al.* 1992; Rickson & Rickson 1998). Nas tabelas a seguir apresentam-se resumidamente os estudos realizados com estruturas secretoras presentes em órgãos vegetativos e reprodutivos em Anacardiaceae.

Tabela 1. Estruturas secretoras em órgãos vegetativos na família Anacardiaceae.

Espécies	Canais	Cavidades	Idioblastos	Tricomas	Nectários	Autores
<i>Anacardium amapaense</i> J.D. Mitch.	-	-	-	X	-	Mitchell (1992)
<i>Anacardium humile</i> A. St.-Hil.	X	-	X	X	-	Lacchia (2006); Naranjo e Pernia (1990);
<i>Anacardium nanum</i> A. St.-Hil.	X	-	-	X	-	Morretes (1967)
<i>Anacardium occidentale</i> L.	X	X	-	X	X	Nair <i>et al.</i> (1983); Torres e Jáurequi (1999); Rickson e Rickson (1998); Wunnachit <i>et al.</i> (1992)
<i>Anacardium parvifolium</i> Ducke	-	-	-	X	-	Mitchell (1992)
<i>Anacardium spruceanum</i> Benth. Ex Engl.	X	X	X	X	-	Paula e Alves (1973)
<i>Cotinus coggygria</i> Scop.	X	-	X	-	-	Szabó (1971)
<i>Lannea coromandelica</i> (Houtt.) Merr.	X	-	-	-	-	Venkaiah (1992)
<i>Lithraea molleoides</i> Engl.	X	-	X	X	-	Lacchia (2006); Carmello <i>et al.</i> (1995)
<i>Mangifera indica</i> L.	X	X	-	X	-	Venning (1948); 14. Tewfic e Habib (1977); 15. Joel e Fahn (1980)a; Torres e Jáurequi (1999)
<i>Pachycormus discolor</i> Coville ex Standl.	X	-	X	X	-	Gibson (1981)
<i>Pistacia lentiscus</i> L.	X	-	X	-	-	Sawidis <i>et al.</i> (2000);
<i>Pleiogygium solandri</i> (Benth.) Engl.	X	-	-	-	-	Venning (1948)
<i>Rhus glabra</i> L.	X	-	-	-	-	Fahn e Evert (1964)
<i>Rhus succedanea</i> L.	X	-	-	-	-	Harada (1937)
<i>Rhus toxicodendron</i> L.	X	-	-	-	-	Vassilyev (2000)
<i>Rhus vernicifera</i> DC.	X	-	-	-	-	Luo e Xu (1984)

Continuação tabela 1

<i>Schinus lentiscifolius</i> Marchand	X	-	X	X	-	Paviani (1965)
<i>Schinus molle</i> L.	X	-	X	X	-	Paviani (1965)
<i>Schinus polygamus</i> (Cav.) Cabrera	-	-	X	X	-	Paviani (1965)
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	X	-	X	-	-	Venning (1948); Paviani (1965)
<i>Semecarpus anacardium</i> L. f.	X	-	-	-	-	Bhatt e Ram (1992)
<i>Spondias dulcis</i> G. Forst.	X	-	X	X	-	Lacchia (2006); Venning (1948); Sant'anna-Santos <i>et al.</i> (2006)
<i>Spondias purpurea</i> L.	-	X	-	X	-	Torres e Jáurequi (1999)
<i>Spondias tuberosa</i> Arruda	X	-	-	X	-	Sant'anna (1975)
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	X	-	X	X	-	Lacchia (2006); Den Outer e Van- Vaenendaal (1986).

Tabela 2. Estruturas secretoras em órgãos reprodutivos na família Anacardiaceae.

Espécies	Canais	Cavidades	Idioblastos	Tricomas	Nectários	Autores
<i>Anacardium curatellaefolium</i> Saint-Hilaire	X	X	-	-	-	Paula e Heringer (1978)
<i>Anacardium humile</i> A. St.-Hil.	X	-	-	X	-	Lacchia (2006)
<i>Anacardium occidentale</i> L.	-	-	-	-	X	Wunnachit <i>et al.</i> (1992)
<i>Anacardium spruceanum</i> Benth. Ex Engl.	X	X	-	-	-	Paula e Alves (1973)
<i>Astronium graveolens</i> Jacq.	X	-	-	-	-	Carmello-Guerreiro e Paoli (2000)
<i>Heeria argentea</i> Meisn.	X	-	X	-	-	Von-Teichman e Van-Wyk (1996)
<i>Lansea discolor</i> Engl.	X	-	X	-	-	Von-Teichman (1987)
<i>Lithraea brasiliensis</i> Marchand	X	-	X	-	-	Piennar e Von-Teichman (1998)
<i>Lithraea molleoides</i> Engl.	X	-	-	X	-	Lacchia (2006); Carmello-Guerreiro e Paoli (2005)
<i>Mangifera indica</i> L.	X	-	-	-	-	Venning (1948); Joel e Fahh (1980)b
<i>Ozoroa namaquensis</i> (Sprague) I. von Teichman & A.E. van Wyk	-	-	-	X	-	Von-Teichman e Van-Wyk (1994)
<i>Protorhus namaquensis</i> Sprague	X	X	X	-	-	Von-Teichman e Van-Wyk (1994)
<i>Rhus problematodes</i> Merxm. & Roessl.	X	-	X	-	-	Von-Teichman e Van-Wyk (1991)
<i>Rhus succedanea</i> L.	X	-	-	-	-	Harada (1937)
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	X	X	-	X	-	Machado e Carmello-Guerreiro (2001); Carmello-Guerreiro e Paoli (2002)
<i>Schinopsis balansae</i> Engl.	X	-	-	-	-	González e Vesprini (2010)
<i>Smodingium argutum</i> E. Mey. ex Sond.	X	-	-	-	-	Von-Teichman (1998)
<i>Spondias mombin</i> L.	X	-	X	-	-	Lozano (1986)
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	X	-	-	X	-	Lacchia (2006)

Justificativa

A família Anacardiaceae é bastante representativa em território nacional e poucos trabalhos abordam a estrutura de nectários e a química da secreção produzida por estas estruturas (Wunnachit *et al.* 1992, Rickson & Rickson 1998). Do ponto de vista da ontogenia de frutos e sementes também são poucos os estudos que abordam esse aspecto (Von-Teichman & Robbertse 1986, Von-Teichman 1987, Von-Teichman & Van-Wyk 1988, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, Li *et al.* 1999, Carmello-Guerreiro & Paoli 2002, González & Vesprini 2010), particularmente na tribo Spondiadeae (Von-Teichman 1987), a maioria dos trabalhos relatam a anatomia de frutos e sementes já desenvolvidos, o que pode gerar confusões na interpretação dos resultados.

Neste contexto, a análise anatômica e histoquímica dessas estruturas, bem como, as análises químicas da secreção, oferecem a oportunidade de discutir o papel evolutivo e o papel ecológico das estruturas aqui abordadas, bem como, fornecer dados que possam ser utilizados em trabalhos filogenéticos.

Objetivos

Considerando o exposto anteriormente, este trabalho tem por objetivo geral:

- Verificar a estrutura e ultraestrutura do disco glandular de flores e frutos, bem como, examinar a natureza da secreção produzida e estudar a ontogenia do fruto e da semente de *Tapirira guianensis* Aubl.

Material e Métodos

As coletas foram realizadas de acordo com as informações de distribuição, floração e frutificação obtidas em Guimarães (2003), Lacchia (2006) e Lenza & Oliveira (2005). Três áreas do Estado de São Paulo foram selecionadas: Estação Experimental de Itirapina (22° 13' S; 47° 51' O), Estação Experimental de Mogi Guaçu (22° 10' S; 47° 07' O) e fragmento em Sousas – Distrito de Campinas (22° 51' S; 46° 57' O). Os locais de coleta estão representados na Figura 2.

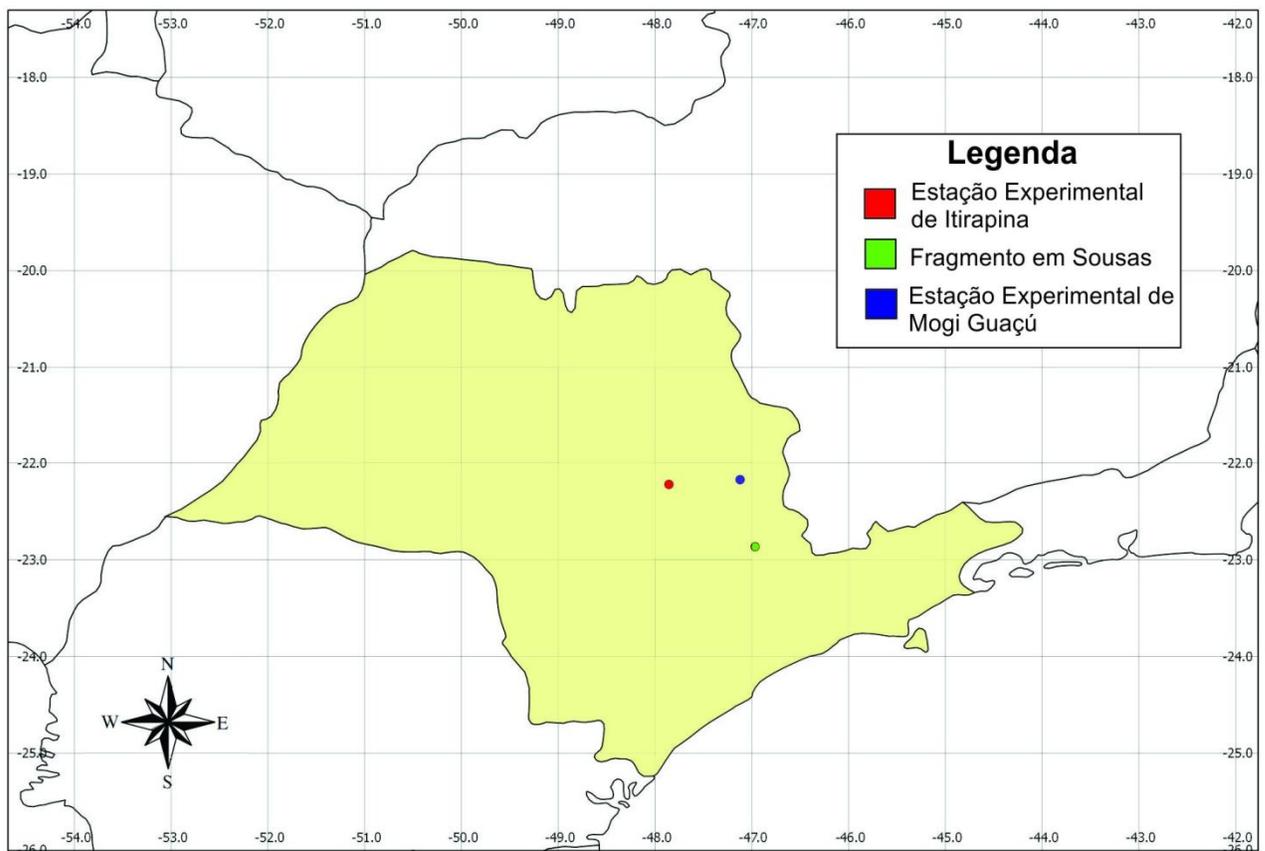


Figura 2. Mapa do Estado de São Paulo (tom pastel) evidenciando os locais de coleta em áreas do Sudeste Brasileiro.

A Estação Experimental de Itirapina tem área de 3.212,81 ha e abrange amostras significativas da vegetação de Cerrado e Campo Cerrado. A área está envolta por áreas de reflorestamentos de *Pinnus* spp. e *Eucalyptus* spp. (Silva 2005). Está localizada no município de Brotas, no Estado de São Paulo, entre as coordenadas 22° 10' a 22° 15' S e 47° 45' a 48° O. O clima da região é do tipo Cwa de Köppen (1948) – mesotérmico com inverno seco em que a temperatura média do mês mais frio é inferior a 18°C e a do mês mais quente é superior a 22°C e total das chuvas do mês mais seco não ultrapassa 30 mm (Silva 2005). De acordo com Silva (2005) a precipitação média anual é 1.458,9 mm, o período chuvoso se concentra entre os meses de outubro e março e corresponde a cerca de 80% da precipitação anual.

A Estação Experimental de Mogi Guaçú, onde está localizada a Fazenda Campininha, no município de Mogi Guaçú, Estado de São Paulo, possui uma área de 2.706,28 ha. Abrange vegetação de Cerrado *sensu lato* (de campo a cerradão) e possui algumas áreas de

reflorestamento de *Eucalyptus* spp. O clima da região é do tipo Cwa de Köeppen (1948), o período chuvoso é bem marcado e concentra-se entre os meses de outubro e fevereiro, com índices pluviométricos acima de 100 mm; o período de seca compreende os meses de junho a agosto, característico da região (Leitão & Silva 2004). Ainda segundo os mesmos autores, os meses mais quentes apresentam temperaturas superiores a 22°C e os mais frios inferiores a 18°C.

No município de Campinas, SP, há cerca de 200 fragmentos florestais que testemunham a vegetação original (Santos & Kinoshita 2003). Neste trabalho foi selecionado um desses fragmentos de Floresta Atlântica Estacional Semidecídua situado no Distrito de Sousas. Em geral, nessa região o clima é do tipo Cwag' de Köeppen (1958), temperado, moderadamente chuvoso, de inverno seco não rigoroso, com precipitação média anual de 1.409 mm (Santos & Kinoshita 2003). A temperatura média anual é de 21,4°C, com médias máximas de 27,1°C e médias mínimas de 15,6°C.

As coletas foram realizadas entre os meses de março a dezembro de 2011 e janeiro a fevereiro de 2012 (Tabela 3). As regiões de coleta correspondem a margens de córregos ou brejos, por serem estas as preferidas pela espécie. Vale salientar que as três áreas de coletas correspondem a formações florestais.

Tabela 3. Listagem das coletas realizadas e órgãos coletados de *Tapirira guianensis* Aubl.

Data	Local	Órgãos coletados
25/03/2011	Estação Experimental de Itirapina	Frutos completamente desenvolvidos.
13/09/2011	Estação Experimental de Mogi Guaçu	Flores femininas.
17/10/2011	Fragmento em Sousas	Botões florais, flores femininas e masculinas e frutos em vários estágios de desenvolvimento.
17/11/2011	Fragmento em Sousas	Frutos em vários estágios de desenvolvimento.
06/12/2011	Fragmento em Sousas	Frutos em vários estágios de desenvolvimento.
18/01/2012	Fragmento em Sousas	Frutos completamente desenvolvidos.
08/02/2012	Fragmento em Sousas	Frutos completamente desenvolvidos.

Os resultados obtidos foram organizados em dois capítulos:

- Capítulo 1: Nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae): aspectos estruturais, ultraestruturais e composição química do néctar.

- Capítulo 2: Ontogenia do pericarpo e semente de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae): aspectos estruturais, ultraestruturais e histoquímica.

Referências

- Aguilar-Ortigoza, C.J.; Sosa, V. 2004. The evolution of toxic phenolic compounds in a group of Anacardiaceae genera. **Taxon**, 53: 357-364.
- Anjaneyulu, V.; Satyanarayana, P.; Viswanadham, K.N.; Jyothi, V.G.; Rao, K.N.; Radhika, P. 1999. Triterpenoids from *Mangifera indica*. **Phytochemistry**, 50: 1229-1236.
- APG III - Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of Linnean Society**, 161: 105-121.
- Bachelier, J.B.; Endress, P.K. 2009. Comparative floral morphology and anatomy of Anacardiaceae and Burseraceae (Sapindales), with a special focus on gynoecium structure and evolution. **Botanical Journal of Linnean Society**, 159: 499-571.
- Barroso, G.M.; Peixoto, A.L.; Ichaso, C.L.F.; Guimarães, E.F.; Costa, C.G. 2007. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. 2 ed. Viçosa: UFV, vol. 2, p. 266-271.
- Benhammou, N.; Bekkara, F.A.; Panovska, T.K. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 2: 22-28.
- Benthán, G.; Hooker, J.D. 1862. Anacardiaceae. **Genera Plantarum**. 1: 415-428. London: Reeve & Company.
- Bhatt, J.B.; Ram, H.Y.M. 1992. Development and ultrastructure of primary secretory ducts in the stem of *Semecarpus anacardium* (Anacardiaceae). **IAWA Bulletin**, 13: 173-185.
- Braca, A.; Politi, M.; Sanogo, R.; Sanou, H.; Morelli, I.; Pizza, C.; Tommasi, N. 2003. Chemical composition and antioxidant activity of phenolic compounds from wild and cultivated *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae) leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 6689-6695.
- 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.
- 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 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. Anatomy of the pericarp and seed-coat of *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae) with taxonomic notes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 48: 599-610.
- Ceruks, M.; Romoff, P.; Fávero, O.A.; Lago, J.H.G. 2007. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, 30: 597-599.
- Chaves, M.H.; Citó, A.M.G.L.; Lopes, J.A.D.; Costa, D.A.; Oliveira, C.A.A.; Costa, A.F.; Júnior, F.E.M.B. 2010. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20: 106-112.
- Chryssavgi, G.; Vassiliki, P.; Athanasios, M.; Kibouris, T.; Michael, K. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. **Food Chemistry**, 107: 1120-1130.
- Correia, S.J.; David, J.M.; David, J.P.; Chai, H.; Pezzuto, J.M.; Cordell, G.A. 2001. Alkyl phenols and derivatives from *Tapirira obtusa*. **Phytochemistry**, 56: 781-784.
- Correia, S.J.; David, J.P.; David, J.M. 2003. Constituintes das cascas de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae). **Química Nova**, 26: 36-38.
- Correia, S.J.; David, J.P.; David, J.M. 2006. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, 29:1287-1300.
- Correia, S.J.; David, J.M.; Silva, E.P.; David, J.P.; Lopes, L.M.X.; Guedes, L.M.S. 2008. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das folhas de *Tapirira guianensis*. **Química Nova**, 31: 2056-2059.
- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press.
- David, J.M.; Chávez, J.P.; Chai, H.; Pezzuto, J.M.; Cordell, G.A. 1998. Two New Cytotoxic Compounds from *Tapirira guianensis*. **Journal of Natural Products**, 61: 287-289.
- Den Outer, R.W.; Van-Venedaal, W.L.H. 1986. Distribution and development of secretory ducts in trichoscypha (Anacardiaceae). **Acta Botanica Neerlandica**, 35: 425-435.

- Deveci, O; Sukan, A; Tuzun, N.; Kocabas, E.E.H. 2010. Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. **Journal of Medicinal Plants Research**, 21: 2211-2216.
- Dong, Z.; Bass, P. 1993. Wood anatomy and schrubs from China. V. Anacardiaceae. **IAWA Journal**, 14:87-102.
- Engler, A. 1876. Anacardiaceae. *In*: Martius, C.F.P. (ed.). **Flora brasiliensis**, 12(2): 367-418.
- Engler, A. 1892. Anacardiaceae. *In*: Engler, A.; Prantl, K. **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. Leipzig: Englemann, vol. 3, p. 138-178.
- Fahn, A.; Evert, R.F. 1974. Ultrastructure of secretory ducts of *Rhus glabra* L. **American Journal of Botany**, 61 : 1-14.
- 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 : 539-549.
- Gibson, A.C. 1981. Vegetative anatomy of *Pachycormus* (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society**, 83 : 273-284.
- González, A.M.; Vesprini, J.L. 2010. Anatomy and fruit development in *Schinopsis balansae* (Anacardiaceae). **Anales del Jardín Botánico de Madrid** 67: 103-112.
- Guimarães, M.A. Frugivoria por aves em *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) na zona urbana do município de Araruama, estado do Rio de Janeiro, sudeste brasileiro. **Atualidades Ornitológicas**, 116: 12-21.
- Harada, M. 1937. On the distribution and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. **Botanical Magazine**, 51: 846-856.
- Joel, D.M.; Fahn, A. 1980a. Ultrastructure of the resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) 1. Differentiation and senescence of the shoot ducts. **Annals of Botany**, 46 : 225-233.
- Joel, D.M.; Fahn, A. 1980b. Ultrastructure of the resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) 3. Secretion of the protein-polysaccharide mucilage in the fruit. **Annals of Botany**, 46 : 785-790.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. ; Stevens, P.F. ; Donoghue, M.J. 2007. Anacardiaceae. *In*: Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. **Plant systematics: a phylogentetic approach**. Massachusetts: Sunderland, p.416-417.
- Köeppen, W. 1948. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Econômica.

- Lacchia, A.P.S. 2006. **Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae**: anatomia, histoquímica e ultra-estrutura. Tese de doutorado. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.
- Lacchia, A.P.S.; Carmello-Guerreiro, S. M. 2009. Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae. **Acta Botanica Brasilica**, 23: 376-388.
- Leitão, A.C.; Silva, O.A. 2004. Variação sazonal de macronutrientes em uma espécie arbórea de Cerrado, na Reserva Biológica e Estação Experimental de Mogi-Guaçu, Estado de São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, 55(84): 127-136.
- 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.
- Leon, W.J. 2003. Estudio anatómico del xilema secundario de 17 especies de la familia Anacardiaceae en Venezuela. **Acta Botánica Venezolana**, 26:1-30.
- Li, J.X.; Baskin, J.M.; Baskin, C.C. 1999. Pericarp ontogeny and anatomy in *Rhus aromatica* Ait. and *R. glabra* L. (Anacardiaceae). **Journal of the Torrey Botanical Society** 126: 279-288.
- Lindley, J. 1830. **An introduction to the natural system of botany**. London: Longman, Rees, Orme, Brown and Green.
- Lorenzi, H. 2002. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4 ed. São Paulo: Nova Odessa.
- Lozano, N.B. 1986. Desarrollo y anatomia del fruto del jobo (*Spondias moin* L.). **Caldasia XIV** (68-70): 465-490.
- Luiz-Ferreira, A.; Almeida, A.C.A.; Cola, M.; Barbastefano, V.; Almeida, A.B.A.; Batista, L.M.; Farias-Silva, E.; Pellizzon, C.H.; Hiruma-Lima, C.A.; Santos, L.C.; Vilegas, W; Brito, A.R.M.S. 2010. Mechanisms of the gastric antiulcerogenic activity of *Anacardium humile* St. Hill. on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. **Molecules**, 15: 7153-7166.
- Luo, D.; Xu, Y.Y. 1984. Preliminary study on the blocked laticiferous canals in the bark of *Rhus verniciflua* Stokes. **Scientia Silvae Sinicae**, 20: 418-422.
- Machado, S.R.; Carmello-Guerreiro, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, 15: 189-195.
- Marchand, N.L. 1869. **Révision du groupe des Anacardiacees**. Paris: J.B Bailliére & Sons.

- Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, vol. 2, p.244-248.
- Mitchell, J.D. 1990. The poisonous Anacardiaceae genera of the world. **Advances in Economic Botany**, 8: 103-129.
- 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): 207-244.
- Moyo, M.; Ndhlala, A.R.; Finnie, J.F.; Staden, J.V. 2010. Phenolic composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Sclerocarya birrea* and *Harpephyllum caffrum* (Anacardiaceae) extracts. **Food Chemistry**, 123: 69-76.
- 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 órganos subterráneos de *Anacardium humile* St. Hill. (Anacardiaceae). **Revista Florestal Venezolana**, 24: 55-76.
- Nascimento-Silva, O; Chinalia, L.A.; Paiva, J.G.A. 2008. Caracterização histoquímica dos folíolos de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae Lidl.). **Revista Caatinga**, 21: 62-68.
- Ono, M; Yamashita, M; Mori, K; Masuoka, C; Eto, M; Kinjo, J.; Ikeda, T.; Yoshimitsu, H.; Nohara, T. 2008. Serquiterpenoids, triterpenoids and flavonoids from the fruits of *Schinus molle*. **Food science and technology research**, 14: 499-508.
- Pacheco, M.V; Matos, V.P.; Ferreira, R.L.C.; Feliciano, A.L.P.; Pinto, K.M.S.; 2006. Efeito de temperatura e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, 30: 359-367.
- 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. Hill. com vista a sua forma e às bolsas oleíferas. **Brasil Florestal**, 9: 33-39.
- 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.
- Piennar, M.E.; Von-Teichman, I. 1998. The generic position of *Lithraea brasiliensis* Marchand (Anacardiaceae): evidence from fruit and seed structure. **Botanical Journal of Linnean Society**, 126: 327-337.
- Rickson, F.R.; Rickson, M.M. 1998. The cashew nut, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), and its perennial association with ants: extrafloral nectary location and the potencial for ant defense. **American Journal of Botany**, 85: 835-849.
- Roumy, V.; Fabre, M.; Portet, B.; Bourdy, G.; Acebey, L.; Vigor, C.; Valentin, Amouilis, C. 2009. Four anti-protozoal and anti-bacterial compounds from *Tapirira guianensis*. **Phytochemistry**, 70: 305-311.
- Santana, W.M.S.; Silva-Mann, R.; Ferreira, R.A.; Arrigoni-Blank, M.F.; Blank, A.; Poderoso, J.C.M. 2009. Morfologia de flores, frutos e sementes de pau-pombo (*Tapirira guianensis* Aublet. - Anacardiaceae) na região de São Cristóvão, SE, Brasil. **Scientia Forestalis**, 37: 47-54.
- Sant'anna, W. 1975. Anatomia foliar de *Spondias tuberosa* Arruda. **Acta Biologica Paranaense**, 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.
- Santos, K.; Kinoshita, L.S. 2003. Flora arbustivo-arbórea do fragmento de floresta estacional semidecidual do Ribeirão Cachoeira, município de Campinas, SP. **Acta Botanica Brasilica**, 17(3): 325-341.
- Santos, A.C.A.; Rossato, M.; Serafini, L.A.; Bueno, M.; Crippa, L.B.; Sartori, V.C.; Dellacassa, E.; Moyna, P. 2010. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20: 154-159.
- 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.
- Shimizu, M.T.; Bueno, L.J.F.; Rodrigues, R.F.O.; Sallowicz, F.A.; Sawaya, A.C.H.F.; Marques, M.O.M. 2006. Essential oil of *Lithraea molleoides* (vell.): chemical composition and antimicrobial activity. **Brazilian Journal of Microbiology**, 37: 556-560.
- Silva, D.A. 2005. Levantamento do meio físico das Estações Ecológica e Experimental de Itirapina, São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto Florestal**, 17(1): 113-128.

- Silva-Cruz, C.L.; Pirani, J.R. 2011. Anacardiaceae. *In: Lista de espécies da Flora do Brasil.* Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB000044>> Acesso em: 29/04/2012.
- Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2008. Anacardiaceae. *In: Souza, V.C.; Lorenzi, H. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.* 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 432-434.
- Szabó, L. 1971. Development of balsam canals and the localization of tannin in some organs of Sumac (*Cotinus coggygria* Scop). **Agrobotanika**, 11: 219-233.
- Takhtajan, A. 1987. **Systema Magnoliophytorum.** Leningrad: Nauka.
- Takhtajan, A. 1997. **Diversity and classification of flowering plants.** New York: Columbia University Press.
- Terrazas, T; Wendt, T. 1995. Systematic wood anatomy of the genus *Tapirira* Aublet (Anacardiaceae) - a numerical approach. **Brittonia**, 47: 109-129.
- Tewfic, H.A.; Habib, A. 1977. Studies on gland development and distribution in Anacardiaceae: *Mangifera indica*. **Egyptian Journal of Horticulture**, 4: 3-8.
- Tomaino, A.; Martorana, M.; Arcoraci, T.; Monteleone, D.; Giovinazzo, C.; Saija, A. 2010. Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. **Biochimie**, 92: 1115-1122.
- Tomer, E.; Cohen, M.; Gottreich, 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 Science**, 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.
- Tropicos. 2012. Tropicos Home. Missouri Botanical Garden. Disponível em <http://www.tropicos.org/>; acessado em 30/04/2012.
- 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* (Houtt.) 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**, 36: 637-644.
- Von-Teichman, I. 1987. Development and structure of the pericarp of *Lannea discolor* (Sonder) Engl. (Anacardiaceae). **American Journal of Linnean Society**, 95: 125-135.
- Von-Teichman, I. 1990. Pericarp and seed coat structure in *Tapirira guianensis* (Spondiadeae: Anacardiaceae). **South African Journal of Botany**, 56: 435-439.
- Von-Teichman, I. 1998. Micromorphological structure of the fruit and seed of *Smodingium argutum* (Anacardiaceae), as an adaptation to its natural habitat. **South African Journal of Botany**, 64: 121-127.
- Von-Teichman, I.; Robbertse, P.J. 1986. Development and structure of the pericarp and seed of *Rhus lancea* L. fil. (Anacardiaceae) with taxonomic notes. **Botanical Journal of the Linnean Society** 93: 291-306.
- Von-Teichman, I.; Van-Wyk, A.E. 1988. The ontogeny and structure of the pericarp and seed-coat of *Harpephyllum caffrum* Bernh. ex Kraus (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 98: 159-176.
- Von-Teichman, I.; Van-Wyk, A.E. 1991. Taxonomic position of *Rhus prolematodes* (Anacardiaceae): evidence from fruit and seed structure. **South African Journal of Botany**, 57: 29-33.
- Von-Teichman, I.; Van-Wyk, A.E. 1993. Ontogeny and structure of the drupe of *Ozoroa paniculosa* (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 111: 253-263.
- 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 pachychalaly and recalcitrance. **Botanical Journal of Linnean Society**, 122: 335-352.
- Wannan, B.S.; Quinn, C.J. 1990. Pericarp structure and generic affinities in the Anacardiaceae. **Botanical Journal of Linnean Society**, 102: 225-252.
- Wannan, B.S.; Quinn, C.J. 1991. Floral structure and evolution in the Anacardiaceae. **Botanical Journal of Linnean Society**, 107: 349-385.
- Wunnachit, W.; Jenner, C.F.; Sedgley, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae): an andromonoecious species. **International Journal of Plant Science**, 153: 413-420.

CAPÍTULO 1

Nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae): aspectos estruturais, ultraestruturais e composição química do néctar

Elisabeth E. A. Dantas Tölke¹, Leonardo Galetto², Sílvia Rodrigues Machado³, Sandra Maria Carmello-Guerreiro¹

1. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

2. Instituto Multidisciplinario de Biologia Vegetal - Universidad Nacional de Córdoba – (UNC – CONICET)

3. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Campus de Botucatu

Resumo - Este estudo teve por objetivo investigar a estrutura e ultraestrutura do disco glandular intraestaminal em flores estaminadas e hermafroditas e em frutos, bem como, verificar a composição química da substância produzida em *Tapirira guianensis* Aubl (Anacardiaceae), espécie amplamente distribuída em todo território brasileiro, particularmente em áreas de solo úmido. Amostras do disco glandular em várias fases de desenvolvimento foram coletadas, fixadas e processadas para estudos em microscopia de luz e eletrônica de transmissão, segundo as técnicas convencionais. Testes histoquímicos foram empregados para identificar os principais metabólitos presentes no tecido glandular. Este disco consiste em epiderme uniestratificada recoberta por fina cutícula e parênquima vascularizado. Algumas evidências indicam que o néctar é exsudado via estômatos. A composição química do néctar é semelhante para as flores estaminadas e hermafroditas, tendo como açúcar predominante a sacarose; a concentração de açúcares é de cerca de 10% em flores estaminadas e 49% em flores hermafroditas. A ultraestrutura das células se altera significativamente durante os vários estágios de secreção, a alteração mais evidente foi a redução dos amiloplastos entre as fases pré-secretora e secretora. Na fase secretora foram observadas evidências que indicam mecanismo de secreção granulócrino e écrino. Em todas as fases as células epidérmicas e subepidérmicas reagiram positivamente para os testes histoquímicos que detectam lipídios e substâncias fenólicas. Com base nas análises realizadas o nectário floral de *T. guianensis* pode ser classificado como uma glândula de secreção mista, pois possui aparato celular para síntese de secreção hidrofílica e lipofílica, sendo esta última predominante a partir da formação do fruto. Existe na literatura relato de glândulas extraflorais que produzem néctar e lipídios, sendo classificadas como nectários *sensu lato*, o mesmo é válido para a glândula floral de *T. guianensis*.

Palavras-chave: Estômatos modificados, nectário floral, lipídios, néctar, secreção.

Abstract – This work investigated the structure and ultrastructure of the intrastaminal receptacular gland in staminate and pistillate flowers and fruits, as well verified the chemical composition of the substance produced by *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), a species widely distributed throughout Brazil, particularly in areas the presence of moist soil. Samples of receptacular gland in various stages of development were collected, fixed and processed to studies in light and transmission electron microscopy according to conventional techniques. Histochemical tests were employed to identify the major metabolites present in glandular tissue. This receptacular gland consist of uniseriate epidermis covered with thin cuticle and vascularized parenchyma. Some evidence indicates that the nectar is exuded via stomata. Chemical composition of nectar is similar to the staminate and pistillate flowers, and predominant sugar is sucrose; the sugar concentration is about 10% to staminate flowers and 49% to pistillate flowers. The cells ultrastructure changes considerably during the various stages of secretion, the most obvious change was the reduction of amyloplasts between the pre-secretory and secretory phases. In the secretory phase were observed evidences indicating granulocrine and ecrine mechanism of secretion. In all stages, epidermal and subepidermal cells reacted positively to histochemical tests that detect lipids and phenolic substances. Based on analyses performed, floral nectar of *T. guianensis* can be classified as a mixed secretion gland, because it has apparatus for synthesis of hydrophilic and lipophilic secretion, the latter predominantly from fruit formation. There are reports in literature of extrafloral glands informing the production of nectar and lipids, they are classified as nectaries *sensu lato*, the same is applied to the floral gland on *T. guianensis*.

Keywords: Modified stomata, floral nectary, lipid, nectar, secretion.

Introdução

A família Anacardiaceae é referida na literatura como tendo disco nectarífero intraestaminal geralmente bem desenvolvido e algumas vezes transformado em pequenos ginóforos (Cronquist 1981; Wannan & Quinn 1991; Gallant *et al.* 1998; Judd *et al.* 2007; Barroso *et al.* 2007; Bernadello 2007). Em alguns trabalhos (Von-Teichman & Van-Wyk 1994, 1996) são realizadas descrições anatômicas do disco nectarífero intraestaminal para representantes da família, entretanto não foram realizados experimentos que comprovassem a secreção de néctar por estas estruturas. Informações sobre a estrutura dos nectários florais e composição química do néctar para a família ainda são escassas, sendo relatado apenas o trabalho de Wunnachit *et al.* (1992) para *Anacardium occidentale* L. Nesta espécie, o néctar é exsudado via tricomas, demonstrando que pode haver uma variação estrutural dentro da família. Até o momento não há trabalhos que abordem a organização ultraestrutural de nectários em Anacardiaceae.

Lacchia (2006) constatou que a flor de *T. guianensis* possui um disco intraestaminal persistente com a formação do fruto; seus dados relatam presença de estômatos na epiderme e amido nas células parenquimáticas. A autora não confirmou em seu trabalho a secreção de néctar por esta estrutura, no entanto confirmou a produção de lipídios. Os resultados desse trabalho serviram de estímulo para análise da substância secretada. Portanto, este estudo teve por objetivo investigar a estrutura e ultraestrutura do disco glandular intraestaminal em flores estaminadas e hermafroditas e em frutos, bem como, verificar a composição química da substância produzida em *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), espécie dióica e amplamente distribuída no Cerrado brasileiro (Lorenzi 2002; Lenza & Oliveira 2005; Silva-Cruz & Pirani 2012).

O termo nectário foi introduzido por Linné em 1735 para designar estruturas multicelulares responsáveis pela produção de néctar (Fahn 1979); estas estruturas podem ocorrer tanto em órgãos vegetativos quanto em órgãos reprodutivos (nectário extrafloral e floral, respectivamente) (Fahn 1979, 1988; Schmid 1988; Galetto & Bernadello 2004; Nepi 2007). Os nectários florais desempenham importante papel na reprodução, uma vez que, o néctar é uma das principais recompensas oferecidas ao polinizador, sendo bastante comum em várias famílias de angiospermas polinizadas por animais – pássaros, pequenos mamíferos e insetos (Percival 1961; Baker & Baker 1973a; Cruden *et al.* 1983; Galetto 1997; Davis *et al.* 1998; Vesprini *et al.* 1999;

Petanidou *et al.* 2000; Galetto & Bernadello 2004; Galetto & Bernadello 2005; Chalcoff *et al.* 2006; Mačukanović-Jocić *et al.* 2007; Nicolson 2007; Paiva & Machado 2008).

O néctar é uma substância que tem como componentes principais os açúcares, sendo comuns outras substâncias em menor quantidade, como: aminoácidos, proteínas, lipídios, antioxidantes, alcalóides, substâncias fenólicas, vitaminas, ácidos orgânicos, dentre outras (Baker & Baker 1973a, 1983; Vesprini *et al.* 1999; Galetto & Bernadello 2005). De acordo com os mesmos autores, os açúcares e os aminoácidos são os componentes mais significativos e têm papel importante tanto do ponto de vista taxonômico quanto ecológico. A concentração dos aminoácidos no néctar é consideravelmente inferior em relação aos açúcares e sua presença está relacionada com a recompensa para insetos que não dispõem de outras fontes que forneçam os componentes básicos para construção de proteínas (Baker & Baker 1983).

Análises de aminoácidos e carboidratos em néctar têm sido realizadas por diversos autores (Percival 1961; Baker & Baker 1973b; Cruden & Toledo 1977; Cruden & Hermann-Parker 1979; Gilliam *et al.* 1980; Baker & Baker 1983; Wunnachit *et al.* 1992; Galleto 1997; Galleto *et al.* 1997; Galleto *et al.* 1998; Davis *et al.* 1998; Vesprini *et al.* 1999; Galetto & Bernadello 2004; Chalkoff *et al.* 2006; Canto *et al.* 2007; Wenzler *et al.* 2008). Estes estudos demonstram que as diferenças na concentração dos principais carboidratos presentes no néctar (sacarose, frutose e glicose) juntamente com a morfologia da inflorescência e da flor, estão relacionadas com o tipo de polinizador e tem implicação taxonômica e filogenética; a composição química do néctar pode variar entre indivíduos pertencentes à mesma família ou até mesmo entre indivíduos pertencentes ao mesmo gênero.

Em Anacardiaceae apenas *Anacardium occidentale* L. teve a composição química do néctar analisada (Wunnachit *et al.* 1992), havendo assim uma necessidade de novos estudos que esclareçam algumas questões em relação a composição química do néctar e quais as diferenças na química do néctar entre flores estaminadas e hermafroditas da mesma espécie.

Do ponto de vista anatômico, a estrutura, localização e topografia dos nectários florais podem ser significativamente diferentes e específicas para cada família (Fahn 1979; Galetto 1997; Pacini *et al.* 2003; Galetto & Bernadello 2004; Galetto & Bernadello 2005; Sulborska & Weryszko-Chmielewska 2007). De acordo com Bernadello (2007) essas estruturas apresentam valor taxonômico, pois podem ser razoavelmente homogêneas ou mudarem drasticamente dentro

de alguns grupos, aliado ao fato de que podem ser facilmente adquiridas ou perdidas dentro de uma linhagem, o que ajuda a entender a evolução do grupo. O aspecto estrutural do nectário também tem importância na apicultura, na correlação entre estrutura e abundância do néctar produzido (Sulborska & Weryszko-Chmielewska 2007). Os nectários podem ser classificados em estruturais (disco glandular, tricomas glandulares e nectário septal) ou não estruturais, estes não possuem uma estrutura diferenciada, nesse caso o néctar é exsudado via estômatos (Fahn 1979).

O nectário consiste em epiderme e tecido parenquimático especializado (Fahn 1979; Nepi *et al.* 1996). A anatomia dos nectários foi estudada por diversos autores e ao longo do tempo a nomenclatura utilizada para designar a estrutura do tecido nectarífero passou por modificações (Tabela 1).

Tabela 1. Organização anatômica do nectário de acordo com Fahn (1979), Durkee (1983) e Nepi (2007).

Fahn (1979)	Durkee (1983)	Nepi (2007)	Função
Epideme	Epiderme	Epiderme	Diretamente envolvida na produção e secreção de néctar.
Tecido parenquimático com feixes vasculares.	Tecido secretor.	Parênquima nectarífero.	Diretamente envolvidos na produção e secreção de néctar.
-	Parênquima subglandular com feixes vasculares.	Parênquima subnectarífero com feixes vasculares.	Não estão diretamente envolvidos na produção do néctar.

*Adaptado de Nepi (2007).

Em uma publicação mais recente Nepi (2007) propõe a modificação dos termos propostos por Fahn (1979) e Durkee (1983) estruturando o tecido nectarífero em epiderme, parênquima nectarífero e parênquima subnectarífero, sendo esta a nomenclatura adotada nos trabalhos mais recentes.

A organização ultraestrutural dos nectários também varia muito entre as espécies, bem como as fases do processo de secreção (Paiva & Machado 2008). A dinâmica da organização celular durante a produção do néctar tem sido pouco estudada, destacando-se os trabalhos de Zer & Fahn (1992), Figueiredo & Pais (1992), Razem & Davis (1999), Peng *et al.* (2004),

Stpiczynska *et al.* (2005), Paiva & Machado (2008). O conhecimento da organização estrutural e ultraestrutural dos nectários aliado ao estudo da composição química do néctar permite esclarecer o papel dessa secreção para o vegetal (Fahn 1979; Roshchina & Roshchina 1993, Rocha *et al.* 2010).

Material e Métodos

Flores em pré-antese e em antese de indivíduos masculinos e femininos e frutos em vários estágios de desenvolvimento de *Tapirira guinanensis* Aubl. foram coletados em três áreas do Estado de São Paulo: Estação Experimental de Itirapina (22° 13' S; 47° 51' O), Estação Experimental de Mogi Guaçu (22° 10' S; 47° 07' O) e fragmento em Sousas – Distrito de Campinas (22° 51' S; 46° 57' O). As coletas foram realizadas entre os meses de março a dezembro de 2011 e janeiro a fevereiro de 2012.

Microscopia de luz

Para descrição anatômica das glândulas florais e do disco glandular do fruto jovem as amostras foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1:18 v/v) por 24 horas (Johansen 1940). O material foi desidratado em série butílica e incluído em Paraplast® (Johansen 1940). Secções transversais e longitudinais com 10 µm de espessura foram obtidas com auxílio de micrótomo rotativo (Microm HM340E) e coradas com Azul de Astra e Safranina (Gerlach 1984). Todas as lâminas foram montadas em resina sintética Entellan® e as imagens capturadas com câmera digital (Olympus DP71) acoplada ao microscópio óptico (Olympus BX51).

Histoquímica

Para os testes histoquímicos foi utilizado material fixado em FAA (para substâncias hidrofílicas) por 24 horas e em FNT (tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) (para substâncias lipofílicas e substâncias fenólicas) por 48 horas. Os tratamentos realizados foram: Negro de Sudão B (Pearse 1980), Sulfato Azul do Nilo (Cain 1947), Lugol (Berlyn & Miksche 1976), Cloreto de Ferro III (Johansen 1940), Reagente de Wagner (Furr & Mahlberg 1981), Reagente de Schiff (PAS) (McManus 1948), Vermelho de Rutênio (Johansen 1940), Ácido Tânico e Cloreto

de Ferro III (Pizzolato & Lillie 1973). As substâncias detectadas e suas respectivas reações cromáticas positivas encontram-se na Tabela 2. Os resultados foram registrados por meio de imagens capturadas com câmera digital (Olympus DP71) acoplada ao microscópio óptico (Olympus BX51).

Tabela 2. Testes histoquímicos utilizados na caracterização das substâncias presentes no disco glandular de *Tapirira guianensis* Aubl.

Teste	Substância detectada	Reação cromática positiva
Negro de Sudão B	Lipídios totais	Azul a negro
Sulfato Azul do Nilo	Lipídios ácidos e neutros	Azul piscina para lipídios ácidos e rosa a púrpura para lipídios neutros
Lugol	Amido	Roxo a negro
Cloreto de Ferro III	Compostos fenólicos	Marrom e negro
Reagente de Wagner	Alcalóides	Vermelho
Reagente de Schiff (PAS)	Polissacarídeos totais	Rosa
Vermelho de Rutênio	Pectinas	Rosa intenso
Ácido Tânico e Cloreto de Ferro III	Mucilagens	Negro

Microscopia eletrônica de transmissão

Na microscopia eletrônica de transmissão o material vegetal (nectário da flor hermafrodita em fase de pré-antese e antese; disco glandular do fruto em vários estágios de desenvolvimento) foi fixado em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3 durante 24 horas a uma temperatura de 5°C. Pós-fixado em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão durante uma hora a 25°C, desidratado em série crescente de solução de acetona e incluído em araldite (Machado & Rodrigues 2004). As secções ultrafinas foram obtidas com navalha de diamante e coradas com azul de metileno a 1% e contrastadas com acetato de uranila (Watson 1958) e citrato de chumbo (Reynolds 1963). O material foi observado em microscópio eletrônico de transmissão Philips E.M. 301.

Análise da secreção produzida pelo disco glandular

A secreção do disco glandular das flores foi submetida ao teste para detecção de glicose através de tiras reagentes (Uri-test 11), cuja concentração de glicose foi estimada através da

mudança de coloração da área reativa da tira e comparada com a escala cromática fornecida pelo fabricante. Para análise química do néctar as flores hermafroditas e estaminadas foram ensacadas a fim de evitar potenciais danos causados pelos insetos, bem como, para preservação da secreção a ser coletada. A secreção de cada morfotipo floral foi coletada com auxílio de tubos capilares de vidro e armazenada em papel filtro Watman® n. 1 em baixa temperatura (Galetto & Bernadello 2005).

A composição dos açúcares foi verificada em 50 flores de cada indivíduo (três indivíduos contendo flores estaminadas e três indivíduos contendo flores hermafroditas) totalizando 300 flores, em uma população pertencente ao fragmento de Sousas – Distrito de Campinas (22° 51' S; 46° 57' O). Após o armazenamento no papel filtro as amostras foram levadas ao laboratório e redissolvidas em água destilada. Para análise quantitativa dos carboidratos presentes na secreção foram utilizados kits reagentes para glicose, frutose e sacarose (®Sigma) seguindo-se as metodologias propostas por Bergmeyer & Bernt (1974), Southgate (1976) e Kunsst *et al.* (1984). Após o preparo dos reagentes as amostras foram levadas ao espectrofotômetro e tiveram suas absorvâncias medidas no comprimento de onda de 340 nm. A seguir foi realizada a leitura e efetuaram-se os cálculos para cada componente de acordo com as fórmulas a seguir:

$$\text{mg (glicose)/ mL} = \frac{(\Delta A) (TV) (F) (0,029)}{(SV)}$$

$$\text{mg (frutose)/ mL} = (\Delta A) (F) (0,614)$$

$$\text{mg (sacarose)/ mL} = (\Delta A) (F) (1,21)$$

Em que:

ΔA = A teste – A branco total

TV = Volume total do ensaio

SV = Volume da amostra

F = Fator de diluição utilizado

A = Absorvância em 340 nm

Tomando-se os resultados obtidos, a partir da utilização das fórmulas, efetuou-se o cálculo da taxa de açúcares para classificação da espécie de acordo com Baker & Baker (1982). Reações calorimétricas para aminoácidos foram realizadas em escala de histidina de acordo com a técnica de Baker & Baker (1975). Os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Bioestat 5.3. Para comparação das médias aritméticas foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de acordo com o teste T em nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

Resultados

Aspectos estruturais e histoquímica

As flores de *Tapirira guianensis* Aubl. são pequenas (2-3 mm de diâmetro), actinomorfas, pentâmeras, dialipétalas e gamossépalas, com ambos os verticilos pouco vistosos de cor esverdeada (Fig. 1A-B). A principal diferença morfológica entre elas é que na flor hermafrodita, o gineceu é conspícuo, globoso e bem desenvolvido (Fig. 1A), o ovário é súpero unilocular e uniovulado, possuindo três estigmas curtos e globosos (Fig. 1A), enquanto que na flor estaminada o gineceu é atrofiado, piloso e não funcional (Fig. 1B).



Figura 1. Flores de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Flor hermafrodita. **B.** Flor estaminada. (Dg = disco glandular, Ov = ovário, Es = estigma). Barras: 0,5 cm (A-B).

Ambas as flores apresentam um disco glandular proeminente localizado ao redor do gineceu (Fig. 1A-B). Este disco já é perceptível na fase de botão e após antese é capaz de secretar uma substância incolor (aproximadamente 1 μ L) durante vários dias. A secreção reagiu fortemente em teste utilizando tiras reagentes para determinação de glicose (Uri-test 11), assim, a secreção é considerada néctar e a glândula nectário. Na flor hermafrodita a glândula permanece ativa em todas as fases do desenvolvimento desde ovário até fruto completamente desenvolvido, no entanto pára de liberar néctar na fase de fruto jovem, sendo, portanto denominada apenas de disco glandular a partir dessa fase. As observações de campo mostraram grande diversidade de insetos visitando ambos morfotipos florais, predominantemente himenópteros (abelhas e vespas).

O nectário floral é estruturalmente semelhante em ambas as flores (estaminadas e hermafroditas) tanto na fase de pré-antese quanto de antese (Fig.2A-B), localizado sempre em volta do gineceu, possui 10 lobos distribuídos alternadamente em relação aos estames (Fig. 2A). Consiste de epiderme secretora e de tecido parenquimático (Fig. 2C). A epiderme tem cor alaranjada em material fixado em FAA e FNT, apresenta-se uniestratificada, constituída por células de paredes delgadas e revestida por fina cutícula (Fig. 2E). Estômatos estão amplamente distribuídos ao longo de toda a epiderme um pouco abaixo do nível das demais células (Fig. 2E-F).

Não há uma divisão estrutural clara entre o parênquima nectarífero e subnectarífero, a não ser pela região vascularizada típica de parênquima subnectarífero (Fig. 2C), no entanto, a região vascularizada foi considerada a subnectarífera e a região logo abaixo da epiderme a nectarífera. As células subepidérmicas são pequenas, justapostas e possuem citoplasma denso (Fig. 2C e E). Há aumento do tamanho celular em direção à base do nectário (Fig. 2C). É possível visualizar esparsamente cristais do tipo drusa em formato poliédrico (Fig. 2D e E).

O tecido vascular presente no nectário é uma continuação do sistema vascular do pedicelo floral e está restrito à base do mesmo (Fig. 3A). O pedicelo possui um anel central de floema e xilema e diversos canais secretores (Fig. 3A), estes estão presentes em todas as fases da flor. O canal é formado por lume revestido por duas a quatro camadas de células epiteliais que se distinguem das demais células do parênquima quanto ao formato, retangulares e achatadas (Fig. 3B).

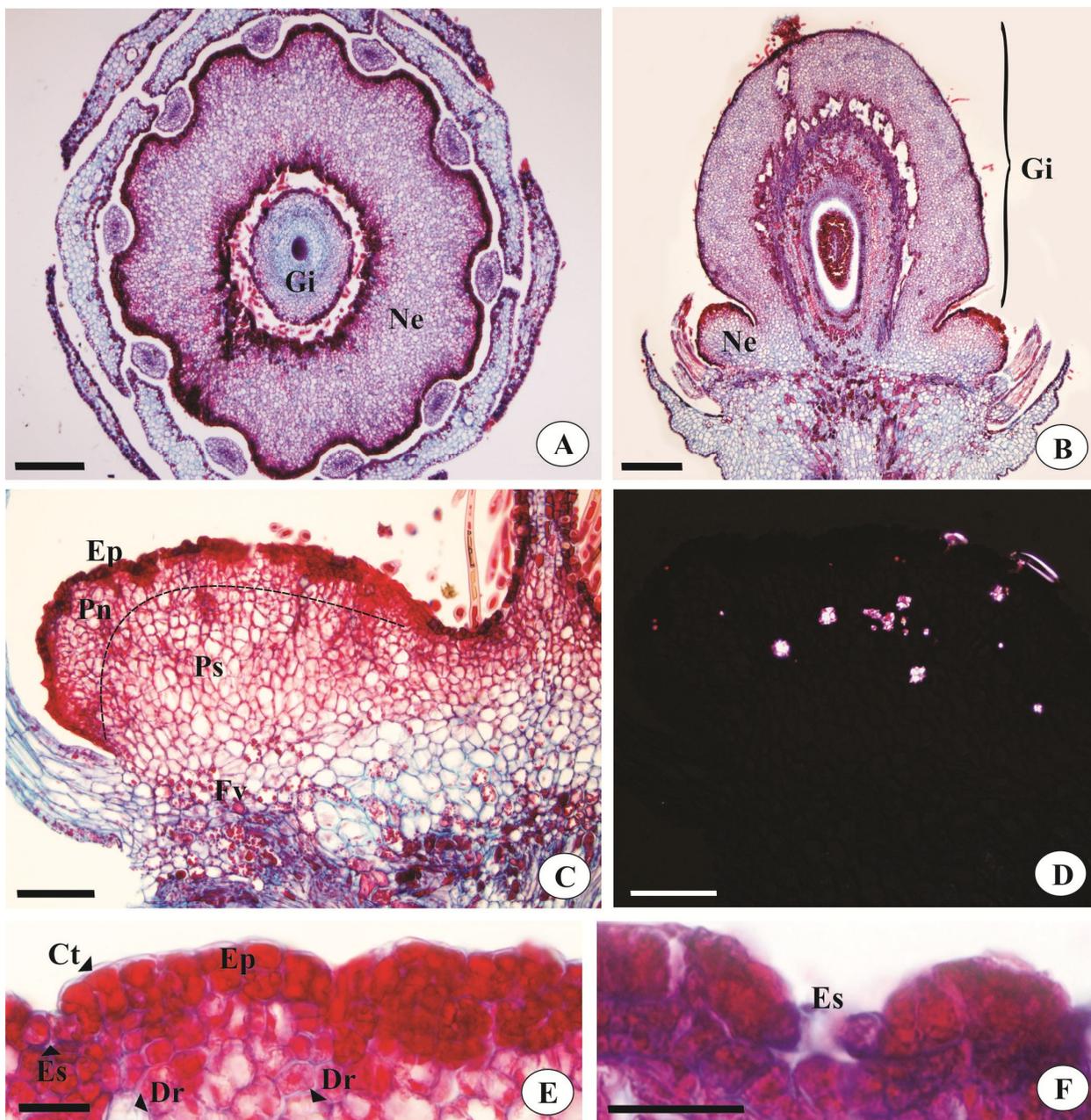


Figura 2. Estrutura anatômica do nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. em secções transversais (A) e longitudinais (B-F). **A.** Localização do nectário em volta do gineceu. **B.** Posição intraestaminal do nectário. **C.** Aspecto geral do nectário floral evidenciando a epiderme, parênquima nectarífero, parênquima subnectarífero e feixes vasculares. **D.** Detalhe das drusas presentes no nectário em luz polarizada. **E.** Detalhe da epiderme revestida por cutícula e drusas distribuídas esparsamente no parênquima. **F.** Estômato modificado em posição inferior em relação às demais células da epiderme. (Gi = gineceu, Ne = nectário, Ep = epiderme, Pn = parênquima nectarífero, Ps = parênquima subnectarífero, Fv = feixe vascular, Ct = cutícula, Es = estômato, Dr = drusa). Barras: 100 μ m (A-B), 50 μ m (C-D), 10 μ m (E-F).

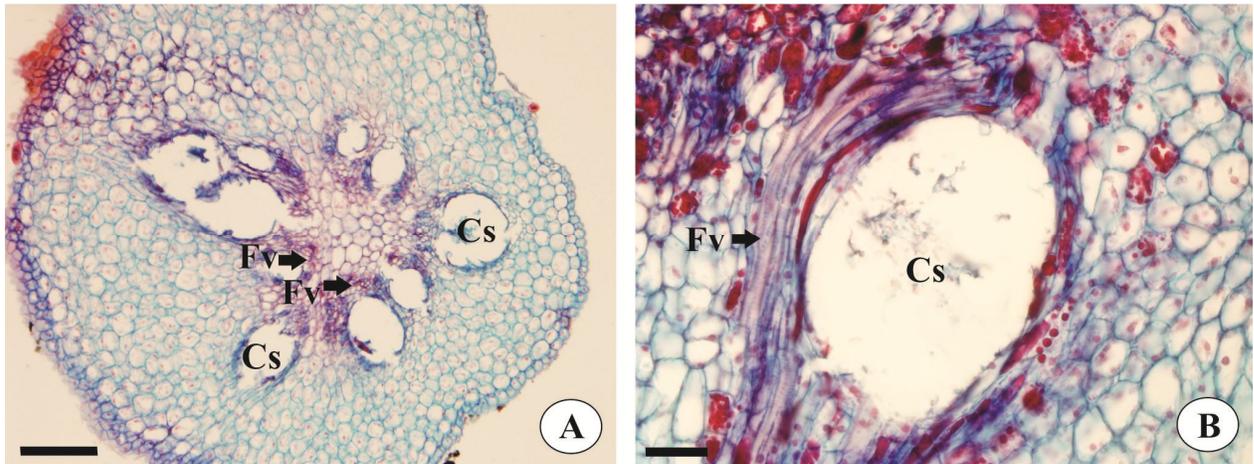


Figura 3. Tecido vascular e canais secretores no pedicelo de *Tapirira guianensis* Aubl. em secções transversais. **A.** Pedicelo com feixes vasculares em um anel central, sempre associados aos canais secretores. **B.** Canal secretor associado ao feixe vascular e envolto por bainha de células secretoras. (Cs = canal secretor, Fv = feixe vascular). Barras: 50 µm (A), 20 µm (B).

Com o desenvolvimento do fruto os canais secretores ampliam consideravelmente o seu tamanho em direção à região central da glândula, antes restritos apenas ao pedicelo (Fig. 4A-D). O citoplasma das células parenquimáticas é pouco denso e ainda é possível observar drusas dispersas por todo o parênquima (Fig. 4A e C). Estruturalmente não há alterações significativas em relação às fases anteriores.

Os testes histoquímicos revelaram a presença de lipídios na epiderme secretora do nectário de todas as fases das flores estaminadas, hermafroditas e do disco glandular dos frutos, acontecendo o mesmo para as células subepidérmicas (Fig. 5A-B); compostos fenólicos e polissacarídeos também foram encontrados nas mesmas estruturas (Fig. 5C-D). A presença de amido no protoplasto das células parenquimáticas foi expressiva na fase de pré-antese (Fig. 5E), mas ausente durante a antese e fases posteriores (Fig. 5F). As células da bainha, que envolve os canais secretores, reagiram positivamente para o Cloreto Férrico 10%, Negro de Sudão B e Sulfato Azul do Nilo, demonstrando a presença de compostos fenólicos e lipídios. A secreção dos canais apresentou uma fração lipofílica e outra hidrofílica, sendo positiva para as reações com Negro de Sudão B, Sulfato Azul do Nilo e PAS.

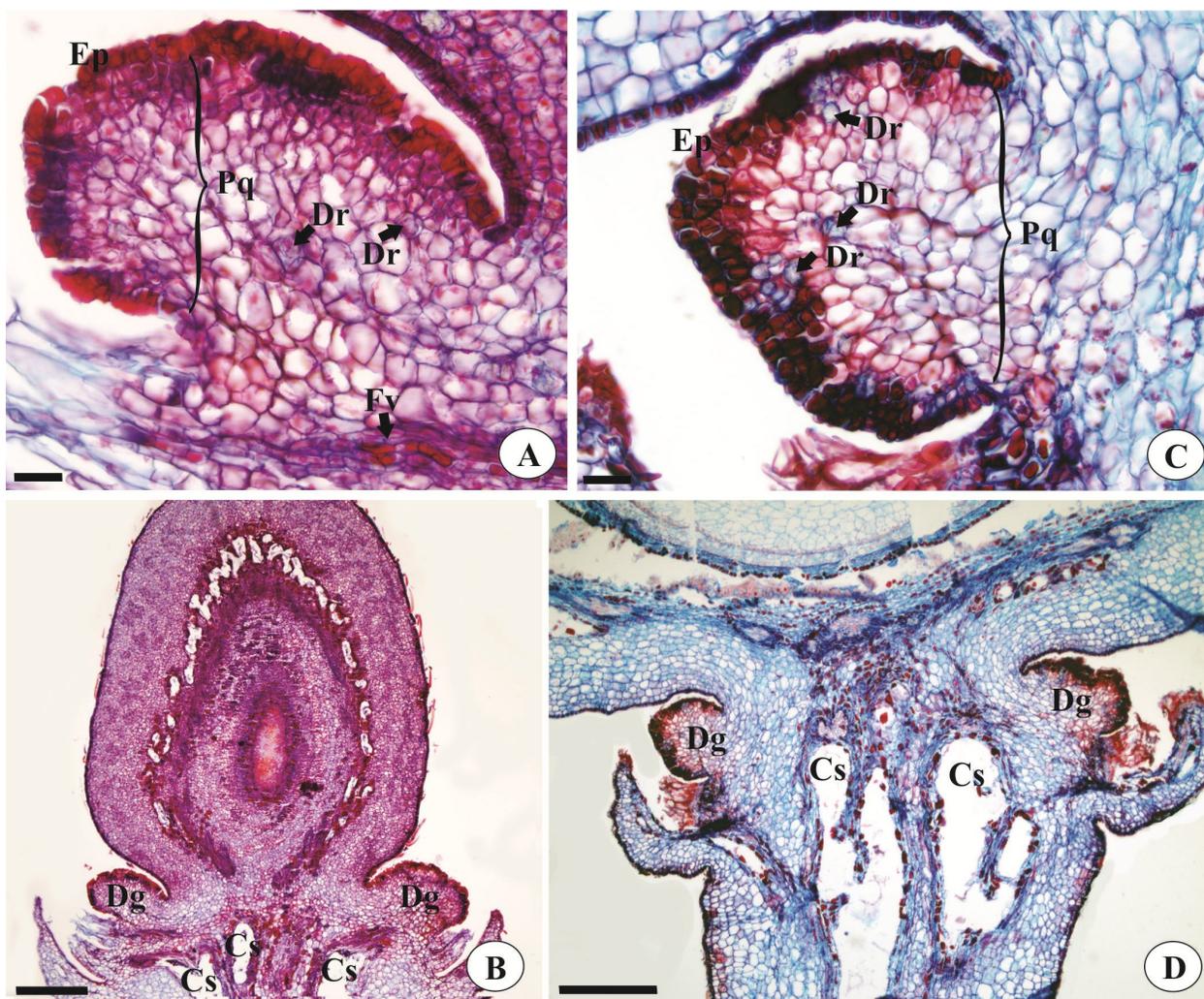


Figura 4. Seções longitudinais do disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis* Aubl. em diferentes fases do desenvolvimento. **A.** Disco glandular do fruto jovem. **B.** Fruto jovem. **C.** Disco glandular do fruto completamente desenvolvido, com pouca ou nenhuma diferença em relação à fase anterior. **D.** Canais secretores em fruto completamente desenvolvido. (Ep = epiderme; Pq = parênquima; Fv = feixe vascular; Dr = drusas; Cs = canal secretor; Dg = disco glandular). Barras: 20 μ m (A e C); 200 μ m (B e D).

No disco glandular do fruto jovem as reações na epiderme foram fortemente positivas para lipídios e compostos fenólicos, não havendo nenhuma diferença em relação à fase precedente (flor em antese). Nestas fases não foi possível observar nenhuma substância sendo secretada para o exterior do disco glandular, no entanto as células epidérmicas e subepidérmicas permanecem em atividade secretora, evidenciada através dos testes histoquímicos (Tabela 3).

Tabela 3. Testes histoquímicos na glândula de flores hermafroditas em pré-antese, antese e em frutos jovens de *Tapirira guianensis* Aubl:

Testes histoquímicos	Pré-antese	Antese	Fruto jovem
Negro de Sudão B	ep., sub., id., ba. (++)	ep., sub., id., ba. (++) (Fig 5A)	ep., sub., id., ba. (++)
Sulfato Azul do Nilo	ep., sub., id., ba. (++)	ep., sub., id., ba. (++) (Fig 5B)	ep., sub., id., ba. (++)
Cloreto de Ferro III	ep., sub., id., ba. (++)	ep., sub., id., ba. (++) (Fig 5C)	ep., sub., id., ba. (++)
Lugol	ep., sub., pq. (++) (Fig 5E)	(-) (Fig 5F)	(-)
Reagente de Wagner	(-)	(-)	(-)
Reagente de Schiff	ep., sub., pq., id., ba. (++)	ep., sub., id., ba. (++) (Fig 5D)	ep., sub., id., ba. (++)
Vermelho de Rutênio	p.c. (++)	p.c. (++)	p.c. (++)
Ácido Tânico/ Cloreto de Ferro III	(-)	(-)	(-)

(++) fortemente positivo, (-) negativo. Destaque em cinza para o teste que apresentou mudanças dentre as diferentes fases analisadas. (ep.: epiderme; sub.: células subepidérmicas; pq.: parênquima; ba.: bainha do canal secretor; id.: idioblastos; p.c.: parede celular).

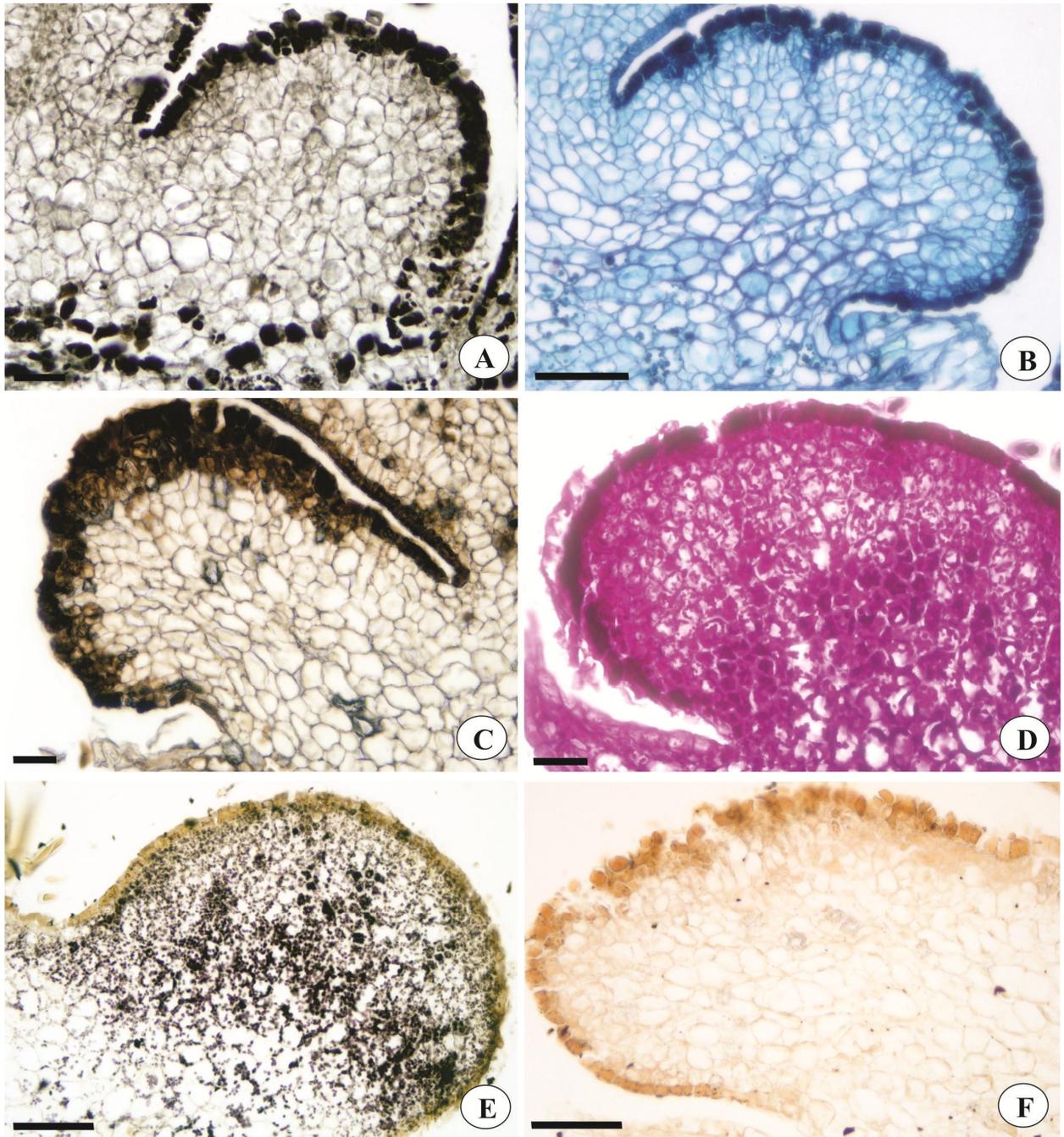


Figura 5. Testes histoquímicos no nectário floral e disco glandular do fruto de *Tapirira guianensis* Aubl. em secções longitudinais. **A.** Reação positiva para Negro de Sudão B em flor hermafrodita na fase de pré-antese. **B.** Reação positiva para Sulfato Azul do Nilo em fruto na fase jovem. **C.** Reação positiva para Cloreto Férrico em flor hermafrodita em antese. **D.** Reação positiva para PAS em flor estaminada em fase de pré-antese. **E.** Reação positiva para Lugol em flor estaminada na fase de pré-antese. **F.** Reação negativa para Lugol em flor estaminada na fase de antese. Barras: 20 μ m (A, C e D); 50 μ m (B, E e F).

Aspectos ultraestruturais

Baseando-se nas alterações histoquímicas e estruturais observadas nas flores hermafroditas, os resultados obtidos foram agrupados em três fases distintas: fase I – representada pelas flores em pré-antese; fase II – representada pelas flores em antese; e fase III – representada pelo disco glandular presente em frutos jovens. As fases foram denominadas de pré-secretora, secretora e pós-secretora, respectivamente. A nomenclatura das regiões anatômicas do nectário segue a sugerida por Nepi (2007).

Fase I - Na fase pré-secretora as células da epiderme mostram vacúolo grande, totalmente preenchido por conteúdo fenólico e com as demais organelas em posição parietal (Fig. 6A); algumas células possuem pequenas vesículas próximas à membrana celular, algumas delas contendo material fibrilar (Fig. 6B). O citoplasma é bastante denso, devido à grande quantidade de ribossomos dispersos, o que dificulta a visualização das organelas (Fig. 6A). A cutícula tem aspecto heterogêneo e apresenta microcanais em diversos pontos (Fig. 6C).

As células do parênquima nectarífero exibem diversos estágios de secreção (Fig. 7A). Todas com vacúolos de tamanho reduzido, alguns de conteúdo elétron-denso, indicando a presença de substâncias lipofílicas (óleos e substâncias fenólicas) (Fig. 7A-B), núcleo grande com nucléolo evidente (Fig. 7A), citoplasma denso contendo ribossomos, mitocôndrias, dictiossomos pouco desenvolvidos e segmentos de retículo endoplasmático rugoso (Fig. 7A-D), este se encontra associado a pequenas vesículas (Fig. 7C). Os plastídios armazenam grãos de amido, pouco numerosos, em processo final de degradação (Fig. 7A). Em algumas células observam-se gotas de lipídios sempre próximas à membrana plasmática (Fig. 7D). As células estão interligadas através de plasmodesmos (Fig. 7B e D) e espaços periplasmáticos são evidentes (Fig. 7B e D).

As células do parênquima subnectarífero armazenam grande quantidade de amido nos plastídios (Fig. 8A-B). Um grande vacúolo preenche toda célula, alguns com inclusões fenólicas, empurrando as organelas para a posição parietal (Fig. 8A-C). Material fibrilar é visualizado no interior dos vacúolos (Fig. 8A-C). Estas células encontram-se associadas aos elementos de vaso (Fig. 8C), espaços intercelulares são evidentes entre algumas células (Fig. 8A).

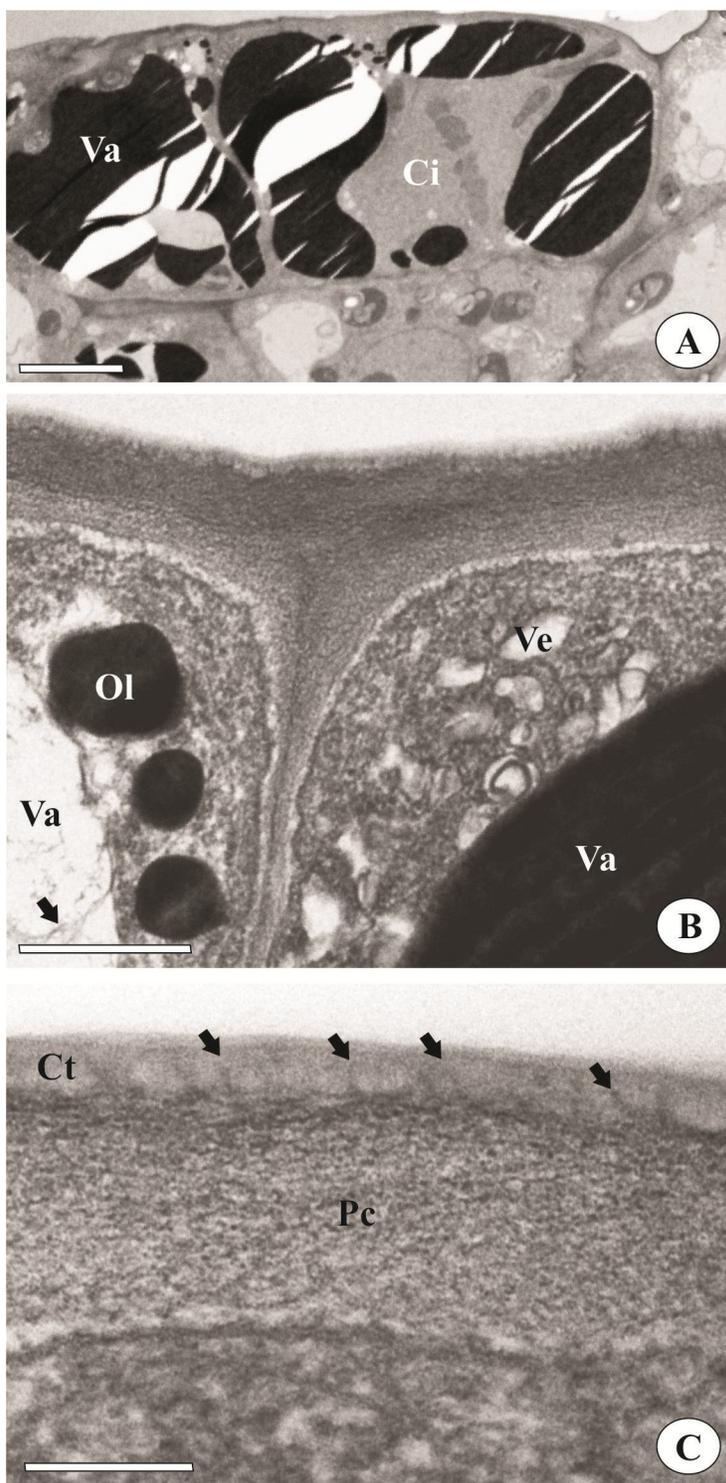


Figura 6. Aspectos ultraestruturais da epiderme do nectário de *Tapirira guianensis* Aubl. em fase pré-secretora. **A.** Células com vacúolo proeminente de conteúdo fortemente elétron-denso e citoplasma denso. **B.** Vesículas próximas à membrana plasmática (seta = material fibrilar). **C.** Detalhe da cutícula evidenciando diversos microcanaís (setas = microcanaís). (Va = vacúolo; Ve = vesícula; Ci = citoplasma; Ct = cutícula; Pc = parede celular; Ol = gota de óleo). Barras: 1 μm (A); 2 μm (B e C).

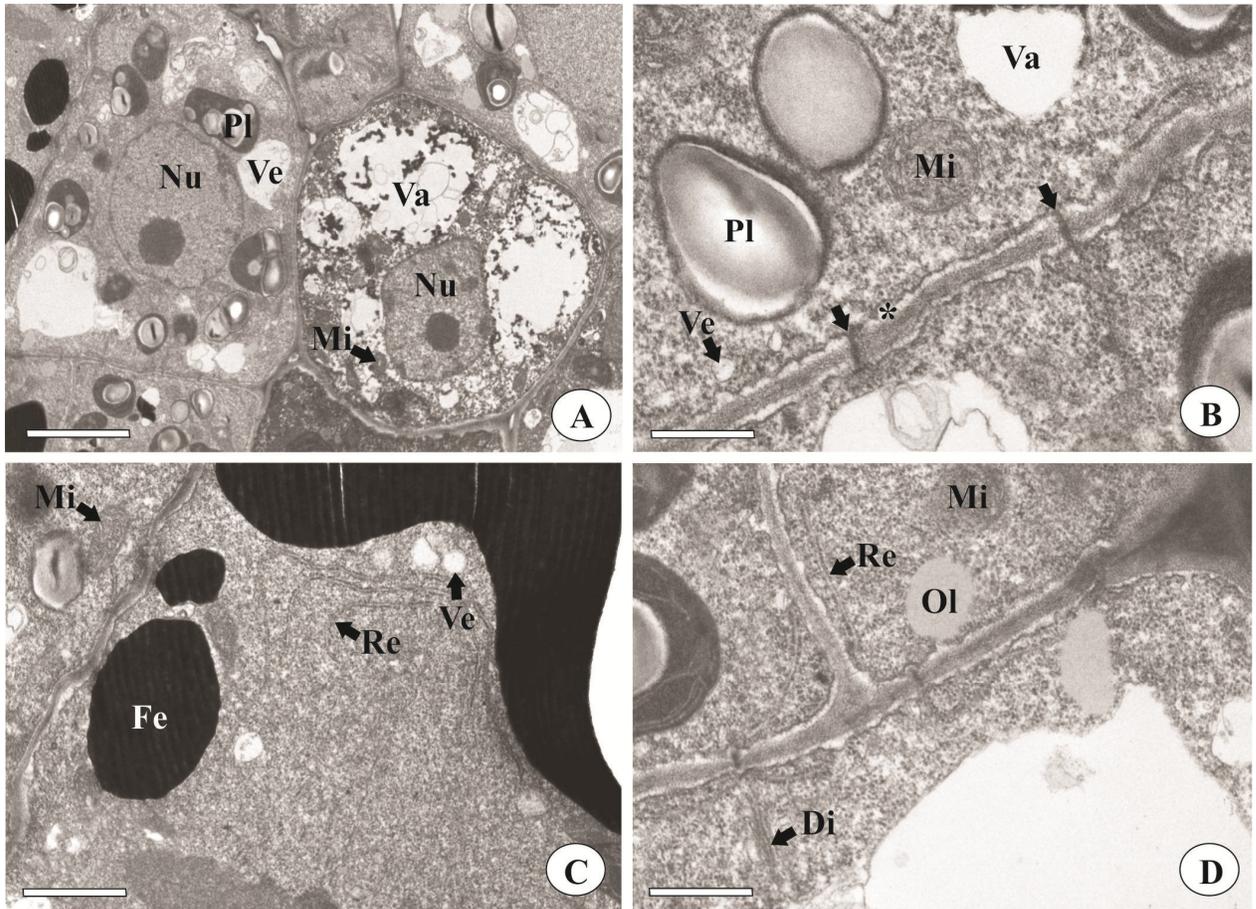


Figura 7. Ultraestrutura do parênquima nectarífero do nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. em fase pré-secretora. **A.** Aspecto geral de células em diferentes estágios de secreção, célula da esquerda em estágio inicial e célula da direita em estágio final. **B.** Detalhe evidenciando plasmodesmos (setas), mitocôndria, plastídios contendo grãos de amido e espaço periplasmático (asteriscos). **C.** Detalhe de uma célula mostrando o retículo endoplasmático rugoso associado a pequenas vesículas, mitocôndrias, vacúolo de conteúdo fenólico. **D.** Destaque para as gotas de óleo próximas à membrana celular, dictiossomos, retículo endoplasmático e mitocôndrias. (Va = vacúolo; Ve = vesícula; Nu = núcleo; Mi = mitocôndria; Pl = plastídio; Re = retículo endoplasmático; Di = dictiossomo; Ol = gotas de óleo; Fe = vacúolo contendo substância fenólica). Barras: 2 μ m (A-D).

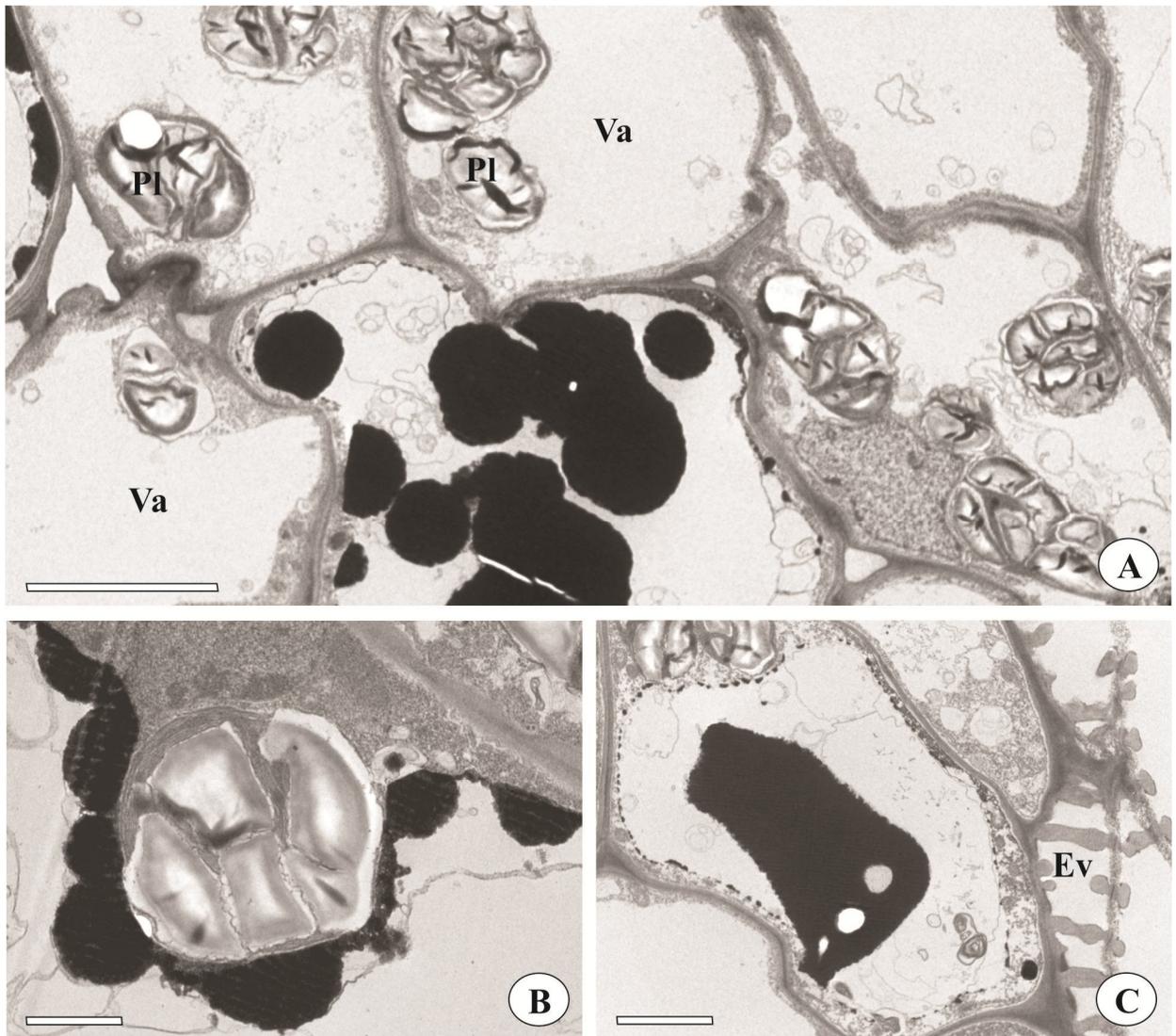


Figura 8. Ultraestrutura do parênquima subnectarífero do nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. em fase pré-secretora. **A.** Aspecto geral do tecido subnectarífero. **B.** Plastídio contendo grãos de amido; inclusões osmiofílicas dispersas no vacúolo; organelas em posição parietal; **C.** Célula associada ao elemento de vaso. (Pl = plastídio; Va = vacúolo; Ev = elemento de vaso). Barras: 2 μ m (A-C)

Fase II – De maneira geral, na fase secretora ocorre aumento no número de plastídios, mitocôndrias, retículo endoplasmático e ribossomos. A epiderme já possui as organelas mais visíveis que na fase anterior, com núcleo grande em posição periférica, plastídios contendo pequenas gotas osmiofílicas, retículo endoplasmático e inúmeras mitocôndrias (Fig. 9A-B). O citoplasma é bastante denso devido à presença de ribossomos (Fig. 9A-B). Estas células ainda possuem um grande vacúolo de conteúdo elétron-denso, assim como na fase anterior, no entanto também se observa pequenas vesículas próximas a membrana plasmática (Fig. 9A-B).

As células subepidérmicas exibem padrão semelhante à fase anterior, com algumas células em estágios diferentes de secreção (Fig. 10 A-B); no ápice da secreção as células possuem núcleo proeminente, retículo endoplasmático, citoplasma rico em ribossomos, inúmeros plastídios contendo gotas lipídicas, mitocôndrias e plastídios de tamanho bastante reduzido quando comparado à fase pré-secretora (Fig. 10 A); nas células que se encontram em um estágio posterior o vacúolo possui tamanho maior, ocupando quase toda a célula, e em seu interior há material fibrilar (Fig. 10 B). Gotas de óleo foram encontradas próximas à membrana plasmática de algumas células (Fig. 10 B), bem como pequenas vesículas (Fig. 10 D); o núcleo está quase sempre próximo ao retículo endoplasmático rugoso (Fig. 10 C). Um aspecto interessante é que nesta fase os plastídios não acumulam amido como na fase anterior, no entanto, estão repletos de material lipofílico (plastoglóbulos) (Fig. 10 D).

No parênquima subnectarífero a diferença mais marcante em relação à fase anterior foi o número reduzido de plastídios contendo reserva de amido, estes também demonstram tamanho menor (Fig. 10 E). Esta característica é reconhecida como fase final de hidrólise dos grãos de amido. As células dessa região possuem espaços intercelulares, tem as organelas em posição parietal, vacúolo único ocupando quase que a totalidade da célula, pode-se observar número elevado de gotículas elétron-densas dispersas nas células, principalmente na periferia dos vacúolos; além disso, gotas de óleo também estão presentes (Fig. 10 F). Em algumas regiões também foi possível visualizar elementos de tudo crivado associados a células companheiras, confirmando a presença de feixes vasculares nesta região do nectário (Fig. 10 F).

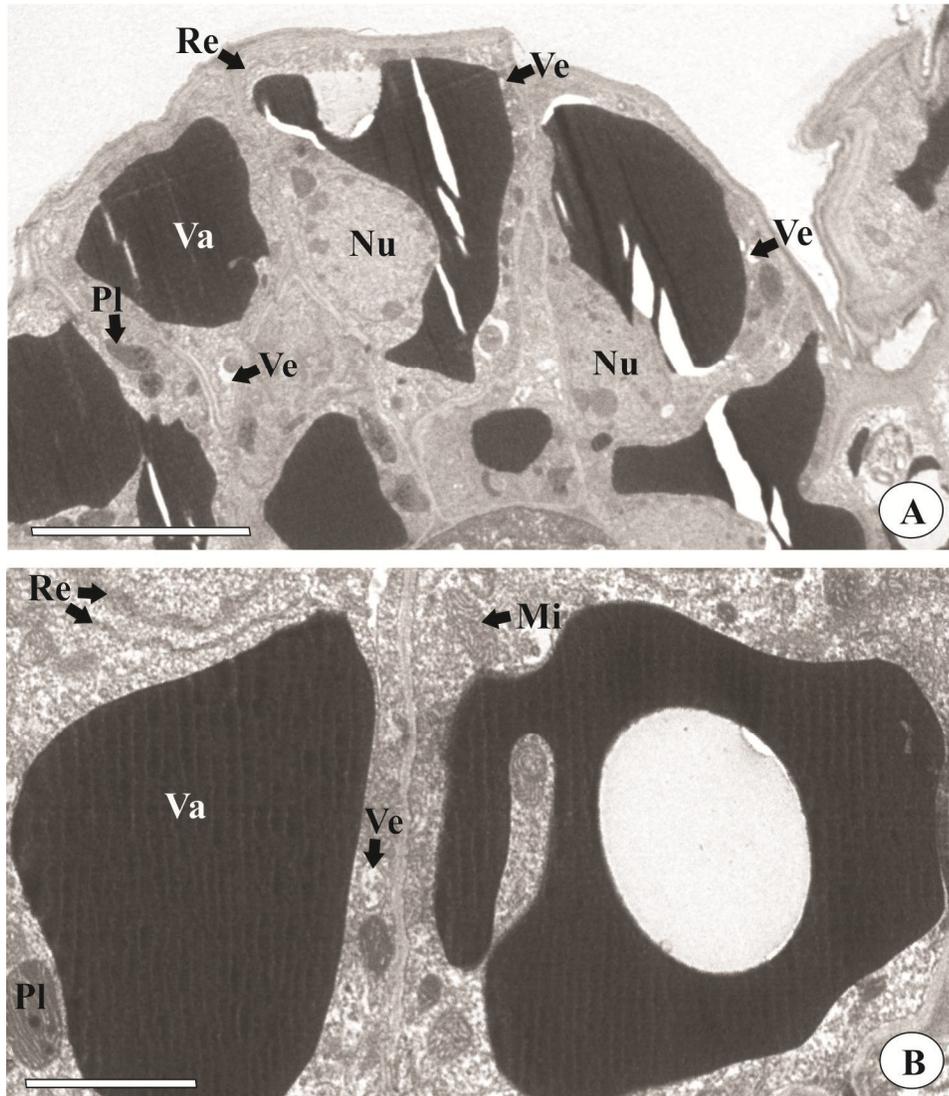


Figura 9. Aspectos ultraestruturais da epiderme do nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. em fase secretora. **A.** Células com vacúolo proeminente, núcleo grande em posição periférica, plastídios contendo gotículas lipofílicas e pequenas vesículas próximas a membrana plasmática. **B.** Detalhe de células da epiderme. (Nu = núcleo; Pl = plastídio; Va = vacúolo; Ve = vesícula; Re = retículo endoplasmático rugoso; Mi = mitocôndria). Barras: 2 µm (A-B).

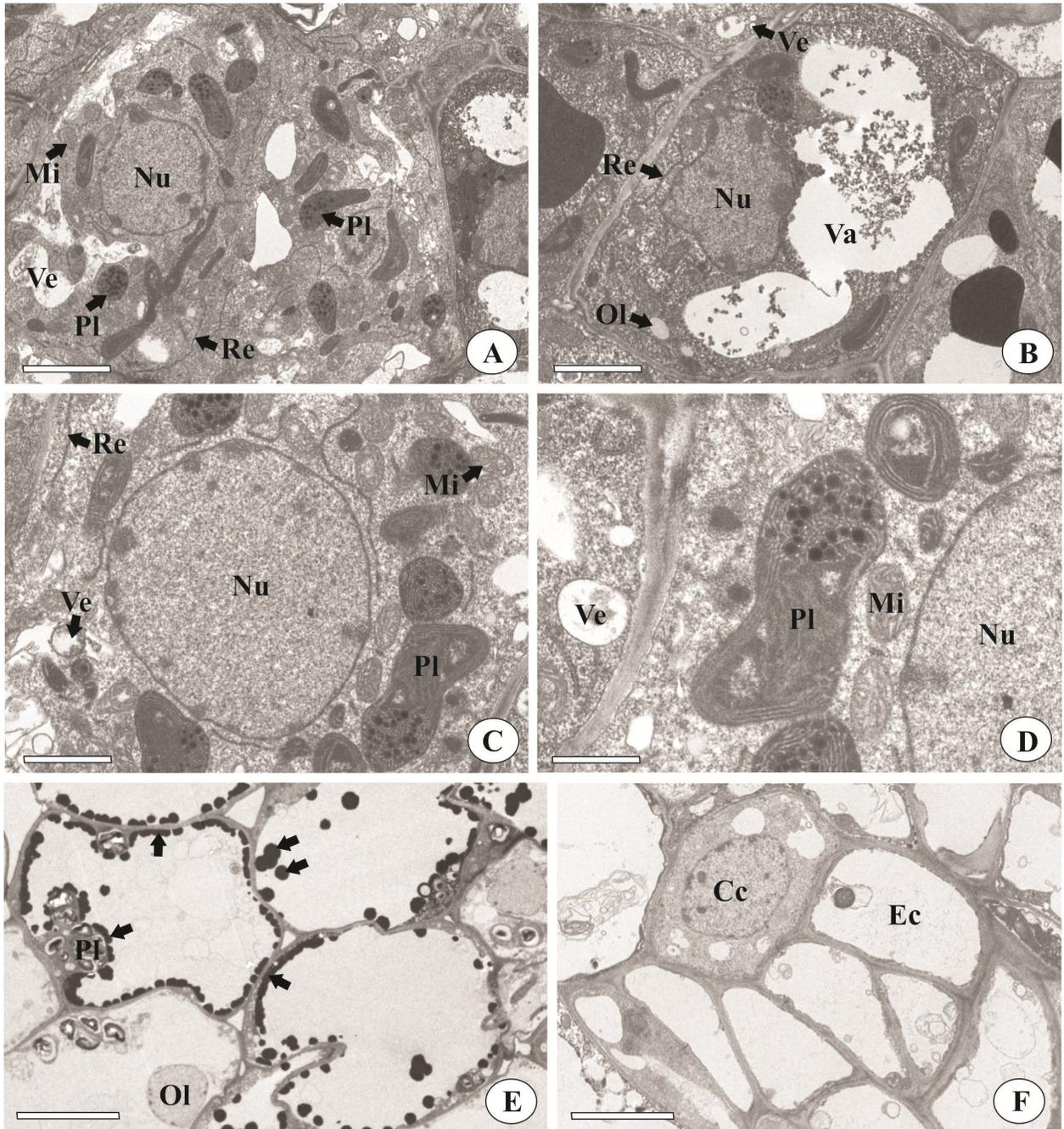


Figura 10. Ultraestrutura do parênquima glandular (A-D) e subglandular (E-F) do nectário floral de *Tapirira guianensis* Aubl. no ápice da secreção. **A.** Aspecto geral das células subepidérmicas. **B.** Célula subepidérmica em estágio final de secreção, com vacúolo tomando a maior parte da célula. **C.** Detalhe do núcleo próximo ao retículo endoplasmático. **D.** Detalhe do plastídio contendo inclusões lipídicas e vesículas próximas a membrana plasmática. **E.** Aspecto geral do tecido subnectarífero com abundância de gotas elétron-densas (setas). **F.** Tecido vascular na região subnectarífera. (Mi = mitocôndria; Pl = plastídio contendo plastoglôbulos; Va = vacúolo; Ve = vesícula; Nu = núcleo; Ol = gotas de óleo; Re = retículo endoplasmático; Cc = célula companheira; Ec = elemento de tubo crivado). Barras: 2 μ m (A-F)

Fase III – Nesta fase o vacúolo das células epidérmicas da glândula presente no fruto jovem ocupa praticamente todo o volume celular, em seu interior se observa material elétron-denso, com algumas células já em fase final de secreção (Fig 11 A). As células subepidérmicas se encontram em fase final de secreção, no entanto, diversas gotículas de lipídios são encontradas próximas à membrana plasmática (Fig. 11 B), bem como, algumas vesículas (Fig. 11 C). As organelas se encontram em posição parietal, devido ao grande volume vacuolar, não sendo possível distingui-las com facilidade. O vacúolo acumula substâncias elétron-densas de aspecto heterogêneo (Fig 11 B). O citoplasma ainda é rico em ribossomos e observam-se alguns plastídios contendo gotas de material lipofílico (Fig 12 A-B).

As células do parênquima subnectarífero possuem um único vacúolo ocupando todo o volume celular, empurrando as organelas para a periferia da célula (Fig. 12 B), pouco material osmiofílico é encontrado e os plastídios estão completamente ausentes, divergindo da fase secretora (Fig 10 E-F). As demais fases dos frutos apresentaram padrão semelhante, portanto não foram aqui descritas.

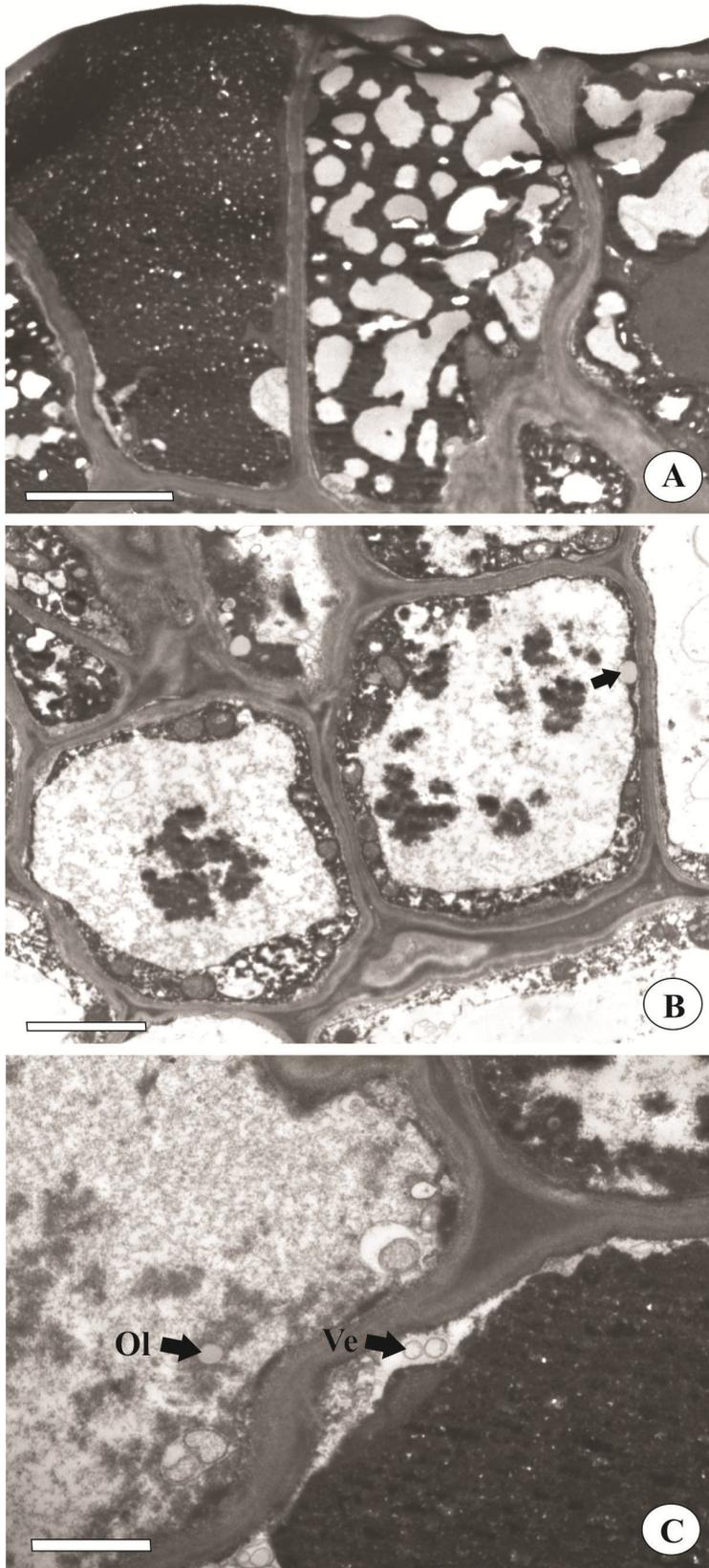


Figura 11. Eletromicrografias do disco glandular do fruto jovem de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Célula epidérmica. **B.** Aspecto geral das células subepidérmicas (seta = gotas de óleo). **C.** Detalhe de uma célula subepidérmica mostrando gotas lipídicas e vesículas. (Va = vacúolo; Ve = vesícula; Ol = gotas de óleo). Barras: 2 μ m (A-C).

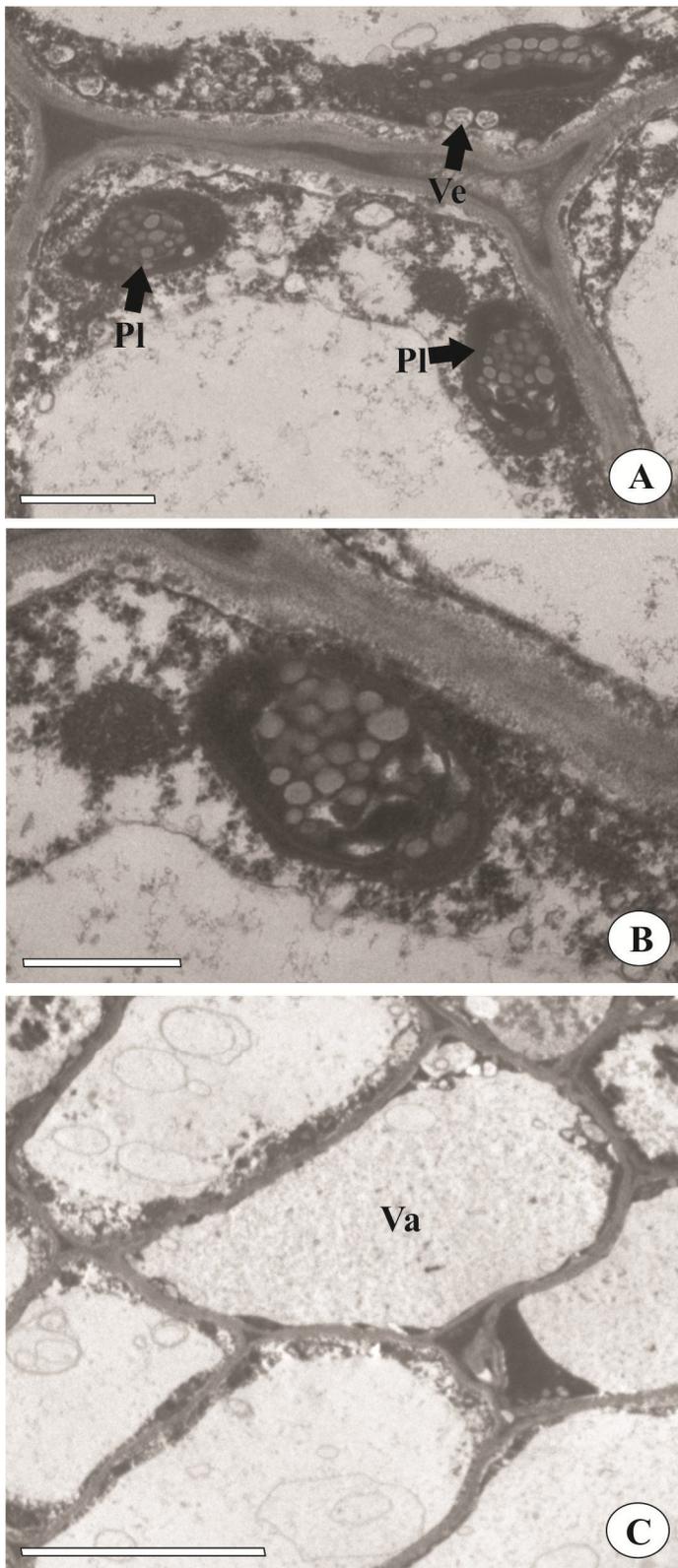


Figura 12. Eletromicrografias do disco glandular do fruto jovem de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Detalhe de uma célula subepidérmica mostrando plastídios contendo gotas lipídicas e algumas vesículas próximas a membrana celular. **B.** Plastídio contendo inclusões lipídicas **C.** Células da do parênquima subnectarífero exibindo grande vacúolo que ocupa quase todo o volume celular. (PI = plastídio, Va = vacúolo; Ve = vesícula). Barras: 2 µm (A-C).

Análise da secreção produzida pelo tecido glandular

A secreção coletada dos morfotipos florais foi diluída em água (2:1) e, segundo a escala cromática das tiras reagentes, a secreção apresenta concentração máxima de glicose em torno de 100 mg/dl (1,0 mg/ml) para as flores estaminadas e 600 mg/dl (6,0 mg/ml) para as flores hermafroditas (Fig. 13). Utilizando a tabela de conversão proposta por Galetto & Bernadello (2005), estes valores equivalem a 10% e 49%, respectivamente, o que demonstra acentuada diferença entre as concentrações do néctar entre indivíduos com flores estaminadas e de flores hermafroditas.

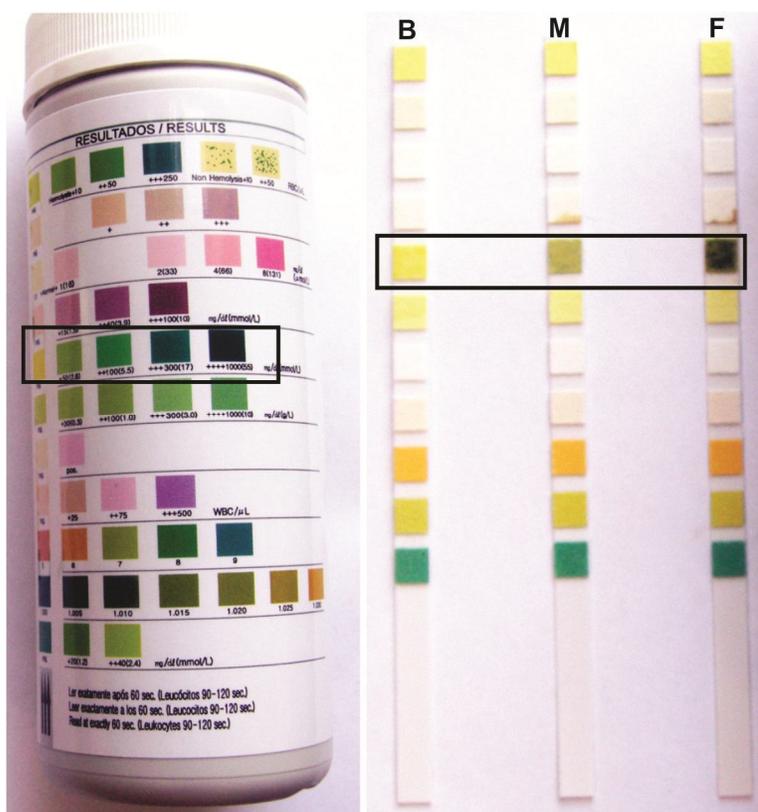


Figura 13. Tiras reagentes para determinação de glicose (Uri-test 11) em destaque (retângulo vazado) a reação cromática positiva fornecida pelo fabricante à esquerda e resultados obtidos neste trabalho à direita (B = branco, M = indivíduos com flores estaminadas, F = indivíduos com flores hermafroditas).

A análise da composição de açúcares e concentração de aminoácidos mostra-se semelhante entre os indivíduos analisados (Tabela 4). Os três açúcares (frutose, glicose e sacarose) foram detectados em todas as amostras e sua proporção foi bastante homogênea entre

os indivíduos amostrados. As poucas variações ocorridas não foram significativamente diferentes entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4. Composição química do néctar de *Tapirira guianensis* Aubl.

Variáveis	Flores estaminadas (n=150)	Flores hermafroditas (n=150)	Teste T pareado
Escala de histidina (mg/mL)	1,62 ± 0,56	0,64 ± 0,28	0,074
% Sacarose	48,34% ± 0,18	57,47% ± 0,05	0,563
% Frutose	30,01% ± 0,09	29,40% ± 0,02	0,903
% Glicose	21,56% ± 0,08	13,10% ± 0,06	0,449
r = S/G+F	1,03 ± 0,70	1,33 ± 0,35	0,644
rh = G/F	0,71 ± 0,08	1,03 ± 0,54	0,354

A composição do néctar é analisada mostrando os açúcares individuais (sacarose, frutose e glicose) e as taxas de açúcares (r) e hexoses (rh) entre as flores estaminadas e as flores hermafroditas. Os dados tabelados estão expressos como média ± desvio padrão. As variáveis não foram significativamente diferentes entre as flores estaminadas e as flores hermafroditas ($p > 0,05$). Foram amostrados três indivíduos femininos e três masculinos, num total de 50 flores por indivíduo.

As flores estaminadas e hermafroditas apresentam néctar sacarose dominante ($r > 1,0$) e a relação de hexoses (rh) demonstra que a frutose é predominante, tanto nos indivíduos que possuem flores hermafroditas (rh = 1,03), quanto nos que possuem flores estaminadas (rh = 0,71). As variáveis avaliadas não diferiram significativamente entre os morfotipos florais ($p > 0,05$), demonstrando que a sexualidade do indivíduo não interfere na composição química do néctar (Tabela 4).

Discussão

Os resultados obtidos neste trabalho, principalmente com relação à composição predominante da secreção, permitem classificar o disco glandular das flores hermafroditas e estaminadas de *T. guianensis* como nectários florais. Alguns aspectos da estrutura floral de Anacardiaceae foram elucidados no trabalho de Wannan & Quinn (1991), os autores realizaram um estudo comparativo entre 17 gêneros desta família, observando um disco nectarífero intraestaminal na maioria das espécies. Scholefield (1982), Von-Teichman (1987), Von-Teichman & Van-Wyk (1994), Von-Teichman & Van-Wyk (1996), Gallant *et al.* (1998) e Von-

Teichman (1998) também observaram a presença de um disco nectarífero intraestaminal em algumas espécies de Anacardiaceae.

As diferenças morfológicas do nectário floral entre espécies da família Anacardiaceae são bastante acentuadas e podem refletir a relação filogenética entre os táxons (Von-Teichman & Van-Wyk 1994; Von-Teichman & Van-Wyk 1996; Von-Teichman 1998). O disco nectarífero de *T. guianensis* apresenta epiderme secretora recoberta por cutícula, estômatos modificados e parênquima com região vascularizada conforme já descrito para *Protorhus longifolia* (Bernh.) Engl., *P. namaquensis* Sprague (Von-Teichman & Van-Wyk 1994), *Smodingium argutum* E. Mey. ex Sond. (Von-Teichman 1998) e para *Heeria argentea* Meisn. (Von-Teichman & Van-Wyk 1996). O mesmo apresenta características típicas de tecido nectarífero, como células pequenas com paredes celulares finas, núcleo relativamente grande, vacúolos pequenos e citoplasma denso (Fahn 1979; Durkee 1983; Nepi *et al.* 1996; Galetto & Bernadello 2005; Nepi 2007). Vale ressaltar que *T. guianensis* é única espécie da família, até o momento, em que a glândula floral permanece até o desenvolvimento completo do fruto.

Em *T. guianensis* estômatos modificados estão presentes ao longo da epiderme, sendo esta a rota mais provável para a saída do néctar. Os estômatos modificados também estão presentes em *Protorhus longifolia*, *P. namaquensis* (Von-Teichman & Van-Wyk 1994), *Smodingium argutum* (Von-Teichman 1998) e *Heeria argentea* (Von-Teichman & Van-Wyk 1996). Já em *Anacardium occidentale* as células da epiderme não são secretoras e o néctar é exsudado via tricomas multicelulares que se elevam acima da epiderme com a liberação da secreção dando-se através da cutícula dos tricomas (Wunnachit *et al.* 1992). Lacchia (2006) observou a presença de um disco glandular nectarífero intraestaminal nas flores de *Lithraea molleoides* Engl., já em *Anacardium humile* A. St. Hill. foram observados tricomas glandulares na região basal da face adaxial das pétalas, no entanto, a autora sugere que estes tricomas produzem uma secreção mista de natureza mucilaginosa e predominantemente lipídica.

Na maioria das angiospermas, o néctar pode ser exsudado por diversas vias: tricomas, poros, por ruptura ou permeabilidade da cutícula, ou via estômatos modificados (Fahn 1979, O'Brien *et al.* 1996, Nepi 2007, Varassin *et al.* 2008). O termo estômatos modificados foi utilizado pela primeira vez por Fahn (1979) para designar nectários que não tem a secreção liberada por um tecido nectarífero diferenciado, mas é exsudada por estômatos que normalmente

perderam a habilidade de fechar o poro estomático. Alguns outros estudos descrevem esses estômatos modificados envolvidos na secreção do néctar em outras famílias (Davis & Gunning 1992; Galetto & Bernadello 1992, Zer & Fahn 1992; Nepi *et al.* 1996; O'Brien *et al.* 1996; Fahn & Shimony 2001; Wist & Davis 2006; Paiva & Machado 2008; Varassin *et al.* 2008). Não é eliminada a possibilidade de algum néctar ser exsudado via cutícula, pois em microscopia eletrônica de transmissão foram observados alguns canais na cutícula, podendo ser esta uma rota provável de eliminação da secreção, pois eles podem aumentar a porosidade e facilitar a passagem de macromoléculas por esta estrutura (Wist & Davis 2006, Rocha & Machado 2009, Melo *et al.* 2010, Stpiczyńska *et al.* 2011).

As características ultraestruturais aqui observadas como núcleo proeminente, citoplasma denso, abundância de retículo endoplasmático, dictiossomas ativos, mitocôndrias, ribossomos, plasmodesmos, vacúolos pequenos durante o estágio de secreção, dentre outras, são relatadas para diversos nectários de angiospermas e são indicativos de alta atividade metabólica (Fahn 1979, Durkee 1983, Nepi *et al.* 1996, Stpiczyńska *et al.* 2005, Paiva & Machado 2006). A ultraestrutura das células secretoras muda significativamente durante os estágios da atividade do nectário. As alterações ultraestruturais verificadas nas fases pré-secretora e secretora foram similares àquelas de outras famílias (Zer & Fahn 1992, Figueiredo & Pais 1992, Fahn & Shimony 2001, Stpiczyńska *et al.* 2005, Horner *et al.* 2007, Paiva & Machado 2008), sugerindo que estas alterações estão envolvidas na conversão dos açúcares que compõem o néctar .

Os resultados dos testes histoquímicos e ultraestrutura levantam a hipótese de que todo o nectário é especializado na síntese, acúmulo e liberação do néctar, constituindo-se numa unidade funcional (Fahn 1979, Paiva & Machado 2008, Rocha & Machado 2009). Em *T. guianensis* foi possível observar grãos de amido nas flores em pré-antese, enquanto que durante a antese os mesmos estão ausentes, provavelmente o amido é utilizado no metabolismo da planta para síntese do néctar, assim como descrito em outras espécies (Nepi *et al.* 1996; Fahn & Shimony 2001; Horner *et al.* 2007, Rocha & Machado 2009). Esta característica foi considerada como um marco estrutural capaz de separar a fase pré-secretora (grãos de amido abundantes) das fases secretora e pós-secretora (grãos de amido escassos ou ausentes). A presença de amido em um estágio pré-secretor e ausência no período posterior indicam que esse carboidrato foi utilizado como recurso

na formação dos açúcares do néctar ou está envolvido fornecendo energia para o processo secretor (Fahn & Shimony 2001, Stpiczyńska *et al.* 2005).

Fahn & Shimony (2001) afirmam que o pré-néctar (sacarose) é originado no floema e é armazenado principalmente nos plastídios sob a forma de grãos de amido, que são hidrolisados em frutose e glicose para fase secretora do néctar. A presença de retículo endoplasmático está bastante relacionada com a translocação de açúcares do sítio de produção do pré-néctar até as células responsáveis pela transformação do pré-néctar em néctar (Rocha & Machado 2009).

As mudanças ultraestruturais observadas durante os vários estágios de secreção também indicam que a participação das organelas pode variar em dados momentos da secreção. Células em que predominam dictiossomas estão relacionadas com a produção de secreção hidrofílica (Durkee 1983) e células onde há predomínio de retículo endoplasmático estão relacionadas com a síntese de secreção lipofílica, podendo atuar também na translocação e/ou concentração temporária de açúcares (Durkee 1983, Figueiredo & Pais 1992, Paiva & Machado 2008). Dictiossomas foram observados apenas na fase pré-secretora, não sendo possível confirmar se estão presentes nas fases posteriores, indicando produção de substâncias hidrofílicas nesta fase; o retículo endoplasmático rugoso é abundante tanto na fase que antecede o período secretor quanto na fase secretora propriamente dita, sendo um indicativo de que as células também possuem aparato necessário para a produção de substâncias lipofílicas, sendo esta produção mais acentuada a partir da fase II. Os vacúolos são áreas de conversão da sacarose (Durkee 1983) sendo pequenos e numerosos na fase I; o aumento do volume do vacúolo em estágio pós-secretor normalmente está associado com eventos autofágicos e de senescência, sendo evidenciado também pelo material fibrilar presente em seu interior (Durkee 1983, Razem & Davis 1999).

De acordo com os testes histoquímicos a epiderme secretora do nectário floral e do disco glandular dos frutos de *T. guianensis* produz substâncias lipofílicas, polissacarídeos e compostos fenólicos. As células da epiderme e subepiderme apresentam vacúolo com conteúdo fortemente elétron-denso, que correspondem às substâncias fenólicas detectadas nos testes histoquímicos. Estes compostos encontram-se compartimentalizados nos vacúolos, no entanto, podem tornar o néctar tóxico, caso sejam exsudados via cutícula, ou repelir alguns visitantes, visto que alguns insetos podem se alimentar de tecidos florais (Galletto & Bernadello 2005; Nicolson 2007). Estas

substâncias, muitas vezes, lhes conferem um odor e sabor particular que pode ser essencial para a manutenção de certos grupos de polinizadores (Southwick 1990; Galetto & Bernadello 2004).

A presença de lipídios no néctar é bastante comum em diversas espécies (Baker & Baker 1973a; Fahn 1979, 1988; Rocha & Machado 2009), no entanto, a produção é tão pequena que é possível detectar apenas traços, juntamente com aminoácidos, proteínas, fenólicos e antioxidantes; o que se observa em *T. guianensis* é que há uma produção elevada de lipídios e fenólicos, comprovada por meio dos testes histoquímicos e microscopia eletrônica de transmissão. A secreção de óleos por flores é uma característica bastante particular (Neff & Simpson 2005), e a ocorrência de uma glândula de secreção mista, que secreta tanto néctar quanto lipídios, é aqui relatada pela primeira vez na família Anacardiaceae. Os lipídios e compostos fenólicos podem ser exsudados para a superfície via permeabilidade da cutícula, uma vez que a mesma oferece uma passagem para as substâncias lipossolúveis, enquanto que para as substâncias hidrofílicas se constitui em uma barreira (Nepi *et al.* 1996), no entanto, não ficou confirmada a liberação dessas substâncias para o meio externo, confirmando-se apenas produção e acúmulo das mesmas.

Segundo Neff & Simpson (2005) a produção de lipídios atua na atração de abelhas, oferecendo estas substâncias como recompensa ao polinizador, sendo duas vezes mais energético que o néctar, ou ainda podem fazer parte dos componentes dos óleos voláteis, servindo como atrativos odoríferos. Plastoglóbulos e gotas de óleo nos vacúolos ou dispersas no citoplasma, mais evidentes na fase secretora e pós-secretora, são uma evidência ultraestrutural da produção de lipídios por esta glândula e são bastante similares a plastídios envolvidos na síntese de terpenóides em glândulas lipofílicas (Gleizes *et al.* 1980, Figueiredo & Pais 1992, Turner *et al.* 1999, Stpiczyńska *et al.* 2005, Machado *et al.* 2006, Possobom *et al.* 2010), sendo características pouco comuns em tecidos nectaríferos (Rocha & Machado 2009). Os plastoglóbulos também permitem a troca de lipídios entre os compartimentos membranares (Bréhelin & Kessler 2008).

Odor e néctar são elementos importantes para manter o relacionamento entre a planta e o polinizador: o odor floral é responsável pela atração de longa distância, enquanto o néctar constitui a principal recompensa floral (Melo *et al.* 2010). Melo *et al.* (2010) estudando algumas espécies de Orchidaceae perceberam que as características estruturais e ultraestruturais de nectários florais e osmóforos são bastante semelhantes, sendo que nestas últimas há um

predomínio de retículo endoplasmático e poucos dictiossomos, característica compatível com a fase secretora de *T. guianensis*.

A capacidade de secretar tanto néctar quanto lipídios também é relatada nos nectários extraflorais de *Diplopterys pubipetala* (A. Juss.) W.R. Anderson & C. Davis e *Hiptage sericea* Hook. f. (Malpighiaceae) (Subramanian *et al.* 1990, Possobom *et al.* 2010), foi observado que estas espécies possuem o aparato subcelular para secretar tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas, assim como ocorre em *T. guianensis*. Estudos sobre elaióforos em Malpighiaceae sugerem que nectários e elaióforos são estruturas homólogas, exibindo semelhanças na estrutura anatômica e no mecanismo de secreção, diferindo apenas quanto à natureza química das substâncias (Subramanian *et al.* 1990, Vogel 1990, Vinson *et al.* 1997, Castro *et al.* 2001, Possobom *et al.* 2010). Vogel (1990) levanta a hipótese de que as glândulas produtoras de óleo, elaióforos, tiveram origem a partir de nectários, podendo ser esta uma característica de transição presente na espécie estudada.

Por meio dos testes histoquímicos e análise ultraestrutural, observou-se que o disco glandular do fruto perde a capacidade de secretar néctar e produz apenas fenólicos e lipídios, como detectado também no trabalho de Lacchia (2006), atuando provavelmente na proteção do fruto contra a herbivoria (Fahn 1979; Roshchina & Roshchina 1993). Estas substâncias também podem estar envolvidas na defesa química do fruto aumentando o potencial reprodutivo do indivíduo, uma vez que estas substâncias são tóxicas e antibióticas e diminuem a ovoposição (Lacchia 2006).

A presença de drusas contendo cristais no tecido nectarífero não foi relatada para outras espécies de Anacardiaceae; estes podem servir como uma barreira física e química para proteger o nectário e o gineceu contra insetos e outros organismos que podem usá-lo como fonte de alimento (Korth *et al.* 2006, Horner *et al.* 2007). Segundo Paiva & Machado (2005), esses cristais também podem atuar na eliminação do excesso de cálcio citossólico, muito comum no floema e imediações de tecidos secretores, bem como auxiliar o transporte via simplasto.

A presença de numerosos plasmodesmos conectando as células parenquimáticas do nectário é uma forte evidência de que o transporte do pré-nectar ocorre via simplasto, característica observada em muitas outras espécies de angiospermas (Fahn 1979, Zer & Fahn 1992, Figueiredo & Pais 1992, Stpigynska *et al.* 2003, Wist & Davis 2006, Sulborska *et al.* 2007,

Possobom *et al.* 2010, Paiva 2011). No entanto, a partir da fase II são observados alguns espaços intercelulares, que podem indicar transporte via apoplasto (Fahn 1979).

As vesículas secretoras próximas a membrana plasmática associadas ao retículo endoplasmático em *T. guianensis*, são indicativos de forma de liberação da secreção do tipo granulócrina, pois o retículo endoplasmático é a organela mais comum envolvida na produção de vesículas secretoras em células nectaríferas (Durkee 1983, Fahn 2000), além disso, pequenas vesículas estão amplamente distribuídas próximas a membrana plasmática. No entanto, as células também possuem indicativo de liberação écrina, pois é comum a presença de gotas de óleo. Já foi observado em outros trabalhos que é possível uma mesma estrutura possuir ambos os modos de liberação da secreção (Zer & Fahn 1992, Razem & Davis 1999).

Percival (1961) estudou 889 espécies de angiospermas e dividiu as mesmas em três grupos de acordo com o tipo de açúcar predominante no néctar: (1) predomínio de sacarose, (2) proporção igualitária entre sacarose, glicose e frutose, (3) predominância de frutose e glicose. Posteriormente Baker e Baker (1982) confirmaram as observações realizadas por Percival (1961) de que certas espécies conservam uma determinada proporção entre sacarose, glicose e frutose, no entanto, os autores dividiram as espécies estudadas em quatro grupos, de acordo com a proporção entre os três açúcares, atribuindo uma taxa baseada no cálculo $S/(G+F)$ (S=sacarose; G=glicose; F=frutose): (1) sacarose dominante ($r > 1,0$), (2) rico em sacarose (0,5-1,0), (3) rico em hexose (0,1-0,5) e (4) hexose dominante ($< 0,1$), sendo esta a classificação mais aceita atualmente.

Em *T. guianensis* constatou-se, no presente trabalho, que o néctar na fase floral é sacarose dominante ($r > 1,0$) tanto nos indivíduos contendo flores estaminadas quanto nos indivíduos contendo flores hermafroditas. A composição química do néctar em Anacardiaceae havia sido estudada apenas em uma espécie – *Anacardium occidentale* L. por Wunnachit *et al.* (1992). Nessa espécie foi verificada que a relação dissacarídeos/monossacarídeos é de 0,08 para as flores hermafroditas e de 0,13 para as flores estaminadas, mostrando que essas flores têm predominância de hexoses (frutose e glicose) em sua composição. Em *A. occidentale* não houve diferença significativa entre a composição química do néctar entre os morfotipos florais, assim como em *T. guianensis*. Algumas famílias são caracterizadas por uma determinada relação dissacarídeos/monossacarídeos, como Lamiaceae e Ranunculaceae, que têm um néctar com

predominância de sacarose (Baker & Baker 1983) e Solanaceae, com predominância de hexoses (Galletto *et al.* 1998), outras apresentam diferenças entre os gêneros, como Scrophulariaceae (Baker & Baker 1983). Devido à carência de estudos não é possível discutir com precisão as tendências gerais para Anacardiaceae.

A concentração do néctar é altamente influenciada pelos fatores ambientais, especialmente pela temperatura e pela umidade (Clalkoff *et al.* 2006; Pacini *et al.* 2003, Nepi *et al.* 2007). *Tapirira guianensis* é encontrada em áreas úmidas e alagadiças (Santana *et al.* 2009) e de acordo com Wunnachit *et al.* (1992) um ambiente seco explica altas concentrações de néctar, o oposto acontece para ambientes úmidos. Além disso, a rápida evaporação do néctar, geralmente em flores que possuem a corola pouco profunda, causa um aumento na concentração (Galletto *et al.* 1998). Foram encontradas diferenças pronunciadas entre os indivíduos estudados, as flores hermafroditas exibem maior concentração de açúcares, fator que pode estar relacionado ao microhabitat em volta das flores; como as inflorescências masculinas tem maior quantidade de flores, a umidade é mantida por mais tempo, reduzindo a evaporação do componente aquoso do néctar, estando assim menos concentrado.

A concentração dos aminoácidos no néctar é consideravelmente inferior em relação aos açúcares e sua presença está relacionada com a recompensa a insetos que não dispõem de outras fontes que forneçam os componentes básicos para construção de proteínas (Baker e Baker 1983). As diferenças na concentração de aminoácidos entre os morfotipos florais de *T. guianensis* não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$), porém os valores mais elevados nas flores estaminadas poderiam estar relacionados com uma provável contaminação por pólen. A morfologia das flores, em especial nas flores estaminadas, contribui para que isto aconteça, uma vez que o nectário fica totalmente exposto; com a visitação dos polinizadores pode haver então contaminação desse tecido por grãos de pólen.

Com base nas análises ultraestruturais e histoquímicas o nectário floral de *T. guianensis* pode ser classificado como uma glândula de secreção mista, pois possui aparato celular para síntese de secreção hidrofílica e lipofílica, sendo esta última predominante a partir da formação do fruto; a secreção liberada durante a antese é predominantemente hidrofílica composta principalmente por açúcares, confirmado através do teste em glicofita. Existe na literatura relato de glândulas extraflorais que produzem néctar e lipídios (Subramanian *et al.* 1990, Machado *et*

al. 2008, Possobom *et al.* 2010), sendo classificadas como nectários *sensu lato* (Durkee *et al.* 1984, Machado *et al.* 2008), o mesmo é válido para o nectário de *T. guianensis*. Estudos estruturais e químicos com outras espécies da família Anacardiaceae são necessários para verificar se essa característica se repete no grupo.

Referências

- Baker, H.G.; Baker, I. 1973a. Studies of nectar-constitution and pollinator-plant coevolution. In: Gilbert, L.E.; Raven, P.H. **Coevolution of animals and plants**. Austin and London: University of Texas Press, 100-140.
- Baker, H.G.; Baker, I. 1973b. Amino-acids in nectar and their evolutionary significance. **Nature** 241: 543-545.
- Baker, H.G. & Baker, I. 1975. Studies of nectar-constitution and pollinator plant coevolution. In: Gilbert, L.E. & Raven, P.H. (ed.). **Coevolution of animals and plants**. Austin, 100-140.
- Baker, H.G.; Baker, I. 1982. Some chemical constituents of floral nectars of *Erythrina* in relation to pollinators and systematic. **Allertonia** 3: 25-37.
- Baker, H.G.; Baker, I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: Jones, C.E. & Little, R.J (ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York, 117-141.
- Barroso, G.M.; Peixoto, A.L.; Ichaso, C.L.F.; Guimarães, E.F.; Costa, C.G. 2007. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. 2 ed. Viçosa: UFV, vol. 2, 266-271.
- Bergmeyer, H.U.; Bernt, E. 1974. **Methods of enzymatic analysis**. 2 ed. New York: Academic Press, 1177-1179.
- Berlyn, G.P.; Miksche, J.P. 1976. **Botanical microtechnique and citochemistry**. Iowa, The Yowa State University Press.
- Bernadello, G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. In: Nicolson, S.W.; Nepi, M. & Pacini, E. **Nectaries and nectar**. Dordrecht: Springer, 19-128.
- Bréhélin, C.; Kessler, F. 2008. The plastoglobule: a bag full of lipid biochemistry tricks. **Photochemistry and Photobiology** 84: 1388-1394,
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Quarterly Journal of Microscopical Science** 88: 383-392.

- Canto, A.; Pérez, R.; Medrano, M.; Castellanos, M.C.; Herrera, C.M. 2007. Intra-plant variation in nectar sugar composition in two *Aquilegia* species (Ranunculaceae): contrasting patterns under field and glasshouse conditions. **Annals of Botany** 99: 653-660.
- Castro, M.A.; Vega, A.S.; Múlgura, M.E. 2001. Structure and ultrastructure of leaf and calyx gland in *Galphimia brasiliensis* (Malpigiaceae). **American Journal of Botany** 88: 1935-1944.
- Chalcoff, V.R.; Aizen, M.A.; Galetto, L. 2006. Nectar concentration and composition of 26 species from the temperate forest of South America. **Annals of Botany** 97: 413-421.
- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press.
- Cruden, R.W.; Hermann-Parker, S. 1979. Butterfly pollination of *Cesalpinia pulcherrima*, with observations on a psychophilous syndrome. **Journal of Ecology** 67: 155-169.
- Cruden, R.W.; Hermann, S.M.; Peterson, S. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. In: Bentley, B.; Elias, T. **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press, 80-125.
- Cruden, R.W.; Toledo, V.M. 1977. Oriole pollination of *Erythrina brevipflora* (Leguminosae): Evidence for a polytropic view of ornithophily. **Plant Systematics and Evolution** 126: 393-403.
- Davies, C.; Robinson, S.P. 1996. Sugar accumulation in grape barriers. **Plant Physiology** 111: 275-283.
- Davis, A.R.; Gunning, B.E.S. 1992. The modified stomata of the floral nectar of *Vicia faba* L. 1. Development, anatomy and ultrastructure. **Protoplasma** 166: 134-152.
- Davis, A.R.; Pylatuik, J.D.; Paradis, J.C.; Low, N.H. 1998. Nectar-carbohydrate production and composition vary in relation to nectar anatomy and location within individual flowers of several species of Brassicaceae. **Planta** 205: 305-318.
- Durkee, L.T. 1983. The ultrastructure of floral and extrafloral nectarines. In: Bentley, B.; Elias, T. **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press, 1-29.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissue in plants**. London: Academic Press.
- Fahn, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist** 108: 229-257.
- Fahn, A. 2000. Structure and function of secretory cells. **Advances in Botanical Research** 31: 37-75.

- Fahn, A.; Shimony, C. 2001. Nectary structure and ultrastructure of unisexual flowers of *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. (Cucurbitaceae) and their presumptive pollinators. **Annals of Botany** 87: 27-33.
- 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.
- Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products** 44: 153-159.
- Galetto, L. 1997. Flower structure and nectar chemical composition in three Argentine Apocynaceae. **Flora** 192: 197-207.
- Galetto, L.; Bernadello, G. 1992. Nectar secretion pattern and removal effects in six Argentinean Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Botanica Acta** 105: 292-299.
- Galetto, L.; Bernadello, G.; Rivera, G.L. 1997. Nectar, nectarines, flower visitors, and breeding system in five terrestrial Orchidaceae from Central Argentine. **Journal of Plant Research** 110: 393-403.
- Galetto, L.; Bernadello, G.; Rivera, G.L. 1998. The relationship between floral nectar composition and visitors in *Lycium* (Solanaceae) from Argentina and Chile: what does it reflect? **Flora** 193: 303-314.
- Galetto, L.; Bernadello, G. 2004. Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six *Ipomoea* species (Convolvulaceae) in relation to pollinators. **Annals of Botany** 94: 269-280.
- Galetto, L.; Bernadello, G. 2005. Nectar. In: Dafni, A.; Kevan, P.G. & Husbana, B.C. (ed.). **Practical pollination biology**. Ontario: Enviroquest, 261-313.
- 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 : 539-549.
- Gerlach, D. 1984. **Botanische Mikrotechnik**: eine Einführung. 3 ed. Stuttgart : Georg Thieme.
- Gilliam, M.; McCaughey, W.F.; Wintermute, B. 1980. Amino acids in pollens and nectars of citrus cultivars and in bee breads and honeys from colonies of honey bees, *Apis mellifera*, placed in citrus groves. **Journal of Apicultural Research** 19: 64-72.
- Gleizes, M.; Carde, J.P.; Pauly, G.; Bernard-Dagan, C. 1980. In vivo formation of sesquiterpene hydrocarbons in the endoplasmic reticulum of pine. **Plant Science Letters** 20: 79-90.

- Horner, H.T.; Healy, L.A.; Ren, G.; Fritz, D.; Klyne, A.; Seames, C; Thornburg, R.W. 2007. Amyloplast to chromoplast conversion in developing ornamental tobacco floral nectarines provides sugar for nectar and antioxidants for protection. **American Journal of Botany** 94: 12-24.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A., Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. 2007. Anacardiaceae. In: Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sunderland, 416-417.
- Korth, K.L.; Doege, S.J.; Park, S.; Goggin, F.L.; Wang, Q.; Gomez, S.K.; Liu, G.; Jia, L.; Nakata, P.A. 2006. *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. **Plant Physiology** 141: 188-195.
- Kunst, A.; Draeger, B.; Ziegenhorn, J. 1984. **Methods of enzymatic analyses**. 3 ed. New York: Academic Press, vol. 2, 163-172.
- Lacchia, A.P.S. 2006. **Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, histoquímica e ultra-estrututa**. Tese de doutorado. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.
- 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.
- Lorenzi, H. 2002. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4 ed. São Paulo: Nova Odessa.
- Machado, S.R.; Rodrigues, T.M. 2004. Anatomia e ultra-estrutura do pulvino primário de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae – Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 135-147.
- Machado, S.R.; Gregório, 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.
- Machado, S.R.; Morellato, L.P.C.; Sajo, M.G.; Oliveira, P.S. 2008. Morphological patterns of extrafloral nectarines in woody plant of the Brazilian Cerrado. **Plant Biology** 10: 660-673.
- Mačukanović-Jocić, M.P.; Rančić, D.V.; Stevanović, Z.P.D. 2007. Floral nectarines of basil (*Ocimum basilicum*): morphology, anatomy and possible mode of secretion. **South African Journal of Botany** 73: 636-641.

- McManus, J.F.A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology** 23: 99-108.
- Melo, M.C.; Borba, E.L.; Paiva, E.A.S. 2010. Morphological and histological characterization of the osmophores and nectarines of four species of *Acianthera* (Orchidaceae: Pleurothallidinae). **Plant Systematic and Evolution** 286: 141-151.
- Neff, J.L.; Simpson, B.B. 2005. Other rewards: oils, resins and gums. In: Dafni, A.; Kevan, P.G.; Husbana, B.C. (ed.). **Practical pollination biology**. Ontario: Enviroquest, 314-328.
- Nepi, M.; Ciampolini, F.; Pacini, E. 1996. Development and ultrastructure of *Cucurbita pepo* nectarines of male flowers. **Annals of Botany** 78: 95-104.
- Nepi, M. 2007. Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson, S.W.; Nepi, M.; Pacini, E. **Nectarines and nectar**. Dordrecht: Springer, 129-166.
- Nicolson, S.W. 2007. Nectar consumers. In: Nicolson, S.W.; Nepi, M.; Pacini, E. **Nectarines and nectar**. Dordrecht: Springer, 289-342.
- O'Brien, S.P.; Loveys, B.R.; Grant, W.J.R. 1996. Ultrastructure and function of floral nectarines of *Chamelaucium uncinatum* (Myrtaceae). **Annals of Botany** 78: 189-196.
- Pacini, E.; Nepi, M.; Vesprini, J.L. 2003. Nectar biodiversity: a short review. **Plant Systematic and Evolution** 238: 7-21.
- Paiva, E.A.S. 2011. Petaline nectarines in *Swietenia macrophylla* (Meliaceae): distribution and structural aspects. **Flora** 206: 484-490.
- Paiva, E.A.S.; Machado, S.R. 2005. Role of intermediary cells in *Peltodon radicans* (Lamiaceae) in the transfer of calcium and formation of calcium oxalate crystals. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 147-153.
- Paiva, E.A.S.; Machado, S.R. 2006. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Acta Botanica Brasilica** 20: 471-482.
- Paiva, E.A.S.; Machado, S.R. 2008. The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. **Annals of Botany** 101: 125-133.
- Pearse, A.G.E. 1980. **Histochemistry theoretical and applied preparative and optical technology**. 4 ed. Edinburgh, Churchill Livingston.
- Peng, Y.; Li, Y.; Hao, Y.; Xu, Z.; Bai, S. 2004. Nectar production and transportation in the nectarines of the female *Cucumis sativus* L. flower during anthesis. **Protoplasma** 224: 71-78.

- Percival, M.S. 1961. Types of nectar in angiosperms. **New Phytologist** 60: 235-281.
- Petanidou, T.; Goethals, V.; Smets, E. 2000. Nectary structure of Labiatae in relation to their nectar secretion and characteristics in a Mediterranean shrub community – does flowering time matter? **Plant Systematic and Evolution** 225: 103-118.
- Pizzolato, T.D.; Lillie, R.D. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry** 21: 56-64.
- Possobom, C.C.F.; Guimarães, E.; Machado, S.R. 2010. Leaf gland act as nectaries in *Diplopteris pubipetala* (Malpigiaceae). **Plant Biology** 12: 863-870.
- Razem, F.A.; Davis, A.R. 1999. Anatomical and ultrastructural changes of the floral nectar of *Pisum sativum* L. during flower development. **Protoplasma** 206: 57-72.
- 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.
- Rocha, J.F.; Machado, S.R. 2009. Anatomy, ultrastructure and secretion of *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae) extrafloral nectar. **Revista Brasileira de Botânica** 32: 489-498.
- Rocha, J.F.; Pimentel, R.R.; Rosa, M.M.T.; Machado, S.R. 2010. Anatomia e histoquímica dos nectários florais de *Dombeya wallichii* (Lindl.) K. Schum. e *Dombeya natalensis* Sond. (Malvaceae). **Revista Biologia Neotropical** 7: 27-36.
- Roshchina, V.V.; Roshchina, V.D. 1993. **The excretory function of higher plants**. Berlin: Springer-Verlag.
- Schmid, R. 1988. Reproductive versus extra-reproductive nectarines-historical perspective and terminological recommendations. **The Botanical Review** 54: 179-227.
- Scholefield, P.B. 1982. A scanning electron microscope study of flowers of avocado, litchi, macadamia and mango. **Scientia Horticulture** 16: 263-272.
- Silva-Cruz, C.L.; Pirani, J.R. 2012. Anacardiaceae. In: **Lista de espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB004408> > Acesso em: 04/06/2012.
- Southgate, D.A.T. 1976. **Determination of food carbohydrates**. London: Applied Science Publishers.
- Southwick, E.E. 1990. Floral nectar. **American Bee Journal** 130: 517-519.

- Stpiczyńska, M. 2003. Floral longevity and nectar secretion of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (Orchidaceae). **Annals of Botany** 92: 191-197.
- Stpiczyńska, M.; Milanesi, C.; Faleri, C.; Cresti, M. 2005. Ultrastructure of the nectary spur of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (Orchidaceae) during successive stages of nectar secretion. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica** 47: 111-119.
- Stpiczyńska, M.; Davies, K.L.; Kaminska, M. 2011. Comparative anatomy of the nectar spur in selected species of Aeridinae (Orchidaceae). **Annals of Botany** 107: 327-345.
- Subramanian, R.B.; Arumugasamy, K.; Inamdar, J.A. 1990. Studies in the secretory glands of *Hiptage sericea* (Malpigiaceae). **Nordic Journal of Botany** 10: 57-62.
- Sulborska, A.; Weryszko-Chmielewska, E. 2007. Anatomy and ultrastructure of floral nectar of *Inula helenium* L. (Asteraceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae** 76: 201-207.
- Turner, G.; Gershenzon, J.; Nielson, E.E.; Froehlich, J.E.; Croteau, R. 1999. Limonene synthase, the enzyme responsible for monoterpene biosynthesis in peppermint, is localized to leucoplasts of oil gland secretory cells. **Plant Physiology** 120: 879-886.
- Varassin, I.G.; Penneys, D.S.; Michelangeli, F.A. 2008. Comparative anatomy and morphology of nectar-producing Melastomataceae. **Annals of Botany** 102: 899-909.
- Vesprini, J.L.; Nepi, M.; Pacini, E. 1999. Nectary structure, nectar secretion patterns and nectar composition in two *Helleborus* species. **Plant Biology** 1: 560-568.
- Vinson, S.B.; Williams, H.J.; Frankie, G.W.; Shrum, G. 1997. Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) and a use of floral lipids by *Centris* bees (Hymenoptera: Apidae). **Biotropica** 29: 76-83.
- Vogel, S. 1990. History of the Malpighiaceae in the light of pollination ecology. **Memoirs of the New York Botanical Garden** 55: 130-142.
- Von-Teichman, I. 1987. Development and structure of the pericarp of *Lannea discolor* (Sonder) Engl. (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 95: 125-135.
- Von-Teichamn, I. 1998. Micromorphological structure of the fruit and seed of *Smodingium argutum* (Anacardiaceae), as an adaptation to its natural habitat. **South African Journal of Botany** 64: 121-127.
- 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* (Thumb.) Meisn. (Anacardiaceae), including reference to 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 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.
- Wenzler, M.; Hölscher, D.; Oerther, T.; Schneider, B. 2008. Nectar formation and floral nectar anatomy of *Anigozanthos flavidus*: a combined magnetic resonance imaging and spectroscopy study. **Journal of Experimental Botany** 59: 3425-3434.
- Wist, T.J. & Davis, A.R. 2006. Floral nectar production and nectar anatomy and ultrastructure of *Echinacea purpurea* (Asteraceae). **Annals of Botany** 97: 177-193.
- Wunnachit, W.; Jenner, C.F.; Sedgley, M. 1992. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae): an andromonoecious species. **International Journal of Plant Science** 153: 413-420.
- Zer, H.; Fahn, A. 1992. Floral nectaries of *Rosmarinus officinalis* L. Structure, ultrastructure and nectar secretion. **Annals of Botany** 70: 391-397.
- Zhang, D.P.; Lu, Y.M.; Wang, Y.Z.; Duan, C.Q.; Yan, H.Y. 2001. Acid invertase is predominantly localized to cell walls of both the practically symplasmically isolated sieve element/ companion cell complex and parenchyma cells in developing apple fruits. **Plant, Cell and Environment** 24: 691-702.

CAPÍTULO 2

Ontogenia do pericarpo e semente de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae): aspectos estruturais, ultraestruturais e histoquímica

Elisabeth E. A. Dantas Tölke¹, Sandra Maria Carmello-Guerreiro¹, Sílvia Rodrigues Machado²

1. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

2. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP,
Campus de Botucatu

Resumo – Anacardiaceae reúne aproximadamente 600 espécies e 70 gêneros, tem distribuição tropical e subtropical. A maioria das espécies apresenta fruto do tipo drupa, podendo ocorrer também frutos do tipo sâmara. Este trabalho teve como objetivo descrever a ontogenia do pericarpo e da semente de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae). Ovário e frutos em várias fases de desenvolvimento foram coletados, fixados e processados para estudos em microscopia de luz, eletrônica de varredura e de transmissão, segundo as técnicas convencionais. Testes histoquímicos foram empregados para identificar os principais metabólitos presentes nos tecidos. O epicarpo, originado da epiderme externa do ovário, é formado por uma camada de células recoberta por cutícula. O mesocarpo, originado a partir do tecido fundamental ovariano, é dividido em três regiões distintas: mesocarpo externo formado por células colenquimáticas; mesocarpo mediano contendo canais secretores associados aos feixes vasculares e células parenquimáticas alongadas contendo reserva de amido; e mesocarpo interno com espaços intercelulares conspicuos e braquiesclereídes. O endocarpo *sensu lato* é formado por três a quatro camadas de esclereídes de vários tipos mais cristais, derivado da epiderme interna ovariana e de uma camada de células do tecido fundamental. *T. guianensis* apresenta o mesmo padrão geral das espécies drupóides já estudadas na família, com endocarpo lignificado e presença de canais resiníferos no mesocarpo. O óvulo é único, anátropo, de inserção lateral-apical, bitegmentado, crassinucelado, com funículo longo e hipóstase visível na região da calaza. A semente completamente desenvolvida é exalbuminosa, não possui camada mecânica e é considerada parcialmente paquicalazal. O embrião concentra reservas de amido e proteínas. Apesar da produção acentuada de goma-resina nos canais secretores e compostos fenólicos em geral, os frutos são dispersos por pássaros indicando que o efeito negativo que estes produtos químicos têm sobre dispersores de sementes deve ser de alguma forma compensado pelos benefícios obtidos através da redução microbiana e ataque de insetos.

Palavras-chave: Anacardiaceae, canais secretores, desenvolvimento, drupa, pau-pombo, paquicalaza.

Abstract – Anacardiaceae has 600 species and 70 genera approximately, tropical and subtropical distribution. Most species presents the drupe fruit, but may also occurs samara. This work described the ontogeny of pericarp and seed on *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae). Ovary and fruits in various stages of development were collected, fixed and processed for studies in light, scanning and transmission electron microscopy according to conventional techniques. Histochemical tests were employed to identify the major metabolites present in the tissue. The epicarp, originated from outside epidermis of the ovary, is formed by a layer of cells covered by cuticle. The mesocarp, originated from fundamental ovarian tissue, is divided into three distinct regions: outer mesocarp formed by colenchymatic cells, median mesocarp containing starch reserves, and inner mesocarp with conspicuous intercellular spaces and brachisclereids. The endocarp *sensu lato* comprises three to four layers of different types of sclereids and crystals, derived from ovarian inner epidermis and from a cell layer of fundamental tissue. *T. guianensis* has the same general pattern of drupoid species already studied in the family, with lignified endocarp and presence of resin ducts on mesocarp. The ovule is unique, anatropous, inserted apical-lateral, bitegmic, crassinucellate with longe funicle and hypostases visible in region of chalaza. The seed fully developed is exalbuminous, has not mechanical layer and is considered partially pachychalazal. The embryo concentrates reserves of starch and protein. Despite the marked production of gum-resin in the secretory ducts and phenolic compounds in general, the fruits are dispersed by birds, indicating that the negative effect of these chemicals on seed dispersers should be somehow compensated by the benefits achieved by reducing microbial and insect attack.

Keywords: Anacardiaceae, secretory ducts, development, drupe, “pau-pombo”. Pachychalaza.

Introdução

Anacardiaceae reúne aproximadamente 600 espécies e 70 gêneros (Judd *et al.* 2007, Barroso *et al.* 2007). No Brasil está representada por 14 gêneros e 57 espécies, sendo os gêneros *Schinus* L., *Anacardium* L., *Astronium* Jacq. e *Spondias* L. os mais numerosos (Silva-Cruz & Pirani 2012). Possui distribuição tropical e subtropical, com poucas espécies em regiões temperadas, englobando arbustos ou árvores, raramente lianas ou ervas (Barroso *et al.* 2007, Judd *et al.* 2007, Souza & Lorenzi 2008).

A família é tradicionalmente subdividida em cinco tribos: Anacardiëae, Dobineëae, Rhoëae, Semecarpeae e Spondiadeae (Engler 1892). A maioria das espécies possui fruto drupóide (Wannan & Quinn 1990, Gonzalez & Vesprini 2010) podendo ser encontrados também frutos do tipo sâmara (Souza & Lorenzi 2008). Wannan & Quinn (1990) estudaram frutos pertencentes a 29 gêneros de Anacardiaceae e reconheceram dois tipos básicos de endocarpo: (1) o tipo *Spondias* – composto por uma massa de esclerênquima de orientação irregular e (2) o tipo *Anacardium* – caracterizado por uma epiderme interna lignificada e arranjo em camadas, incluindo esclereídes em paliçada. O primeiro tipo foi encontrado na tribo Spondiadeae, em dois gêneros da tribo Rhoëae (*Camptosperma* e *Pentaspadon*) e em um gênero da tribo Anacardiëae (*Buchanania*). O segundo tipo ocorre nas tribos Rhoëae (exceto nos gêneros *Camptosperma* e *Pentaspadon*), Semecarpeae, Dobineëae e Anacardiëae (exceto no gênero *Buchanania*).

Diante do grande número de espécies que compreendem a família os estudos anatômicos dos frutos e sementes ainda são incipientes e apenas alguns trabalhos envolvem a ontogenia de alguns deles (Roth 1974, Von-Teichman & Robbertse 1986, Von-Teichman 1987, Von-Teichman & Van-Wyk 1988, Von-Teichman 1991, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, Li *et al.* 1999, Carmello-Guerreiro & Paoli 2002, González & Vesprini 2010). Nesses trabalhos são enfocadas as diferenças estruturais entre espécies de uma mesma tribo buscando caracteres que possam ser utilizados para delimitar melhor as tribos ou até mesmo os gêneros.

Barroso *et al.* (2007) afirmam que o mesocarpo dos representantes dessa família pode ser carnoso (gêneros *Mangifera* e *Spondias*) ou lacunoso com canais ou cavidades (gêneros *Anacardium*, *Astronium* e *Myracroduon*). Nestes últimos o sistema secretor é bastante desenvolvido e os canais e/ou cavidades ocupam quase todo o mesocarpo (Carmello-Guerreiro &

Paoli 2000). As substâncias produzidas podem ter importância na indústria, na medicina popular e ainda provocarem efeito alergênico (Dong & Bass 1993, Leon 2003, Pell 2004, Barroso *et al.* 2007, Judd *et al.* 2007).

Estruturas secretoras são bastante comuns em frutos de Anacardiaceae (Harada 1937, Paula & Alves 1973, Paula & Heringer 1978, Joel & Fahn 1980, Lozano 1986, Von-Teichman 1987, Wannan & Quinn 1990, Von-Teichman 1990, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, Piennar & Von-Teichman 1998, Von-Teichman 1998, Li *et al.* 1999, Machado & Carmello-Guerreiro 2001, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, Carmello-Guerreiro & Paoli 2002, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005, Lacchia 2006, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009, González & Vesprini 2010), podendo ser encontrados canais, cavidades ou idioblastos. As estruturas de maior ocorrência são os canais e cavidades podendo estes produzir resina, goma-resina, óleo-resina ou goma (Venning 1948, Metcalfe & Chalk 1950, Lacchia 2006, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009).

Tapirira Aubl. reúne aproximadamente 28 espécies arbóreas (Tropicos 2012), no Brasil ocorrem apenas quatro espécies: *T. guianenses* Aubl., *T. obtusa* (Benth.) J.D. Mitch., *T. pilosa* Sprague e *T. retusa* Ducke; o gênero é amplamente distribuído por todo território nacional (Silva-Cruz & Pirani 2012). Poucos trabalhos anatômicos foram realizados para o gênero, destacando-se Von-Teichman (1990) no estudo acerca da estrutura do pericarpo e da semente de *Tapirira guianensis* Aubl. e Lacchia (2006) evidenciando as estruturas secretoras presentes no ápice caulinar, nas flores e no fruto da mesma espécie, sendo destacada a presença de canais e idioblastos em diversos órgãos, no entanto não foi realizado estudo ontogenético do fruto e semente da espécie.

A espécie selecionada para este estudo foi *Tapirira guianensis* Aubl., pertencente à tribo Spondiadea, conhecida popularmente como pau-pombo, peito-de-pomba, cupuba ou camboatá (Silva-cruz & Pirani 2012). É uma espécie arbórea, dióica, importante para uso madeireiro, medicinal e pode ser empregada na recuperação de áreas degradadas e de matas ciliares (Lorenzi 2002, Lenza & Oliveira 2005, Santana *et al.* 2009). É distribuída em todo território brasileiro (Silva-cruz & Pirani 2012), principalmente em áreas de solo úmido (Santana *et al.* 2009). Os frutos de *T. guianensis* são do tipo drupa, elipsóides, quase esféricos e indeiscentes (Barroso 1999, Barroso *et al.* 2007, Santana *et al.* 2009).

Este trabalho teve como objetivo estudar a ontogenia do fruto e da semente de *Tapirira guianensis* Aubl., Desta forma os dados apresentados vêm para auxiliar os estudos taxonômicos e filogenéticos na família, relacionar a estrutura anatômica do fruto com os possíveis modos de dispersão e contribuir com os trabalhos relacionados às estruturas secretoras presentes em Anacardiaceae.

Material e Métodos

Flores em antese de indivíduos femininos e frutos em vários estágios de desenvolvimento de *Tapirira guianensis* Aubl. foram coletados em três áreas do Estado de São Paulo: Estação Experimental de Itirapina (22° 13' S; 47° 51' O), Estação Experimental de Mogi Guaçu (22° 10' S; 47° 07' O) e fragmento em Sousas – Distrito de Campinas (22° 51' S; 46° 57' O). As coletas foram realizadas entre os meses de março a dezembro de 2011 e janeiro a fevereiro de 2012.

Microscopia de luz

No estudo ontogenético do pericarpo, flores e frutos foram coletados, sendo o tamanho usado como critério inicial para o estabelecimento das fases de desenvolvimento: estágio I (ovário medindo de 2-3 mm), estágio II (fruto medindo de 3-5 mm), estágio III (fruto medindo de 5,1-8 mm) e estágio IV (fruto medindo de 8,1-10 mm). No estudo ontogenético da semente o óvulo e as sementes foram isolados a partir das flores e frutos, respectivamente, sendo estabelecidas três fases, baseando-se nas características anatômicas observadas: estágio I (óvulo), estágio II (semente em desenvolvimento) e estágio III (semente completamente desenvolvida).

As amostras foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético, etanol 50%; 1:1:18 v/v) por 24 horas (Johansen 1940), desidratadas em série etílica e estocadas em etanol 70%. Para as análises anatômicas o material foi incluído em hidroxietilmetacrilato (Historesin® Leica) de acordo com a técnica de Gerrits & Smid (1983) seguindo as recomendações do fabricante. Secções transversais e longitudinais com 7-8 µm de espessura foram obtidas com auxílio de micrótomo rotativo (Microm HM340E) e coradas com Azul de Toluidina a 0,05% em tampão acetato (pH = 4,7) (O'Brien *et al.* 1964). Todas as lâminas foram montadas temporariamente em água e as imagens capturadas com câmera digital (Olympus DP71) acoplada ao microscópio óptico (Olympus BX51).

Histoquímica

Para os testes histoquímicos foi utilizado material fixado em FAA (para substâncias hidrofílicas) por 24 horas e em FNT (tampão fosfato, formalina; 9:1 v/v) (para substâncias lipofílicas e substâncias fenólicas) por 48 horas. Os tratamentos realizados foram: Negro de Sudão B (Pearse 1980), Sulfato Azul do Nilo (Cain 1947), Lugol (Berlyn & Miksche 1976), Cloreto de Ferro III (Johansen 1940), Reagente de Wagner (Furr & Mahlberg 1981), Reagente de Schiff (PAS) (McManus 1948), Vermelho de Rutênio (Johansen 1940), Ácido Tânico e Cloreto de Ferro III (Pizzolato & Lillie 1973) e Azul-Preto de Anilina (Fisher 1968). As substâncias detectadas e suas respectivas reações cromáticas positivas encontram-se na Tabela 1. Os resultados foram registrados por meio de imagens capturadas com câmera digital (Olympus DP71) acoplada ao microscópio óptico (Olympus BX51).

Tabela 1. Testes histoquímicos utilizados na caracterização das substâncias presentes no pericarpo e na semente de *Tapirira guianensis* Aubl.

Teste	Substância detectada	Reação cromática positiva
Negro de Sudão B	Lipídios totais	Azul a negro
Sulfato Azul do Nilo	Lipídios ácidos e neutros	Azul piscina para lipídios ácidos e rosa a púrpura para lipídios neutros
Lugol	Amido	Roxo a negro
Cloreto de Ferro III	Compostos fenólicos	Marrom e negro
Reagente de Wagner	Alcalóides	Vermelho
Reagente de Schiff (PAS)	Polissacarídeos totais	Rosa
Vermelho de Rutênio	Pectinas	Rosa intenso
Ácido Tânico e Cloreto de Ferro III	Mucilagens	Negro
Azul-Preto de Anilina	Proteínas	Azul profundo a negro

Microscopia eletrônica de varredura

Para análise micromorfológica, o material fixado em FAA por 24 horas (Johansen 1940), foi desidratado em série etílica e estocado em etanol 70%. Posteriormente foi desidratado em série etílica, seco pelo método do ponto crítico com CO₂, montado e metalizado com ouro. As observações e imagens foram obtidas através de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Jeol JSM 5800 LV a 10 kV com câmera digital acoplada.

Microscopia eletrônica de transmissão

Na microscopia eletrônica de transmissão o material vegetal (endocarpo do fruto jovem – fase I) foi fixado em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3 durante 24 horas a uma temperatura de 5°C. Pós-fixado em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão durante uma hora a 25°C, desidratado em série crescente de solução de acetona e incluído em araldite (Machado & Rodrigues 2004). As secções ultrafinas foram obtidas com navalha de diamante e coradas com azul de metileno a 1% e contrastadas com acetato de uranila (Watson 1958) e citrato de chumbo (Reynolds 1963). O material foi observado em microscópio eletrônico de transmissão Philips E.M. 301.

Resultados

Ontogenia e histoquímica do pericarpo

Baseando-se nas alterações anatômicas que ocorrem durante o desenvolvimento do fruto, os resultados obtidos foram agrupados em quatro estádios: estágio I – representado pelo ovário da flor em antese; estágio II – fruto muito jovem; estágio III – fruto jovem no qual se verifica o alongamento ou crescimento celular; estágio IV – fruto completamente desenvolvido (Fig. 1). O pericarpo do fruto foi dividido em três regiões claramente diferenciadas em todas as fases de desenvolvimento: exocarpo, mesocarpo e endocarpo.



Figura 1. Flores e frutos de *Tapirira guianensis* Aubl. Estádio I – Ovário (Ov), estágio II – fruto muito jovem (3-5 mm), estágio III – fruto jovem no qual se verifica o alongamento ou crescimento celular (5,1-8 mm) e estágio IV – fruto completamente desenvolvido (8,1-10 mm).

Estádio I – O ovário de *T. guianensis* é unilocular constituído de epiderme externa, tecido fundamental contendo drusas na região externa, canais secretores associados ao floema dos feixes vasculares e epiderme interna que se divide periclinalmente formando duas camadas (Fig. 2). A epiderme externa do ovário é unisseriada, composta por células justapostas, recobertas por cutícula espessa e contem estômatos (Fig. 3A). As reações histoquímicas são positivas para substâncias fenólicas (Fig. 3B), lipídios (Fig. 3C) e polissacarídeos (Fig. 3D).

O ovário é piloso (Fig. 4A), recoberto por tricomas tectores e glandulares (Fig 4B-E). Os tricomas glandulares são multicelulares e multisseriados na porção secretora (3-4 camadas) (Fig. 4B e D); os tectores são alongados, multicelulares e unisseriados de ápice afilado com parede e cutícula espessa (Fig. 4C e E). A região fundamental do ovário pode ser dividida em três regiões, baseando-se no tamanho, arranjo e conteúdo celular. A região mais externa, subjacente à epiderme ovariana externa, é constituída por células parenquimáticas em processo intenso de divisão celular. Esta região é constituída por oito a dez camadas de células, de núcleo evidente e paredes delgadas (Fig. 2). Podem-se visualizar drusas distribuídas ao longo de toda essa região (Fig. 2). Na porção mediana (Tecido fundamental mediano) encontram-se canais secretores em diferenciação, associados ao floema dos feixes vasculares (Fig. 2; Fig. 5A-B). As células que formam o epitélio dos canais possuem conteúdo fenólico, lipídico, proteico e polissacarídico (Tabela 3). A região interna do ovário é constituída por 12 a 15 camadas de células parenquimáticas em processo intenso de divisão celular em vários planos, com núcleo evidente e paredes celulares delgadas (Fig. 2), no qual é observado um único feixe vascular de grande calibre (Fig. 5C). A epiderme interna da parede ovariana é bisseriada, formada por células justapostas, de núcleo evidente de posição central (Fig. 5D).

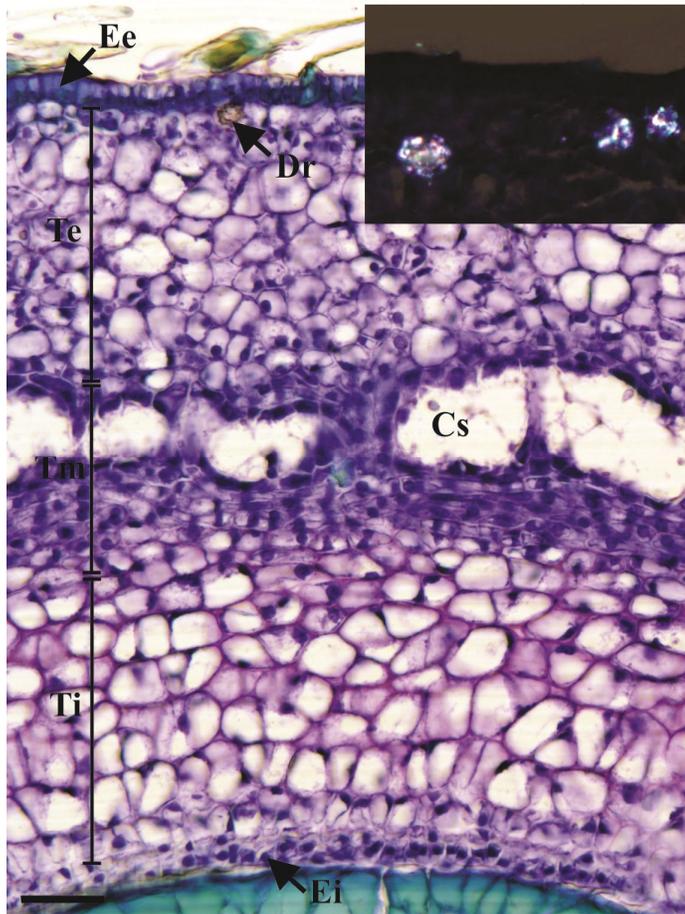


Figura 2. Aspecto geral do ovário de *Tapirira guianensis* Aubl. em corte transversal. Microscopia de luz e detalhe das drusas em luz polarizada na região externa do tecido fundamental. (Ee = epiderme ovariana externa; Dr = drusas; Cs = canal secretor com células trabeculares; Ei = epiderme ovariana interna; Te = tecido fundamental externo; Tm = tecido fundamental mediano; Ti = tecido fundamental interno). Barra: 20 μ m.

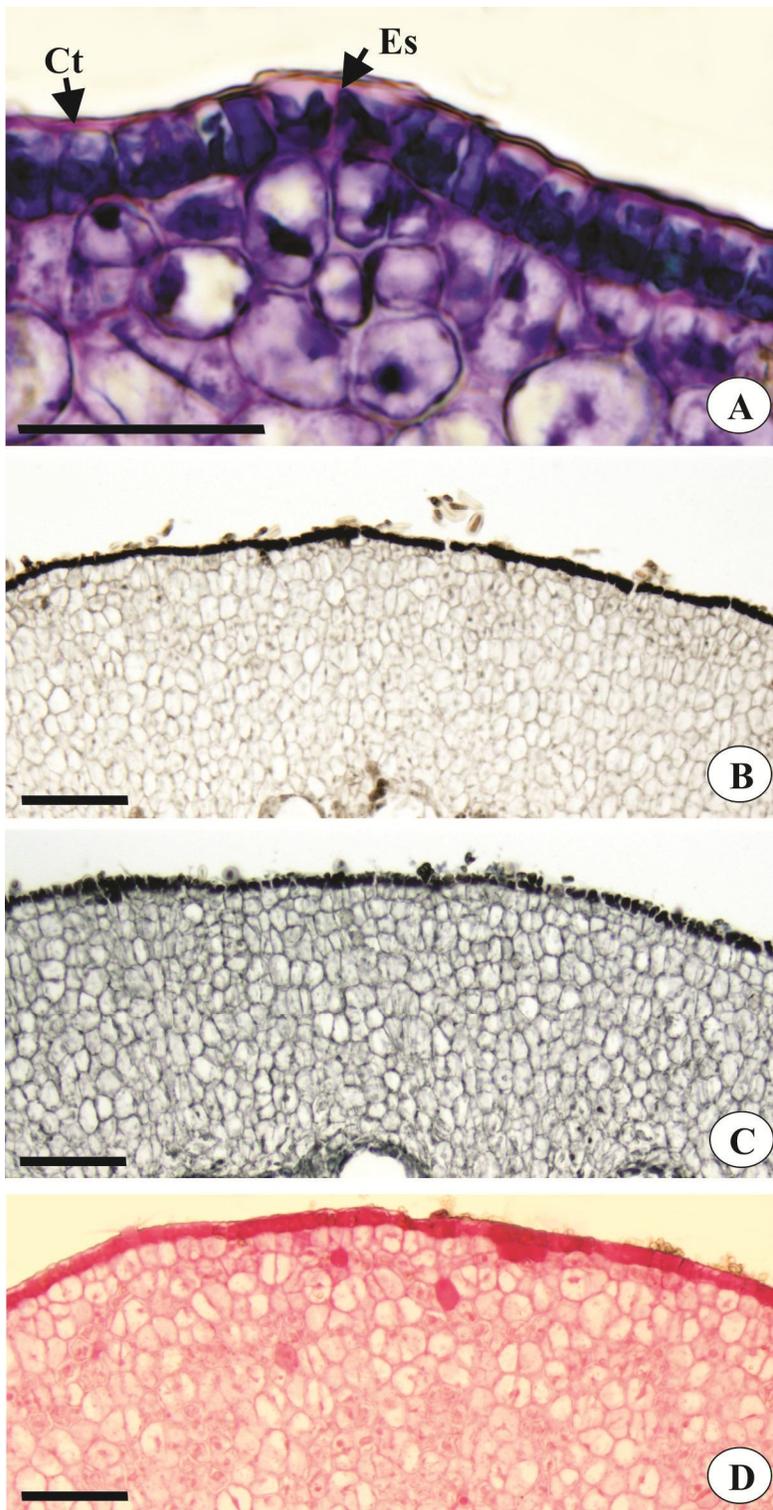


Figura 3. Epiderme externa ovariana de *Tapirira guianensis* Aubl. em cortes transversais. **A.** Detalhe da epiderme externa ovariana em que se visualizam estômato (Es) e cutícula (Ct). **B.** Reação positiva para o Cloreto férrico, evidenciando a presença de substâncias fenólicas. **C.** Reação positiva para o Negro de Sudão B, evidenciando a presença de lipídios. **D.** Reação positiva para o PAS, evidenciando a presença de polissacarídeos. Barras: 20 µm (A), 50 µm (B-D).

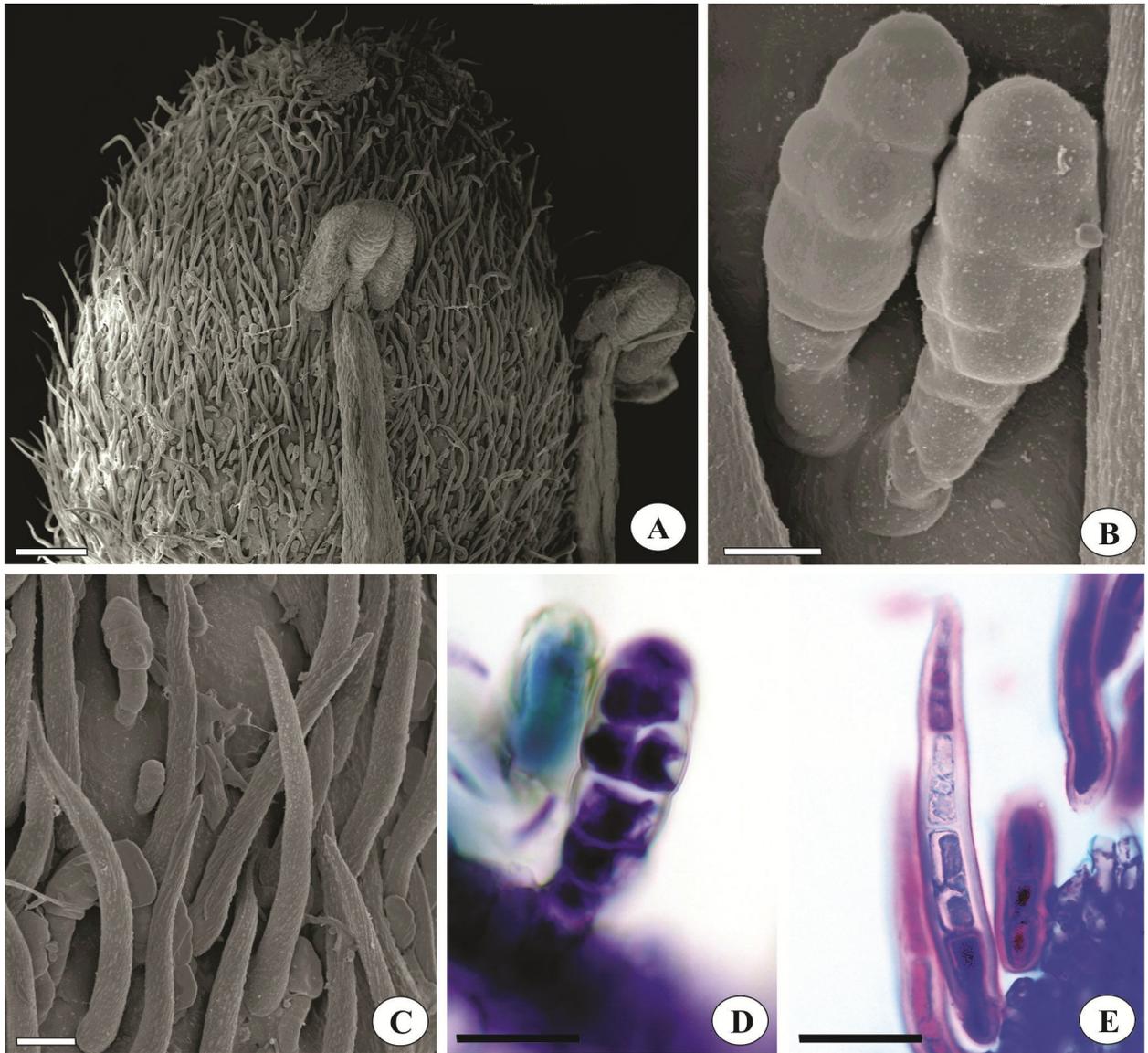


Figura 4. Tricomas tectores e glandulares presentes no ovário de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Aspecto geral do ovário em microscopia eletrônica de varredura. **B.** Eletromicrografia do tricoma glandular. **C.** Eletromicrografia dos tricomas tectores. **D.** Corte longitudinal de tricoma glandular multicelular com porção secretora multisseriada. **E.** Corte longitudinal de tricoma tector multicelular unisseriado. Barras: 200 μm (A), 20 μm (B, D, E), 10 μm (C).

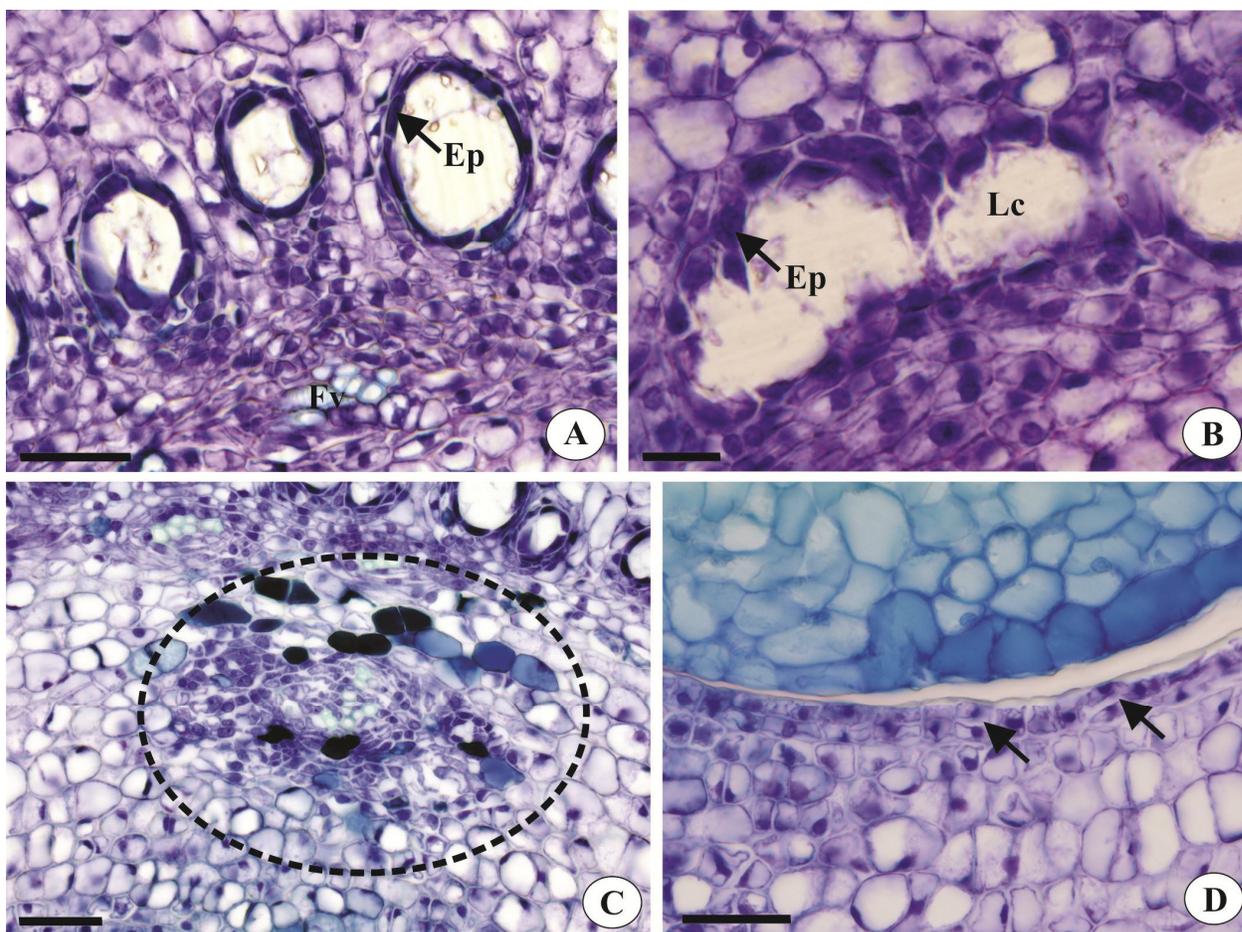


Figura 5. Tecido fundamental ovariano e epiderme interna ovariana de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Região mediana do tecido fundamental em corte transversal mostrando os canais secretores associados aos feixes vasculares (Ep = epitélio dos canais; Fv = feixe vascular). **B.** Região mediana do tecido fundamental em corte transversal mostrando os canais secretores (Ep = epitélio dos canais; Lc = lume do canal secretor). **C.** Feixe vascular de grande calibre na região interna do ovário em destaque em secção longitudinal. **D.** Epiderme interna em secção transversal, as setas apontam células em divisão periclinal. Barras: 10 μ m (B), 20 μ m (A, C-D).

Estádio II – Os frutos jovens são verdes com glândula intraestaminal persistente e apresentam intensa atividade mitótica. O aspecto geral do pericarpo nessa fase pode ser visualizado na figura 6A. O epicarpo, derivado da epiderme externa ovariana é bastante semelhante à epiderme externa da parede do ovário, formada por uma camada de células recobertas por cutícula (Fig. 7A).

Nessa fase ainda é possível observar tricomas tectores e glandulares recobrendo toda a superfície externa do epicarpo, só que em menor quantidade em relação à fase anterior (Fig. 7B). Os tricomas são morfologicamente idênticos aos descritos anteriormente.

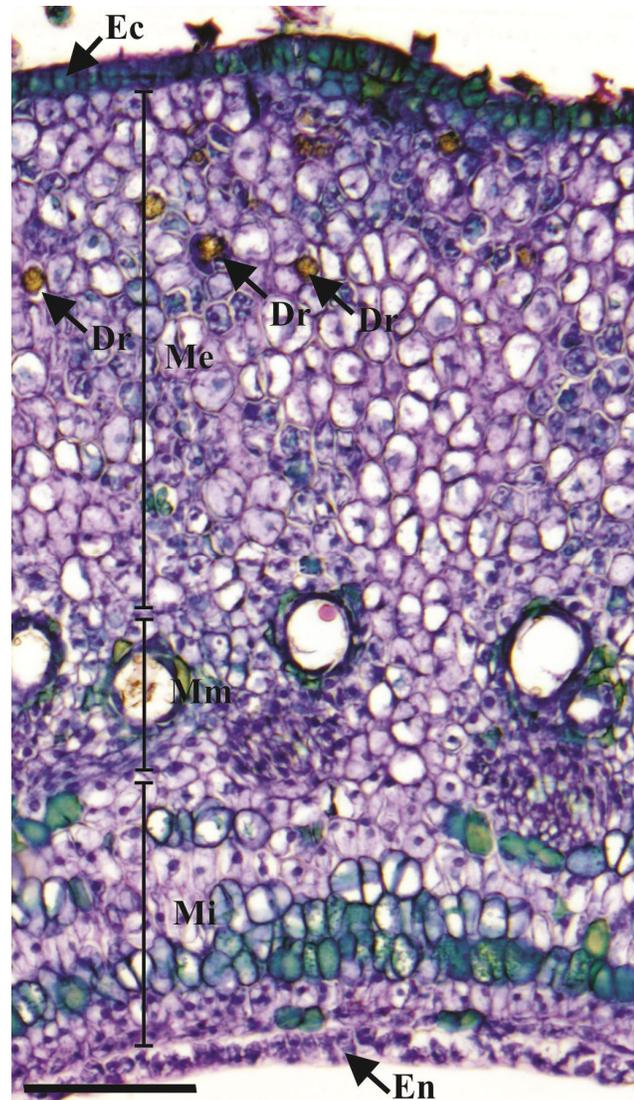


Figura 6. Aspecto geral do fruto (Estádio II) de *Tapirira guianensis* Aubl. em corte transversal. (Ec = epicarpo; Dr = drusas; Me = mesocarpo externo; Mm = mesocarpo mediano; Mi = mesocarpo interno, En = endocarpo). Barra: 50 μ m.

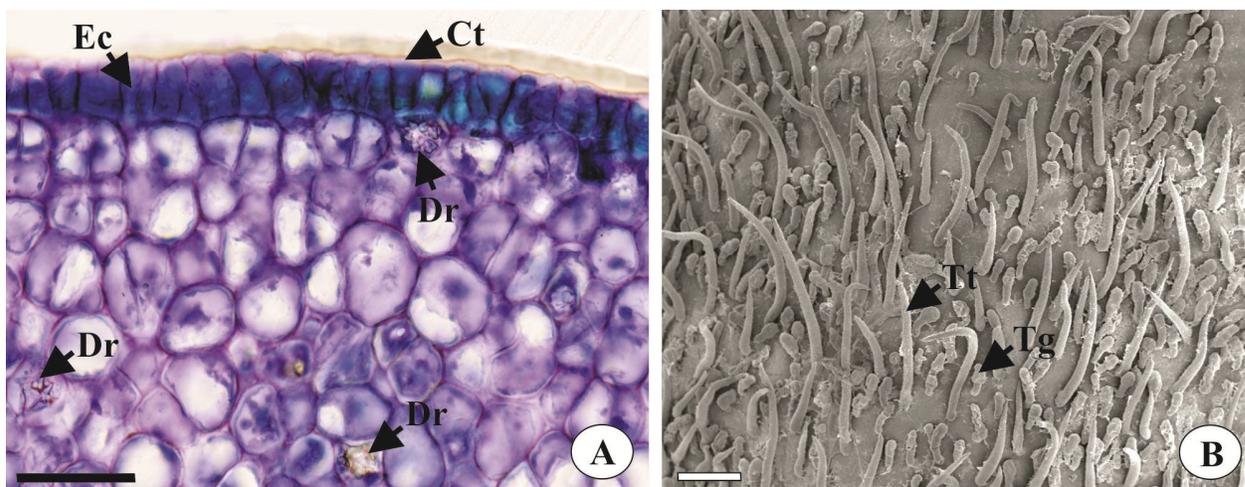


Figura 7. Detalhes do epicarpo do fruto (Estádio II) de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Secção transversal mostrando detalhe do epicarpo e mesocarpo externo (Ec = epicarpo; Ct = cutícula; Dr = drusa). **B.** Eletromicrografia do epicarpo evidenciando tricomas tectores (Tt) e glandulares (Tg). Barras: 20 μ m (A), 100 μ m (B).

O mesocarpo se desenvolve a partir do tecido fundamental do ovário sendo possível distinguir três zonas (Fig. 6A). Na mais externa, denominada de mesocarpo externo, há um aumento no número de camadas, passando a ser constituída por aproximadamente 20 camadas de células parenquimáticas, ainda em processo de divisão celular em vários planos e por células contendo drusas, amplamente distribuídas (Fig. 6 e 7A).

Na zona mediana, denominada de mesocarpo mediano, estão dispostos em um único círculo os canais secretores (Fig. 8A-E) associados aos feixes já bem desenvolvidos (Fig. 6). Os canais são formados por epitélio e bainha secretores, as reações histoquímicas são positivas para lipídios, compostos fenólicos, polissacarídeos e proteínas (Fig. 8A-E). Células degeneradas do epitélio são lançadas no lume e novas células provenientes da bainha parenquimática são diferenciadas em epitélio, substituindo as células degeneradas (Fig. 8H). Em secção longitudinal pode-se observar com clareza que a estrutura em questão é um canal e não uma cavidade (Fig. 8I), no entanto, em secções transversais (Fig. 8 F-G) em algumas regiões é possível observar a fusão de dois ou mais canais (anastomose) (Fig. 8G).

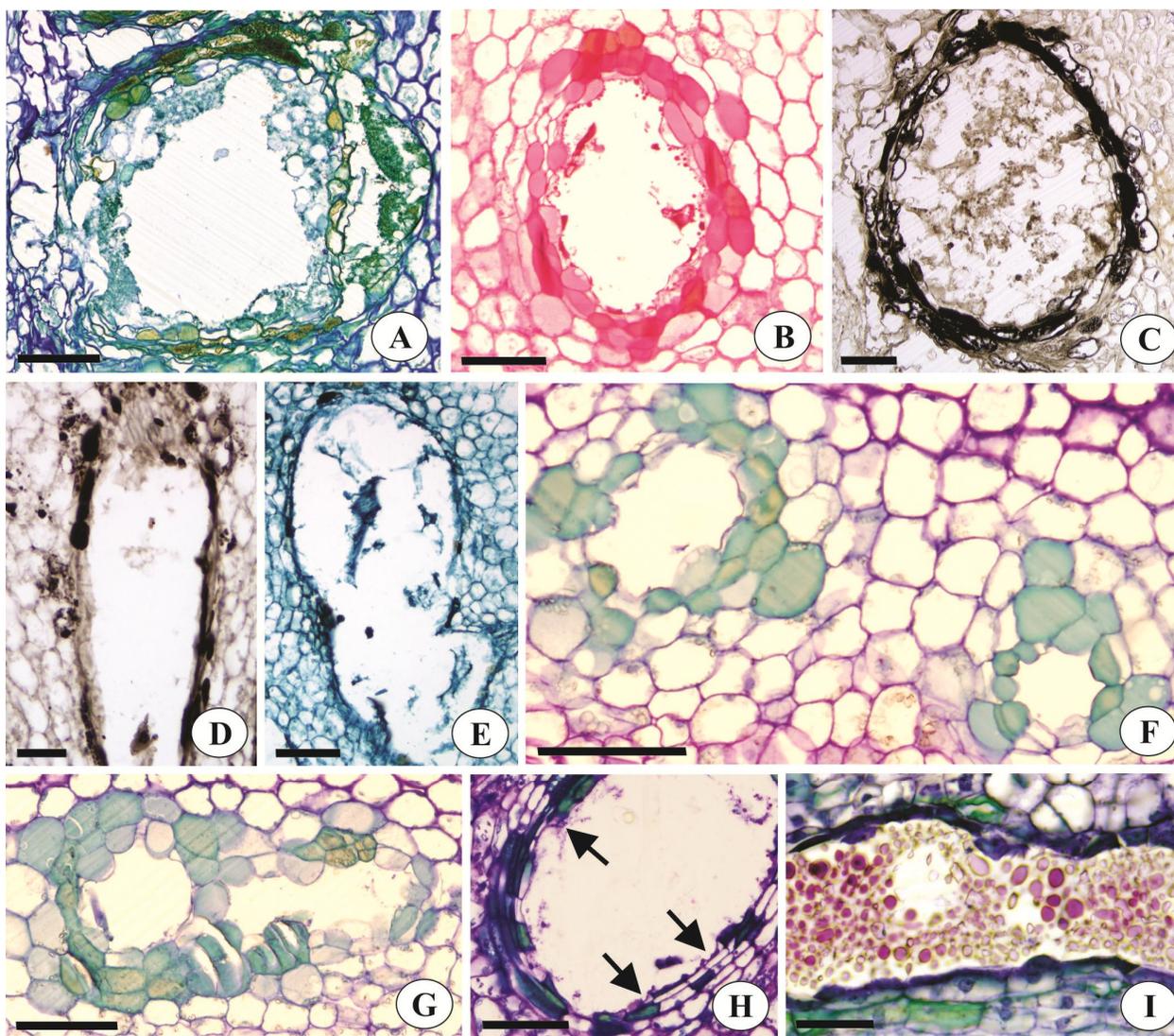


Figura 8. Secções transversais (A-H) e longitudinais (I) dos canais secretores do ovário e dos frutos de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Reação positiva para Azul do Nilo. **B.** Reação positiva para PAS. **C.** Reação positiva para Cloreto Férrico. **D.** Reação positiva para Negro de Sudao. **E.** Reação positiva para Azul-Preto de Anilina. **F.** Canais secretores separados por células parenquimáticas. **G.** Fusão parcial dos canais secretores. **H.** Epitélio degenerando-se (setas) com lançamento dos restos celulares e secreção no lume do canal. **I.** Canal secretor em secção longitudinal. Barras: 20 μm (D, I); 40 μm (H), 50 μm (A-C, E-G).

Na região interna (mesocarpo interno) aparecem camadas de células que apresentam conteúdo polissacarídico (Fig. 9B), lipídico (Fig. 9C) e fenólico (Fig. 9D). Essa região apresenta divisões em vários planos (Fig. 6A). O endocarpo é constituído por duas camadas de células, de parede delgada e núcleo proeminente (Fig. 9A).

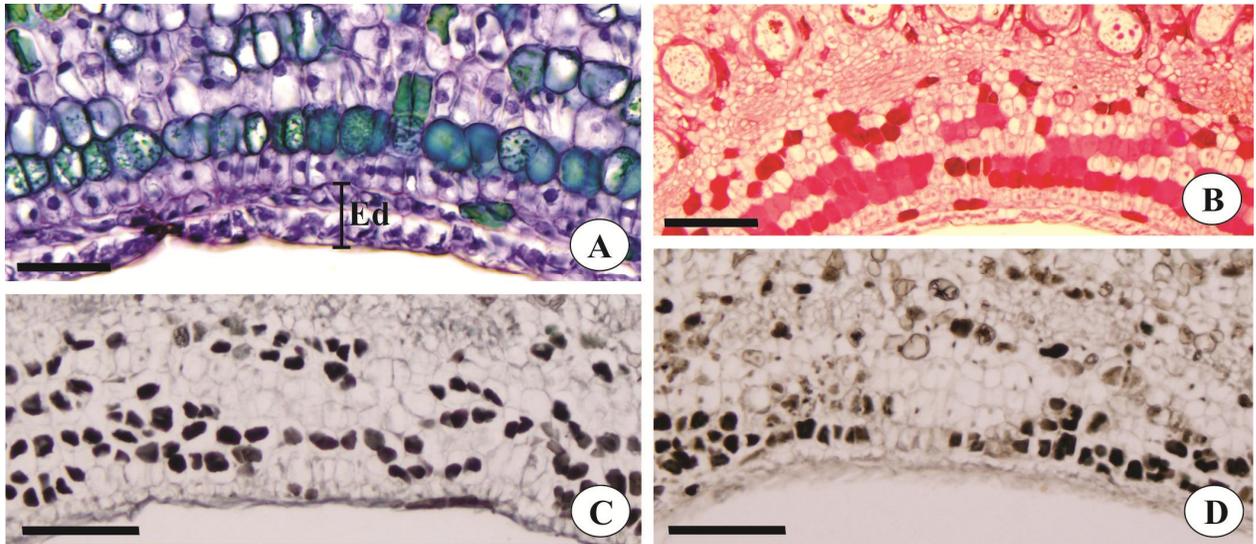


Figura 9. Mesocarpo interno e endocarpo de *Tapirira guianensis* Aubl. em seções transversais. **A.** Mesocarpo interno contendo idioblastos secretores enfileirados e endocarpo (Ed). **B.** Reação positiva PAS. **C.** Reação positiva Negro de Sudão. **D.** Reação positiva Cloreto Férrico. Barras: 20 µm (A), 50 µm (B-D).

Estádio III – Nesta fase, no epicarpo, as células apresentam cutícula espessa e perda dos tricomas (Fig. 10 e 11A). Os testes histoquímicos revelam as mesmas substâncias encontradas anteriormente (Tabela 3). As células do mesocarpo externo apresentam espessamento péctico-celulósico tornando-se colenquimáticas, sendo as mais espessas próximas ao epicarpo diminuindo este espessamento à medida que se aproximam do mesocarpo mediano (Fig. 10 e 11A).

No mesocarpo mediano, região onde se concentram os canais secretores, é possível observar aumento no número de camadas de células parenquimáticas que separam os canais secretores dos feixes vasculares, agora bem desenvolvidos (Fig. 10 e 11B). No mesocarpo interno, desta fase, surgem as diferenças mais marcantes. Espaços intercelulares se tornam bastante conspícuos entre as células parenquimáticas, formando um aerênquima discreto (Fig. 10 e 11C). Nas 3-4 últimas camadas a grande maioria das células do mesocarpo interno se diferencia formando esclereídes alongadas, nos sentidos longitudinal, transversal e oblíquo (Fig. 11C). As células que não lignificam permanecem parenquimáticas sem mudanças no formato e muitas delas contêm cristais do tipo drusa e prismáticos (Fig. 11C-D). No endocarpo, bisseriado, a camada mais externa se diferencia em esclereíde alongada e a última camada, em contato com o lóculo, permanece parenquimática (Fig. 11C).

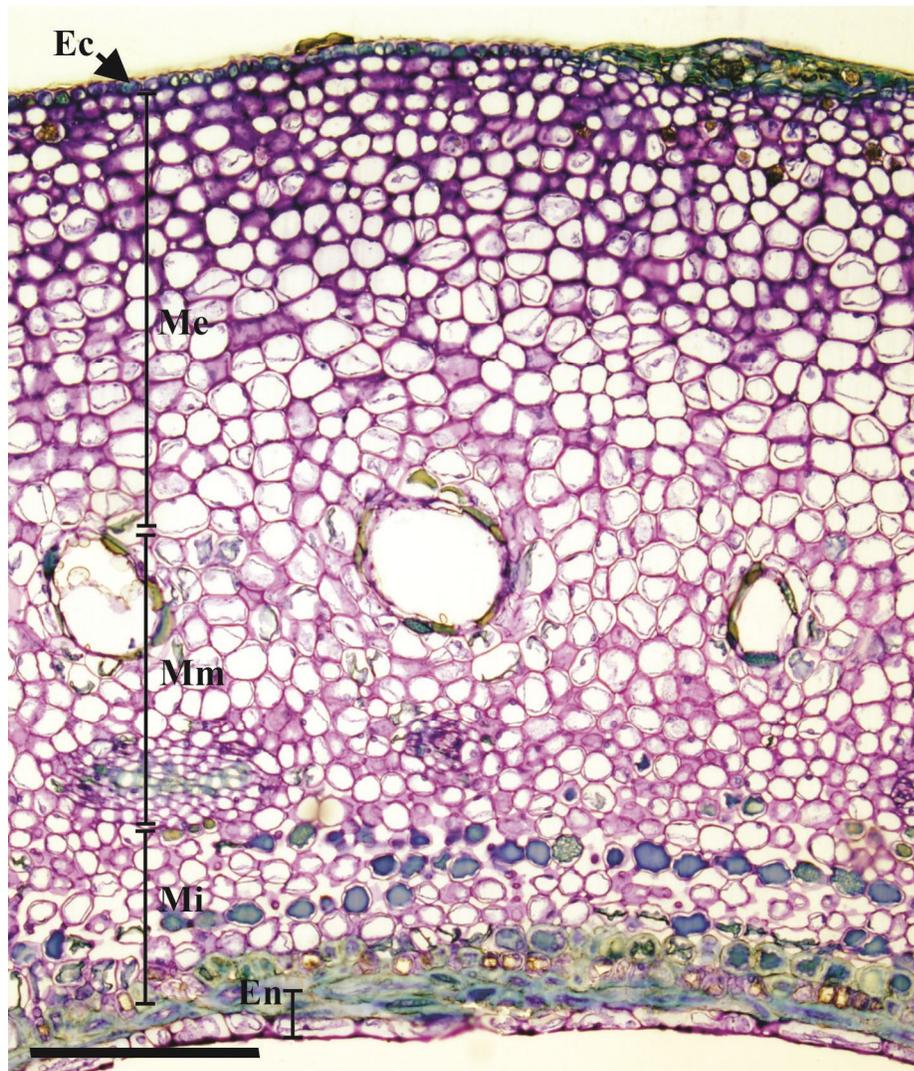


Figura 10. Aspecto geral do fruto (Estádio III) de *Tapirira guianensis* Aubl. em corte transversal. (Ec = epicarpo; Me = mesocarpo externo; Mm = mesocarpo mediano; Mi = mesocarpo interno; En = endocarpo). Barra: 100 μ m.

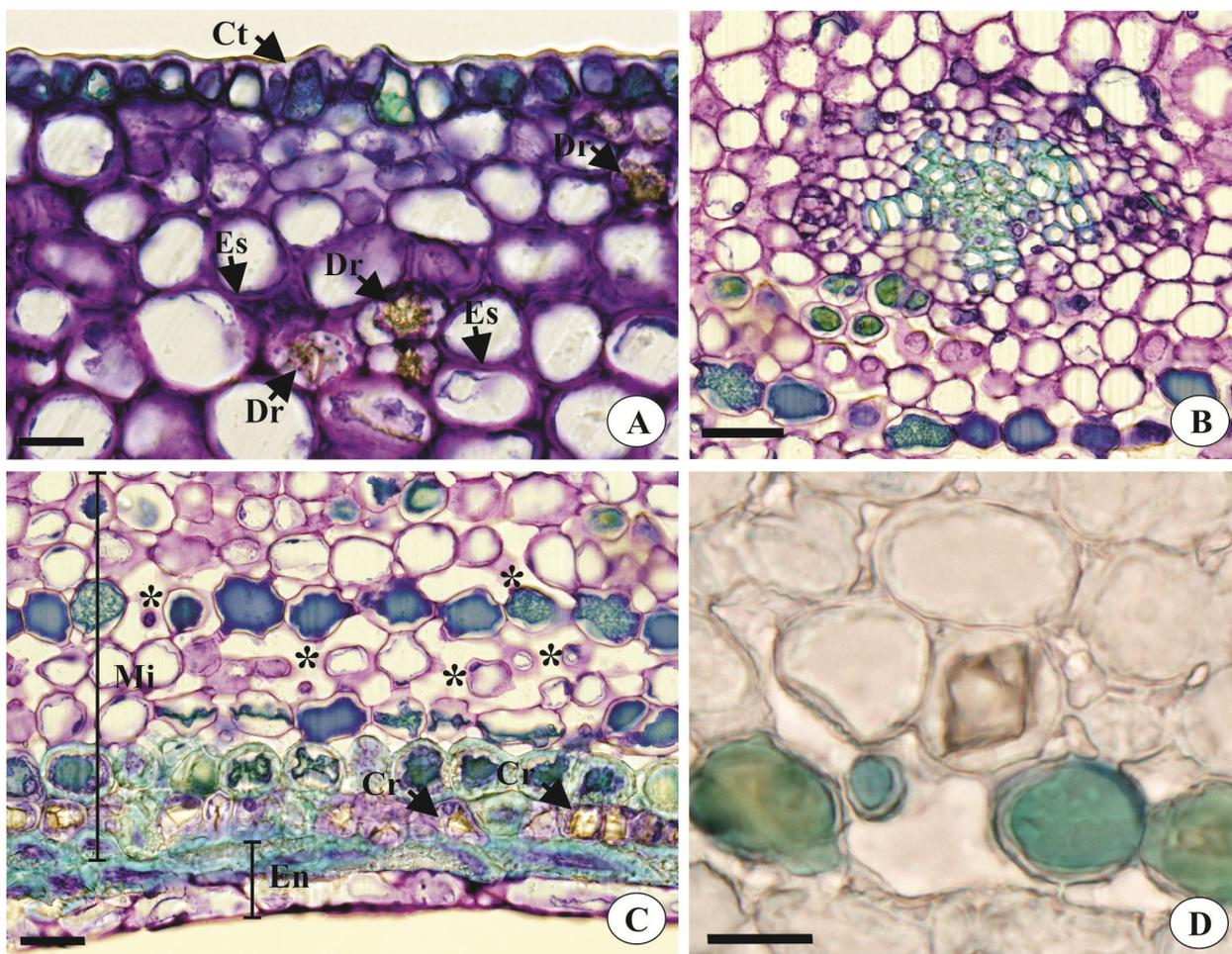


Figura 11. Aspectos do pericarpo de *Tapirira guianensis* Aubl. (Estádio III) em secções transversais. **A.** Detalhe do epicarpo e do mesocarpo externo (Ct = cutícula; Dr = drusas; Es = Espessamento péctico celulósico da parede celular). **B.** Feixe vascular completamente desenvolvido. **C.** Detalhe do endocarpo e do mesocarpo interno (Mi = mesocarpo interno; En = endocarpo; Cr = cristais; *: espaços intercelulares formando aerênquima discreto). **D.** Cristal em célula do mesocarpo interno. Barras: 10 μm (A, D), 20 μm (B-C).

Estádio IV – O aspecto geral do pericarpo nessa fase encontra-se representado na Figura 12. A alteração mais evidente no epicarpo do fruto maduro é o aparecimento de lenticelas (Fig. 13A). No mesocarpo mediano as camadas de células parenquimáticas formadas entre os canais secretores e os feixes vasculares se dividem e iniciam o alongamento em várias direções (Fig. 12 e 13B). No mesocarpo interno algumas das células que acumulavam compostos fenólicos passam a apresentar parede esclerificada (Fig. 13C). No endocarpo, a camada em contato com o lóculo

agora também se lignifica formando esclereídes (Fig. 13D). No mesocarpo externo as células acumulam amido (Fig. 13E), bem como, as células do mesocarpo mediano (Fig 13F).

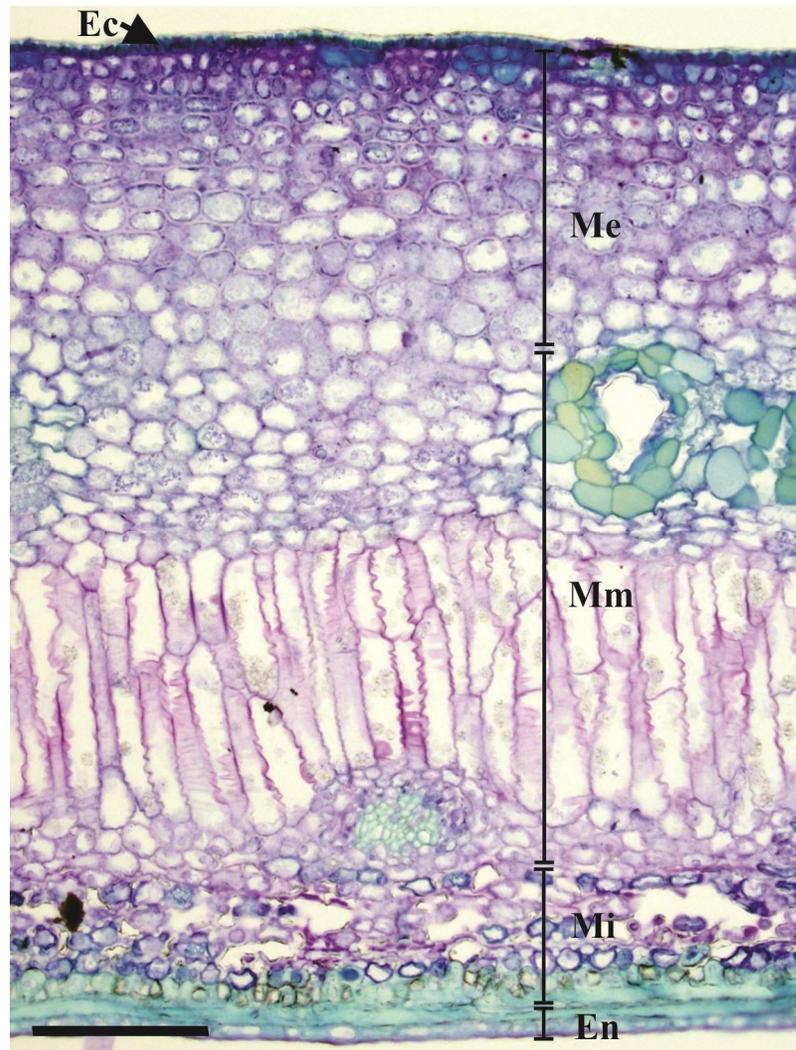


Figura 12. Aspecto geral do fruto (Estádio IV) de *Tapirira guianensis* Aubl. em corte transversal. (Ec = epicarpo; Me = mesocarpo externo; Mm = mesocarpo mediano; Mi = mesocarpo interno, Em = endocarpo). Barra: 100 μ m.

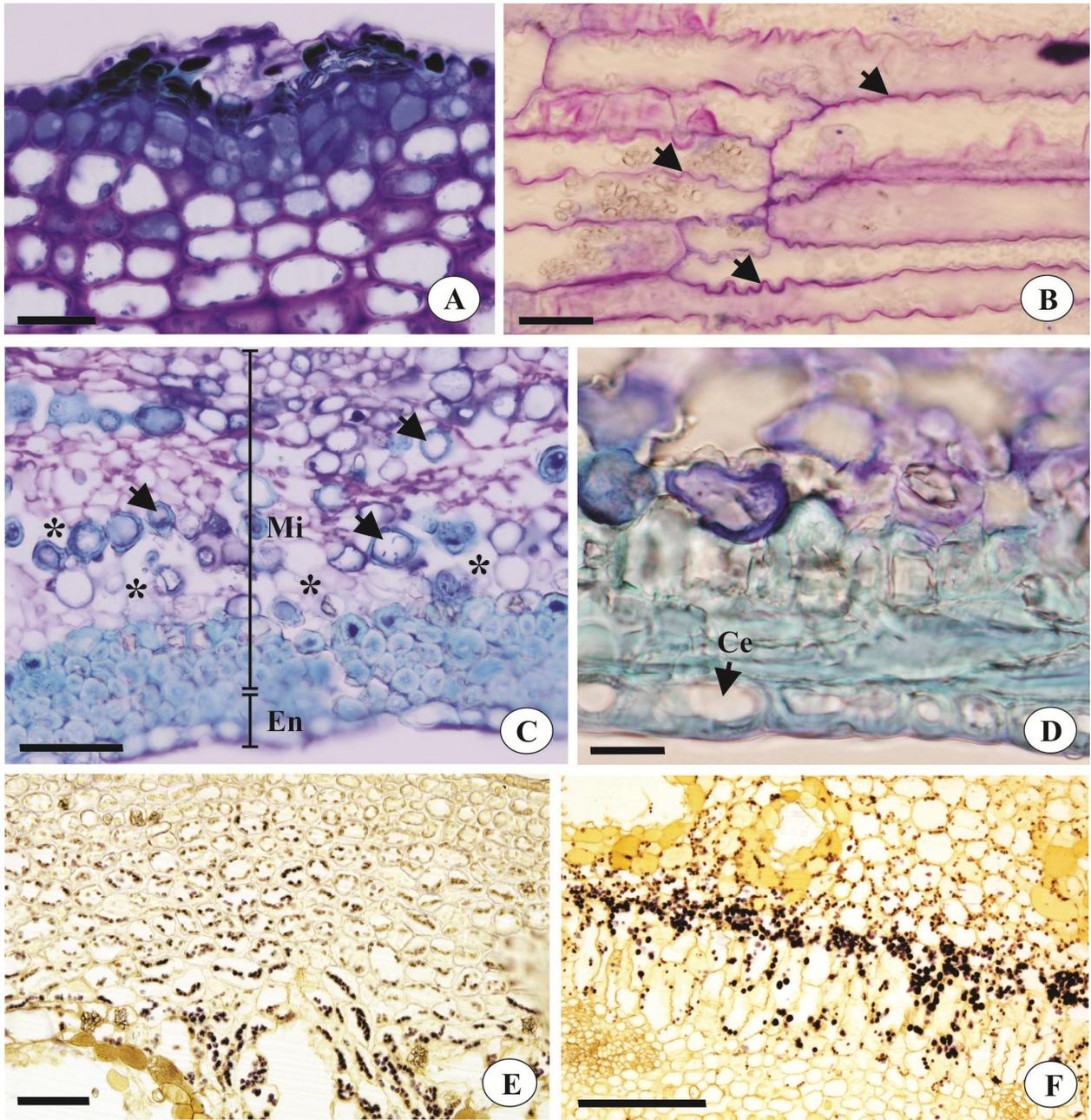


Figura 13. Aspectos gerais do pericarpo de *Tapirira guianensis* Aubl. (Estádio IV) em secções transversais. **A.** Detalhe do epicarpo mostrando a lenticela e células colenquimatosas do mesocarpo externo. **B.** Células alongadas do mesocarpo mediano (setas: parede celular sinuosa). **C.** Detalhe do endocarpo (en) e do mesocarpo interno (mi) (setas = formação de esclerides, *: espaços intercelulares). **D.** Detalhe do encocarpo com destaque para a última camada em contato com o lóculo em estágio de lignificação (Ce = célula esclerificada). **E.** Reação positiva para Lugol no mesocarpo externo. **F.** Reações positivas para Lugol no mesocarpo mediano. Barras: 10 μm (D), 20 μm (A-B), 50 μm (C e E), 100 μm (F).

Os testes histoquímicos mostraram algumas diferenças entre as fases de desenvolvimento, sendo apresentados resumidamente na tabela 3.

Tabela 3. Testes histoquímicos no ovário e nos frutos, em várias fases de desenvolvimento, de *Tapirira guianensis* Aubl.:

Testes histoquímicos	Estádio I	Estádio II	Estádio III	Estádio IV
Negro de Sudão B	ee, cut, id, ba (++)	ep, cut, id, ba (++)	ep, cut, id, ba (++)	ep, cut, id, ba (++)
Sulfato Azul do Nilo	id, ba (++)	id, ba (++)	id, ba (++)	id, ba (++)
Cloreto de Ferro III	ee, id, ba (++)	ep, id, ba (++)	ep, id, ba (++)	ep, id, ba (++)
Lugol	(-)	(-)	(-)	me, mm (++)
Reagente de Wagner	(-)	(-)	(-)	(-)
Reagente de Schiff	ee, id, pc, ba (++)	ep, id, pc, ba (++)	ep, id, pc, ba (++)	ep, id, pc, ba (++)
Vermelho de Rutênio	pc (++)	pc (++)	pc (++)	pc (++)
Ácido Tânico/ Cloreto de Ferro III	pc (++)	pc (++)	pc (++)	pc (++)

(++ fortemente positivo, + fracamente positivo, - ausente) Destaque em cinza para os testes que apresentaram mudanças entre as diferentes fases analisadas. (ee: epiderme externa; ep: epicarpo; cut: cutícula; ba: bainha dos canais secretores; id: idioblastos; me: mesocarpo externo; mm: mesocarpo mediano; pc: parede celular).

Aspectos ultraestruturais do endocarpo jovem

O endocarpo do fruto jovem apresenta células alongadas horizontalmente, por vezes colapsadas (Fig. 14A). A visualização das organelas é difícil, pois o citoplasma está quase que completamente preenchido por uma substância elétron-densa (Fig. 14A). Em alguns pontos há presença de material fibrilar no interior do vacúolo (Fig. 14A). Gotículas elétron opacas também são visualizadas esparsamente pelo citoplasma, sempre localizadas próximas à membrana plasmática (Fig. 14A). Algumas vesículas são vistas junto à membrana plasmática na primeira camada de células, voltadas para o lóculo (Fig. 14B).

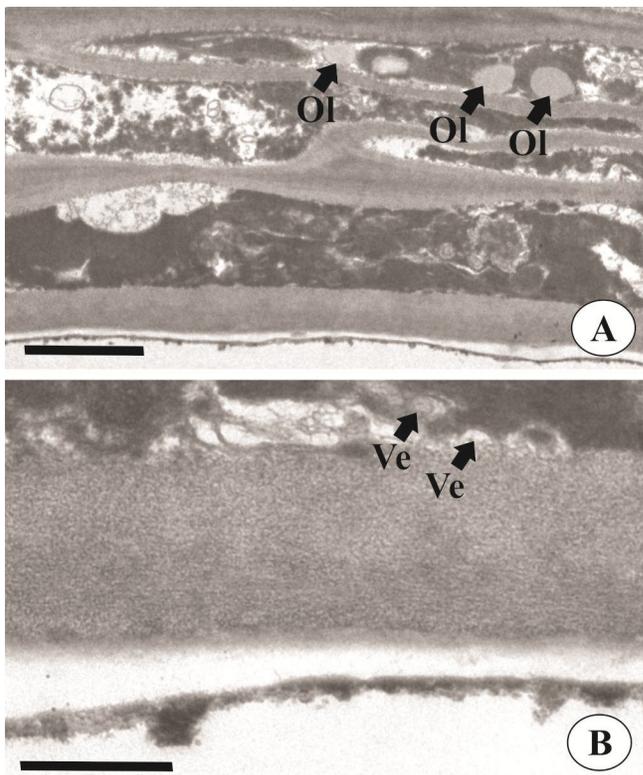


Figura 14. Aspectos ultra-estruturais do endocarpo do fruto jovem de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Células contendo substância elétrondensa no vacúolo, alguns com material fibrilar em seu interior. **B.** Vesículas junto à membrana plasmática (Ol = gotas de óleo; Ve = vesículas). Barras: 2 µm (A-D).

Ontogenia e histoquímica da semente

Baseando-se nas alterações anatômicas que ocorrem durante o desenvolvimento da semente, os resultados obtidos foram agrupados em três estádios: estágio I – representado pelo óvulo; estágio II – semente muito jovem, ainda em desenvolvimento; estágio III – semente completamente desenvolvida (Fig. 16). O tegumento da semente foi dividido em duas regiões: testa e tégmen.



Figura 16. Óvulo e sementes de *Tapirira guianensis* Aubl. Estádio I – Óvulo (aprox. 3 mm), estágio II – semente em desenvolvimento (3-4 mm), estágio III – semente completamente desenvolvida (5-7 mm). Barra: 1mm.

Estádio I – Na espécie estudada, o ovário é unilocular e uniovulado, a placentação é ereta com óvulo pêndulo (Fig. 17 A). O óvulo é anátropo, bitegmentado e crassinucelado (Fig. 17 B). O tegumento externo é formado por três a cinco camadas celulares na região calazal e duas camadas próximas à micrópila (Fig. 17 B-D); a epiderme externa acumula substâncias fenólicas, exceto junto à micrópila (Fig. 17 B-D).

O tegumento interno tem duas camadas celulares, podendo ter de três a quatro camadas na região micropilar, a epiderme interna acumula substâncias fenólicas (Fig. 17C), exceto na região micropilar (Fig. 17 D). A região micropilar é formada pelo exóstoma e pelo endóstoma, sendo a primeira mais longa provocando o desencontro das duas regiões, formando o que se denomina de “micrópila em zigue-zague” (Fig. 17 D). O nucelo é bem desenvolvido, com paredes delgadas e células contendo núcleo evidente (Fig. 17 C). A calaza é extensa e com ampla vascularização, nessa região ocorre grande acúmulo de substâncias fenólicas, constituindo uma hipóstase conspícua (Fig. 17 B). O funículo é longo, formado por células parenquimáticas contendo idioblastos fenólicos dispersos (Fig. 17 A).

Estádio II – Durante o desenvolvimento da semente ocorrem poucas modificações. Como no óvulo, a semente é anátropa (Fig 18 A). As células que formavam o tegumento externo passaram por divisões em vários planos, dando origem à testa que está claramente subdividida em três regiões: exotesta (camada mais externa que acumula substâncias fenólicas), mesotesta (camada mediana multiestratificada formada por células parenquimáticas separadas por amplos espaços intercelulares) e endotesta (uma única camada de células epidérmicas situada na porção interna subjacente ao tégmen) (Fig 18 C).

As células que formavam o tegumento interno do óvulo não passaram por divisões periclinais, ocorrendo somente divisões anticlinais; estas células dão origem ao tégmen (Fig. 18 C). As camadas celulares que formam o tégmen geralmente estão colapsadas, não sendo possível distinguir entre exotégmen, mesotégmen e endotégmen. A calaza se expande juntamente com a hipóstase iniciando a formação da paquicalaza (Fig. 18 A). Nota-se que há um crescimento maior na região oposta à formação da paquicalaza - região da anti-rafe, originando uma semente reniforme (Fig. 18 A). Observa-se o início do desenvolvimento do embrião (Fig. 18 A), e início da degeneração das células do nucelo (Fig. 18 B).

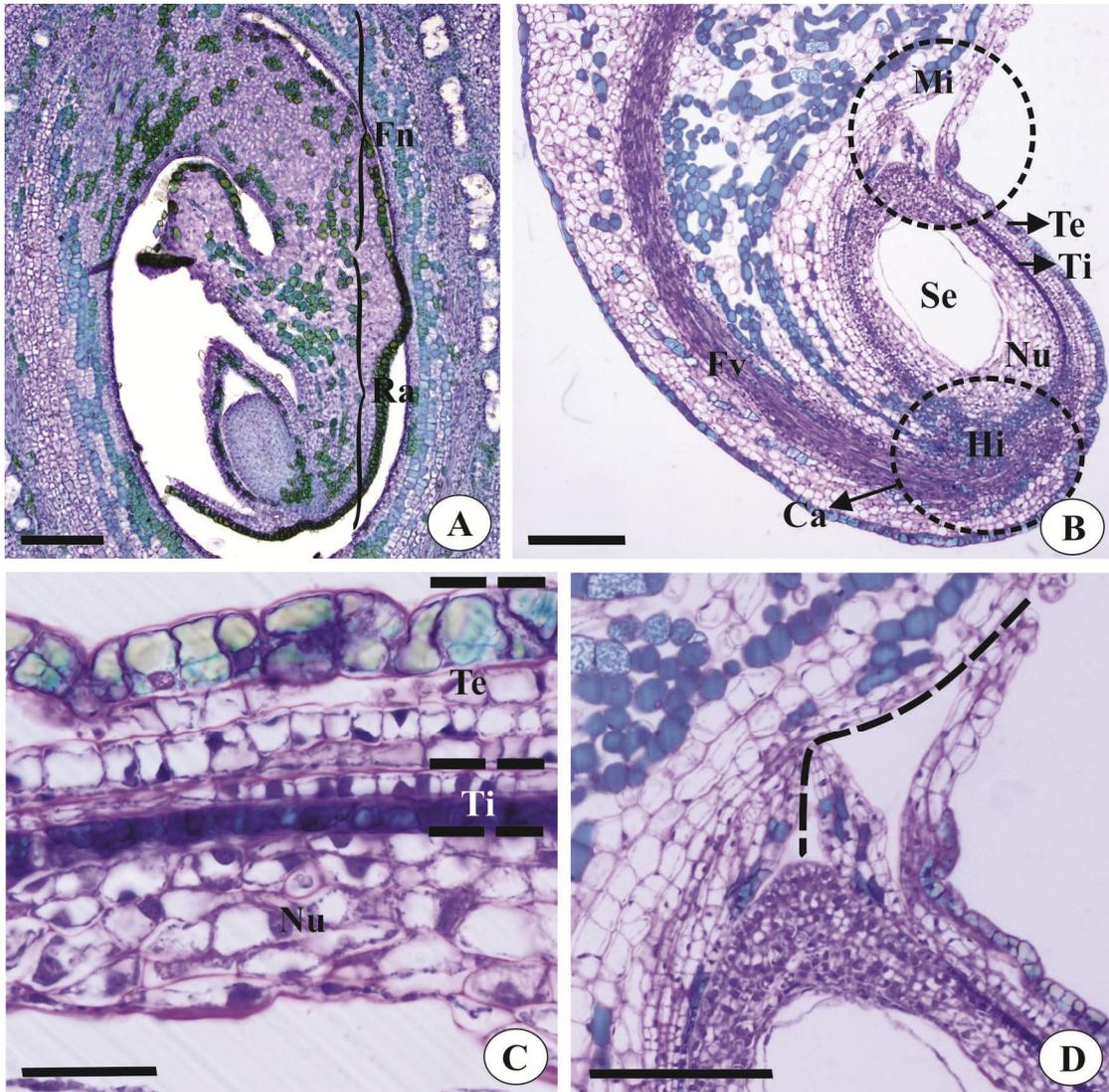


Figura 17. Aspectos gerais do óvulo de *Tapirira guianensis* Aubl. em seções longitudinais. **A.** Ovário com placentação ereta e óvulo pêndulo, anátropo (Fu = funículo; Ra = rafe). **B.** Detalhe do óvulo bitegumentado e crassinucelado, mostrando as principais regiões (Mi = micrópila; Te = tegumento externo; Ti = tegumento interno; Se = saco embrionário; Nu = nucelo; Fv = feixe vascular; Hi = hipóstase; Ca = calaza). **C.** Detalhe do tegumento externo (Te) e tegumento interno (Ti), seguido de nucelo (Nu) contendo células de núcleo evidente. **D.** Destaque da micrópila em zigue-zague (linha tracejada). Barras: 100 µm (A, B e D), 200 µm (C).

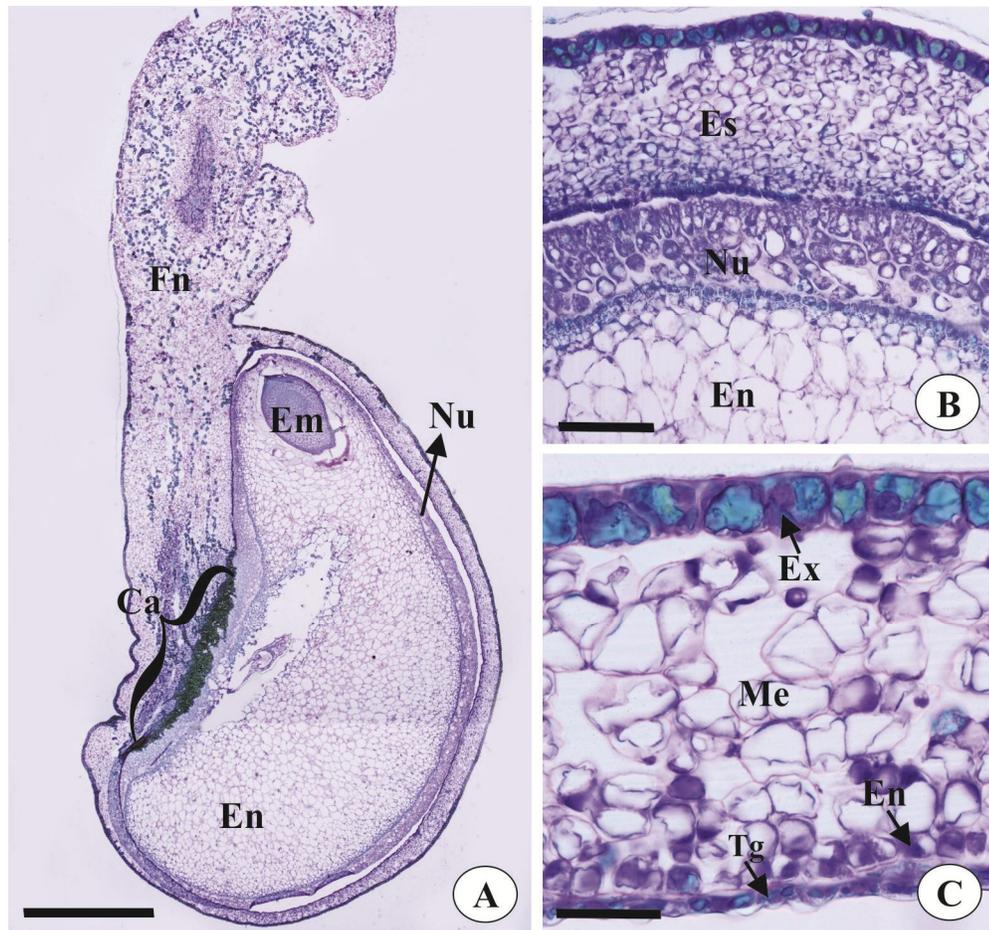


Figura 18. Aspectos gerais da semente em desenvolvimento de *Tapirira guianensis* Aubl. em secções longitudinais. **A.** Semente reniforme com funículo alongado, destaque para o início da formação da paquicalaza na região calazal (Ca). (Em = embrião; Nu = nucelo; En = endosperma). **B.** Detalhe do envoltório da semente (Es) seguido de nucelo (Nu) e endosperma (en). **C.** Detalhe dos tegumentos da semente. (Ex = exotesta; Me = mesotesta; En = endotesta; Tg = tégmen). Barras: 20 μm (C), 50 μm (B), 500 μm (A).

Estádio III – A semente completamente desenvolvida é mais alongada que na fase anterior, perdendo o formato reniforme (Fig. 16). O funículo permanece aderido ao envoltório da semente, sendo considerado vestígio de um arilo funicular (Fig. 16). Na testa as únicas mudanças que ocorrem são o aparecimento de cristais e esclereídes na mesotesta (Fig. 19A); há grande colapso das células da mesotesta tornando os espaços intercelulares mais conspícuos (Fig. 19B). O número de camadas da mesotesta é bastante variável (Fig. 19 A-B). Não há mudanças significativas no tégmen (Fig. 19 A-B). A porção paquicalazal já está bem desenvolvida, no entanto apenas na região da rafe-calaza, o que permite classificar esta semente como parcialmente paquicalazal (Fig. 19D). A semente é exalbuminosa e o nucelo é intensamente consumido, podendo permanecer alguns restos de células nucelares (Fig. 19C). O embrião ocupa toda a cavidade seminal e nessa fase já é possível observar uma grande quantidade de canais secretores sendo formados no meristema fundamental (Fig. 19D).

Os testes histoquímicos não passaram por nenhuma variação nos resultados ao longo das diferentes fases. O funículo reagiu positivamente para o Cloreto Férrico e Negro de Sudão B, evidenciando a presença de substâncias fenólicas e lipídios, respectivamente (Fig. 20 A-B). A exotesta e o tégmen e hipóstase mostraram resultados semelhantes (Fig. 20 C-E). Os cotilédones possuem reservas de amido, evidenciado através do teste com Lugol, e de proteínas, revelado através do teste com Azul-Preto de Anilina (Fig. 20 F-H).

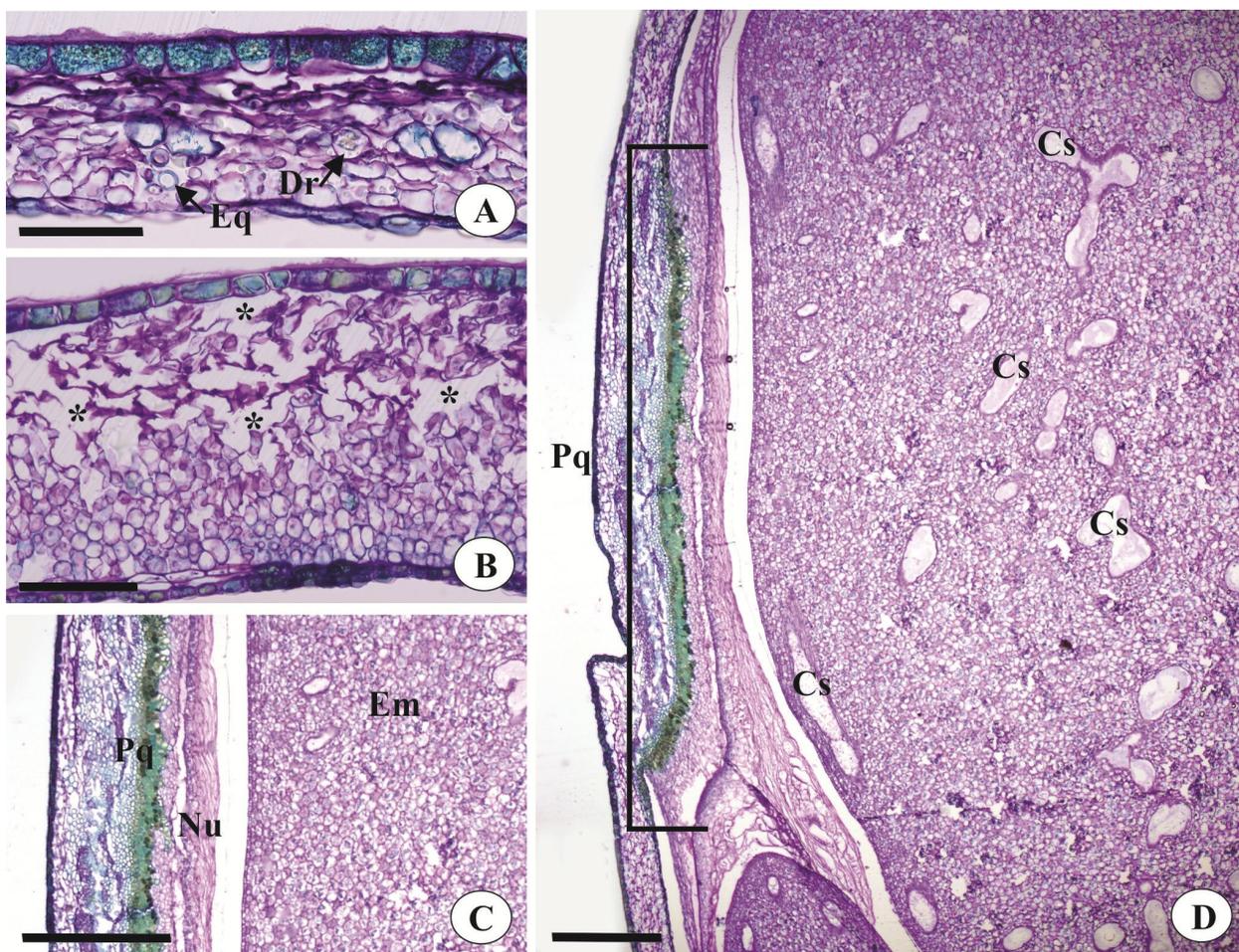


Figura 19. Aspectos gerais da semente completamente desenvolvida de *Tapirira guianensis* Aubl. em secções longitudinais. **A.** Envoltório da semente contendo drusas (Dr) e esclereides (Eq) na região da mesotesta. **B.** Envoltório da semente com destaque para os espaços intercelulares conspícuos formados a partir do colapso celular na mesotesta (*). **C.** Restos nucelares (Nu) localizados entre a região da paucalaza (Pq) e o embrião (Em). **D.** Paucalaza completamente desenvolvida (Pq) na porção rafe-calaza e embrião contendo inúmeros canais secretores (Cs) com secreção evidente. Barras: 40 μ m (A), 100 μ m (B-D).

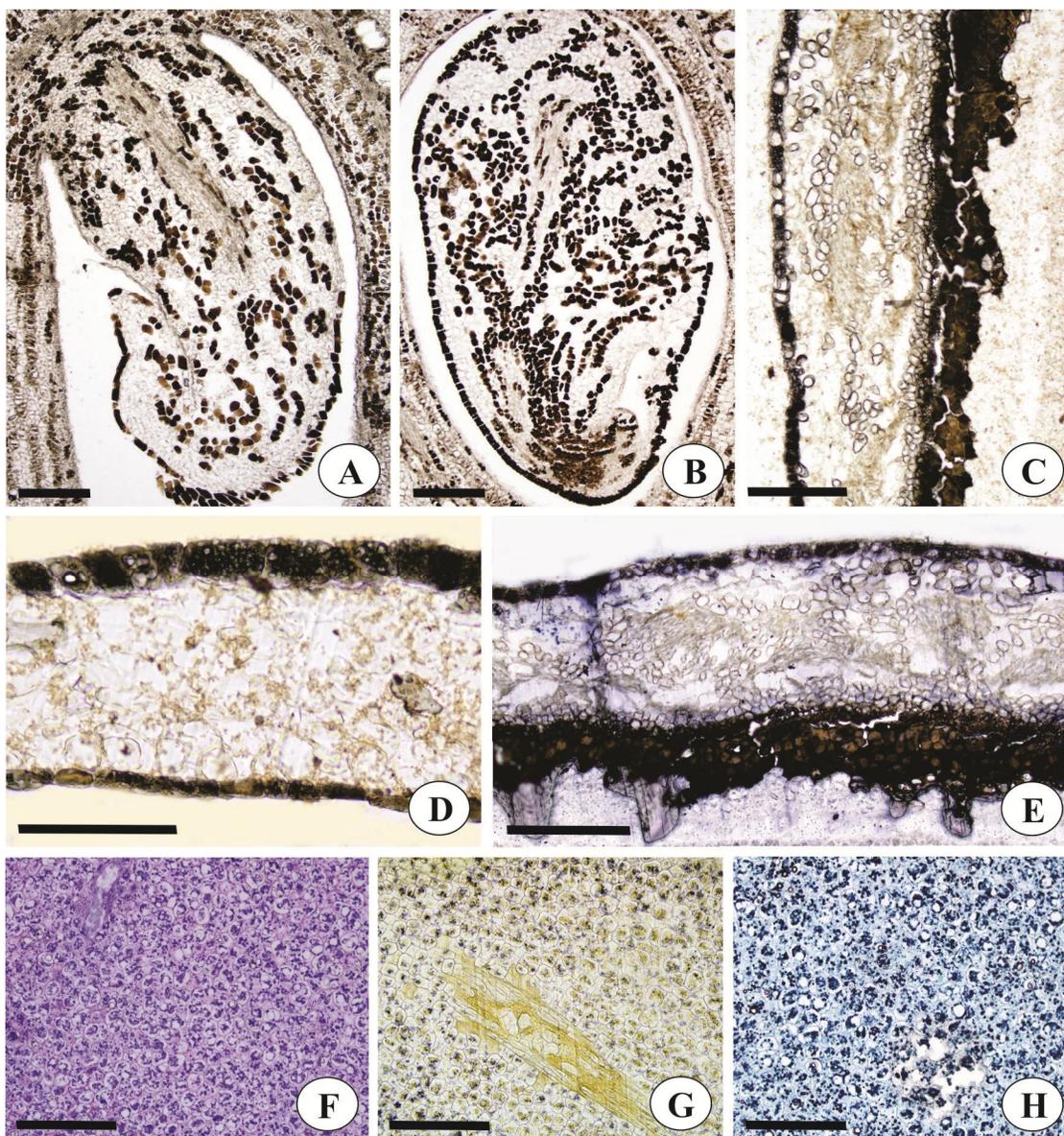


Figura 20. Testes histoquímicos em seções longitudinais da semente de *Tapirira guianensis* Aubl. **A.** Reação positiva para Cloreto Férrico no funículo. **B.** Reação positiva para Negro de Sudão no funículo. **C.** Testa e hipóstase reagindo positivamente para o Cloreto Férrico. **D.** Testa e tégmen reagindo positivamente para o Cloreto Férrico. **E.** Testa e hipóstase reagindo positivamente para o Negro de Sudão. **F.** Embrião corado com Azul de Toluidina. **G.** Embrião corado com Lugol, evidenciando a presença de amido. **H.** Cotilédone corado com Azul-Preto de Anilina, evidenciando a presença de proteínas. Barras: 50 μm (D), 100 μm (A-C e E), 200 μm (F-H).

Discussão

Barroso *et al.* (2007) e Barroso *et al.* (1999) enquadram morfologicamente o fruto de espécies de Anacardiaceae como nucóides ou drupóides, apesar de existirem algumas divergências na estrutura interna dos frutos do gênero *Astronium* Jacq., sendo mais adequadamente classificados como bagas. Além disso, pode-se observar a existência de frutos do tipo sâmara, como na espécie *Schinopsis balansae* Engl. (González & Vesprini 2010) e *Smodingium argutum* E. Mey. ex Sond. (Von-Teichman 1998). A nomenclatura dos diferentes tipos de frutos gera confusão na hora da classificação morfológica dos mesmos, variando conforme cada autor, assim, neste trabalho adotou-se a terminologia proposta por Spjut (1994), que reconhece para Anacardiaceae os tipos cipsela, drupa, pseudosâmara e sâmara. Segundo o mesmo, autor a drupa é um fruto que apresenta pericarpo carnoso com um ou mais pirênios, sendo o pirênio uma “concha” que abrange uma ou mais sementes, assim como observado nos frutos de *Tapirira guianensis*, originando-se de uma única flor com gineceu sincárpico (Wannan & Quinn 1990, Barroso *et al.* 2007, Souza & Lorenzi 2008, Gonzalez & Vesprini 2010).

Segundo Roth (1977) ainda há muitos conflitos na classificação dos frutos, sendo necessário o estudo ontogenético para correta classificação dos mesmos. Ainda segundo a mesma autora o epicarpo ou endocarpo pode ser formado por uma única camada derivados respectivamente da epiderme externa e interna ovariana, sendo neste caso, denominados de epicarpo e endocarpo *sensu stricto*. Quando o epicarpo ou endocarpo também incluem camadas derivadas do mesocarpo são denominados de epicarpo e endocarpo *sensu lato*.

O presente estudo ontogenético confirma que o epicarpo do fruto completamente desenvolvido é formado pela camada externa derivada da epiderme externa ovariana, o epicarpo propriamente dito, e por várias camadas de células colenquimatosas formadas a partir do mesocarpo externo, sendo denominado de epicarpo *sensu lato*. Nesse caso o mesocarpo externo foi considerado como parte do epicarpo pelo seu aspecto funcional, pois segundo Roth (1977) o epicarpo é camada protetora do fruto, nas drupas pode ocorrer uma hipoderme colenquimatosa, com células de paredes espessas e alongadas tangencialmente, assim como acontece em *T. guianensis*. Há um contraste acentuado quando se compara as características do epicarpo dos representantes da tribo Spondiadeae, a qual pertence *T. guianensis*, com espécies da tribo Rhoaeae, como *Lithraea brasiliensis* Marchand (Piennar & Von-Teichman 1998), *Schinus terebinthifolius*

Raddi (Carmello-Guerreiro & Paoli 2002) e *L. molleoides* Engl. (Carmello-Guerreiro & Paoli 2005) em que o epicarpo é esclerificado.

Segundo a organização do endocarpo, Wannan e Quinn (1990) propuseram uma classificação em dois tipos de pericarpo para a família Anacardiaceae: o tipo *Spondias*, com endocarpo composto por uma massa de esclerênquima de orientação irregular e o tipo *Anacardium* caracterizado por apresentar o endocarpo composto por camadas com uma epiderme externa lignificada, com parênquima arranjado em estratos, incluindo esclereides em paliçada. As características do fruto de *T. guianensis* estão de acordo com o tipo *Spondias*; Von-Teichman (1990) estudou a estrutura do fruto maduro de *T. guianensis* e verificou que o endocarpo não é massivo, e sim relativamente fino se comparado com outras espécies da mesma tribo, como em *Lanea discolor* Engl. (Von-Teichman 1987), aspecto confirmado neste trabalho. Além disso, outras diferenças em relação às espécies da mesma tribo são citadas pelo autor, como reserva de amido, contrastando com as reservas de proteína normalmente encontradas e ausência de opérculo. O endocarpo de *T. guianensis* é considerado *sensu lato*, uma vez que o fruto completamente desenvolvido inclui as camadas esclerificadas derivadas do mesocarpo interno.

Nas espécies da tribo Spondiadeae estudadas por Wannan e Quinn (1990), foram elencadas características comuns ao grupo como epicarpo não lignificado, mesocarpo contendo feixes vasculares associados com canais secretores, com mesocarpo consistindo de uma mistura de esclerênquima e parênquima, com exceção dos gêneros *Dracontomelon* Blume que não possui esclerênquima e *Spondias* L. em que o esclerênquima está restrito à região dos canais secretores. Segundo os autores o endocarpo é esclerificado, com esclereides de orientação irregular, como também foi observado na espécie estudada neste trabalho, e pode conter alguns cristais.

Em *T. guianensis* a maioria desses caracteres foram observados, no entanto o mesocarpo não contém esclerênquima, a exemplo do gênero *Dracontomelon*, sendo que a única região esclerificada em *T. guianensis* é o endocarpo com poucos esclereídes dispersos na região interna do mesocarpo. Wannan e Quinn (1990) avaliaram 10 gêneros de um total de 17 da tribo Spondiadeae e afirmaram que os frutos dessa tribo são bastante diversos e poucas características anatômicas do pericarpo revelam alguma afinidade entre os gêneros.

No pericarpo encontram-se canais secretores amplamente distribuídos na região mediana do mesocarpo. Na família Anacardiaceae diversos trabalhos citam a presença de canais

resiníferos em frutos, sempre associados aos feixes vasculares e localizados na região mediana do mesocarpo (Joel & Fahn 1980, Von-Teichman 1987, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, Piennar & Von-Teichman 1998, Von-Teichman 1998, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, Machado & Carmello-Guerreiro 2001, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005, Lacchia & Carmello-Guerreiro 2009, González & Vesprini 2010). Esta é uma característica constante para as espécies da família, independentemente da tribo a qual pertencem.

Lacchia & Carmello-Guerreiro (2009) estudaram detalhadamente a formação desses canais no fruto de *T. guianensis*, bem como, o modo de secreção dos mesmos, através de microscopia eletrônica de transmissão. As autoras concluíram que a formação dos canais se dá pelo processo esquizógeno e o modo de liberação da secreção é écrino. Esses canais possuem uma secreção de natureza mista, sendo encontrados lipídios, polissacarídeos, proteínas e substâncias fenólicas.

Essa heterogeneidade das substâncias produzidas nos canais do pericarpo de *T. guianensis* também é relatada nos trabalhos de Joel e Fahn (1980), que estudaram a secreção produzida nos canais de *Mangifera indica* L., bem como no trabalho de Lacchia e Carmello-Guerreiro (2009), que estudaram os canais secretores de *T. guianensis*, *Spondias dulcis* G. Forst. e *Anacardium humile* A. St. Hil. Esses autores denominaram a substância produzida nos canais de resina, sendo uma substância comum para a família, tanto em órgãos vegetativos quanto reprodutivos (Metcalf & Chalk 1950). Langenheim (2003) define resina vegetal como uma mistura lipossolúvel de terpenóides voláteis e não voláteis ou compostos fenólicos que são geralmente secretados em estruturas especializadas localizadas internamente ou na superfície da planta. No entanto, como também foram detectadas substâncias de natureza hidrofílica, optou-se por denominar esta secreção de goma-resina, que é uma mistura natural entre os componentes lipofílicos das resinas acompanhados de certas quantidades de polissacarídeos e mucilagens (Langenheim 2003, Lacchia 2006).

A bainha dos canais parece ser a responsável na manutenção do epitélio secretor, uma vez que elas armazenam as mesmas substâncias detectadas no epitélio e no lume dos canais, além disso, é possível verificar a ruptura das células epiteliais e conseqüentemente o extravasamento da secreção para o interior do lume dos canais juntamente com os restos celulares, com reposição

contínua do epitélio pela atividade meristemática da bainha, o que caracteriza o modo de secreção holócrina. A ocorrência de uma bainha parenquimática que circunda estas glândulas produzindo novas células epiteliais é relatada em diversos trabalhos (Monteiro *et al.* 1995, Monteiro *et al.* 1999, Machado & Carmello-Guerreiro 2001, Bennici & Tani 2004, Rodrigues *et al.* 2011a, Rodrigues *et al.* 2011b).

A grande quantidade de substâncias fenólicas encontrada no fruto de *T. guianensis*, armazenadas nos canais, no epicarpo e nos idioblastos do mesocarpo interno, também é encontrada em outras espécies da família sob a denominação de substâncias taníferas (Von-Teichman 1987, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, Piennar & Von-Teichman 1998, González & Vesprini 2010). As substâncias fenólicas em geral constituem-se em um grande grupo de metabólitos secundários que contém o grupo fenol (uma ou mais hidroxilas) ligado a um ou mais anéis aromáticos e podem ter várias denominações que variam de acordo com o arranjo da cadeia carbônica: fenóis simples, taninos, taninos condensados, flavonóides, biflavonóides, entre outros (Castro & Demarco 2008). Assim, a denominação de substâncias taníferas mencionadas pelos autores supracitados corresponde às substâncias fenólicas, no entanto, é necessário um teste mais específico a fim de detectar qual a substância fenólica que está presente nas secreções produzidas, teste este não realizado por nenhum dos autores em questão.

Várias são as funções atribuídas às substâncias fenólicas, dentre elas podemos citar a defesa química contra patógenos, proteção contra herbivoria, proteção contra a radiação ultravioleta devido ao seu poder antioxidante, auxílio na dispersão por pássaros, induzindo a regurgitação e absorção de luz ultravioleta formando os guias florais (Roshchina & Roshchina 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Aguilar-Ortigoza & Sosa 2004, Castro & Demarco 2008).

Na microscopia eletrônica de transmissão foi possível observar grande quantidade de material elétron-denso preenchendo quase que a totalidade da célula e pequenas gotículas de material elétron-opaco indicando que o endocarpo produz e armazena substâncias lipofílicas, sendo estas características comuns em células que secretam estas substâncias (Fahn 1979). As mucilagens anteriormente citadas no trabalho de Lacchia (2006) não tiveram sua presença comprovada neste trabalho, no entanto, a autora já havia relatado a secreção das substâncias

lipídicas. O endocarpo secretor é descrito pela primeira vez em frutos no trabalho da autora, sendo confirmada sua atividade secretora neste trabalho.

Drusas contendo cristais também ocorrem nos frutos de algumas espécies de Anacardiaceae, principalmente no mesocarpo (Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, González & Vesprini 2010). Os autores não atribuíram nenhuma função à presença desses cristais, no entanto geralmente eles estão relacionados com a proteção contra herbivoria, neutralização de ácido oxálico nocivo à planta e regulação dos níveis de cálcio teciduais (Molano-Flores 2001, Volk *et al.* 2002, Xiang & Chen 2004, Larcher & Boeger 2006, Korth *et al.* 2006).

Os resultados aqui descritos sugerem que o fruto de *T. guianensis* possui várias características que estão relacionadas com a proteção da semente contra patógenos e predadores como: presença de canais que secretam goma-resina, idioblastos contendo substâncias fenólicas, drusas amplamente distribuídas no mesocarpo e endocarpo lignificado. O fruto também exibe uma característica anatômica adaptativa ao ambiente em que se encontra, *T. guianensis* ocorre principalmente em regiões úmidas ou alagadas (Lenza & Oliveira 2005, Santana *et al.* 2009) e a formação de espaços intercelulares conspícuos no mesocarpo interno permite a flutuação do fruto em ambientes alagados (Roth 1977, Chiarini e Barboza 2009). A formação de aerênquima no mesocarpo interno não foi descrita do trabalho de Von-Teichan (1990), sendo relatada pela primeira vez nesta espécie.

T. guianensis é uma drupa de mesocarpo suculento e adocicado dispersada por aves (Guimarães 2003). Os frutos facilitam a dispersão de sementes fornecendo recompensa para os dispersores (Van der Pijl 1982), drupas representam um tipo de fruto dividido em duas partes muito especializadas: um mesocarpo carnoso, frequentemente comestível e, portanto, usado para dispersão, e um endocarpo rígido que protege a semente (Roth 1977). Nos testes histoquímicos realizados neste trabalho foram detectados grãos de amido em grande quantidade no mesocarpo, provavelmente utilizado pelo metabolismo da planta para produção de substâncias adocicadas durante a maturação dos frutos, substâncias estas bastante procuradas pelos agentes dispersores (Van der Pijl 1982).

Os componentes detectados nos testes histoquímicos, como amido, são direcionados aos agentes dispersores, enquanto que os tóxicos (goma-resina) são direcionados principalmente para

os organismos que destroem as sementes, permanecendo não tóxicos para os organismos dispersores (Cipollini & Levey 1997). Em estudos com representantes da família Solanaceae foi comprovado que os níveis elevados de nutrientes compensam os efeitos dissuasores dos metabólitos secundários (Cipollini & Levey 1997). Os metabólitos secundários em frutos maduros são dirigidos principalmente a pragas de insetos e microrganismos, e qualquer efeito negativo que estes produtos químicos têm sobre dispersores de sementes deve ser de alguma forma compensado pelos benefícios obtidos através da redução microbiana e ataque de insetos (Tewksbury 2002). Além disso, existe uma congruência entre o tipo de fruto ingerido e a fisiologia digestiva de frugívoros particulares (Cipollini & Levey 1997).

Em *T. guianensis* o óvulo é anátropo, bitegumentado, crassinucelado, de placentação apical-lateral e funículo longo. Corner (1976) descreveu o óvulo das espécies de Anacardiaceae como óvulos solitários, anátropos, com placentação apical, basal ou lateral, com rafe dorsal ou ventral, geralmente bitegumentados, mais raramente unitegumentados, crassinucelados e com funículo geralmente longo. Essas características são observadas em muitas espécies de Anacardiaceae, sendo relatadas por alguns autores (Von-Teichman & Van-Wyk 1988, Von-Teichman 1991, Von-Teichman & Van-Wyk 1991, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999a, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005). O tegumento externo do óvulo é maior que o interno, característica comum na família (Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b), e o crescimento do funículo em direção à micrópila pode funcionar como obturador, possuindo a função de guiar o crescimento do tubo polínico (Bouman 1984, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005).

A estrutura da semente de *T. guianensis* corresponde à descrição das características gerais das Anacardiaceae feita por Corner (1976), com tegumentos com pouca ou nenhuma especialização, eventualmente comprimidos; e o endocarpo quase sempre desempenha a função protetora da testa ou do tégmen. A análise anatômica revelou que o envoltório da semente é indiferenciado, não possuindo camada mecânica, confirmando as observações realizadas no trabalho de Von-Teichman (1990) para a mesma espécie. O autor ainda afirma que o envoltório da semente de todos os membros de Spondiaceae é considerado indiferenciado, devido a ausência de camada mecânica definida.

O envoltório da semente madura é constituído por duas regiões distintas, uma tegumentar e uma parcialmente paquicalazal. As sementes parcialmente paquicalazais são bastante comuns na família Anacardiaceae, característica amplamente discutida na literatura (Corner 1976, Von-Teichman & Van-Wyk 1988, Von-Teichman 1990, Von-Teichman 1991, Von-Teichman & Van-Wyk 1991, Piennar & Von-Teichman 1988, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999a, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000, Carmello-Guerreiro & Paoli 2005). Nas sementes paquicalazais a calaza se amplia formando grande parte do envoltório seminal (Werker 1997), essas sementes estão geralmente associadas a óvulos bitegumentados, crassinucelados, embriões grandes, ausência de endosperma ou endosperma nuclear, hábito arbóreo e hábitat tropical (Corner 1976, Von-Teichman & Van-Wyk 1991). A paquicalaza constitui-se numa importante adaptação funcional atuando na transferência mais eficiente dos nutrientes, gases e hormônios para o embrião (Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b).

O desenvolvimento da paquicalaza também é uma característica distintiva entre as tribos de Anacardiaceae; na tribo Spondieae a paquicalaza é relativamente grande e o envoltório da semente é bastante diversificado, podendo ocorrer camada mecânica na exo-, meso- ou endotesta, bem como no tégmen; em contrapartida, a tribo Anacardiaceae mostra uma paquicalaza pouco desenvolvida quando comparada à tribo Spondieae e envoltório da semente com poucas variações, geralmente com epiderme interna do tégmen lignificada (Von-Teichman & Van-Wyk 1991).

A formação de amplos espaços intercelulares na mesotesta juntamente com o surgimento de esclereídes, da mesma forma que no mesocarpo interno, podem estar diretamente relacionadas à adaptação da espécie ao ambiente úmido e alagadiço em que se encontra, permitindo a flutuação da semente quando eventualmente ela possa se depositar em um solo encharcado ou em cursos de água; além de permitir da flutuação da semente, essa característica anatômica também permite uma maior eficiência na oxigenação dos tecidos (Evert 2006). A semente completamente desenvolvida ainda apresenta restos do funículo aderidos ao envoltório, a presença de funículo bem desenvolvido é uma característica peculiar em muitas sementes e devido a este fator, quando os mesmos permanecem, são considerados arilos vestigiais (Corner 1976, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b).

As substâncias fenólicas encontradas na hipóstase, exotesta, endotégmen e funículo atuam na proteção da semente contra herbívoros e patógenos, podendo ainda tornar os tegumentos mais duros e impermeáveis; funcionam também como inibidores da germinação e conferem a cor amarronzada às sementes (Werker 1997). Nos testes histoquímicos foram detectadas as substâncias de reserva do embrião, amido e proteínas, estas últimas não foram relatadas no trabalho de Von-Teichman (1990). A reserva de lipídios e proteínas é considerada uma característica derivada da família (Von-Teichman 1990, Von-Teichman 1991, Von-Teichman & Van-Wyk 1991, Von-Teichman 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1994), e a presença de amido pode ser uma característica de transição dentro do grupo.

A semente apresenta características típicas da família, ratificando o que já foi descrito por Corner (1976) e Von-Teichman (1990). A constância de caracteres estruturais de óvulos e sementes é esperada, tendo em vista que dentre os órgãos reprodutivos estes são os que exibem menor variação entre os táxons (Von-Teichman & Van-Wyk 1991, Souto & Oliveira 2008).

As pragas e os patógenos devem ser considerados agentes importantes na interação planta-dispersor, pois os frutos e sementes da espécie estudada produzem substâncias bastante diversas, fator que pode ser amplamente discutido em trabalhos futuros. As espécies da família Anacardiaceae ocorrentes na América do Sul são pouco estudadas do ponto de vista anatômico, particularmente no que diz respeito à anatomia de frutos e sementes, tendo destaque para alguns trabalhos (Roth 1974, Von-Teichman & Robbertse 1986, Von-Teichman 1987, Von-Teichman & Van-Wyk 1988, Von-Teichman 1990; Von-Teichman 1991, Von-Teichman & Van-Wyk 1991, Von-Teichman & Van-Wyk 1993, Von-Teichman & Van-Wyk 1994, Von-Teichman & Van-Wyk 1996, Piennar & Von-Teichman 1998, Li *et al.* 1999, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999a, Carmello-Guerreiro & Paoli 1999b, Carmello-Guerreiro & Paoli 2000; Carmello-Guerreiro & Paoli 2002; Carmello-Guerreiro & Paoli 2005, González & Vesprini 2010), havendo um vasto campo de pesquisa em busca de características anatômicas que revelem afinidades entre espécies da mesma tribo, bem como do mesmo gênero, estabelecendo um paralelo com as características anatômicas de frutos e sementes já descritas para espécies ocorrentes em outros continentes.

Referências

- Aguilar-Ortigoza, C.J. & Sosa, V. 2004. The evolution of toxic fenolic compounds in a group of Anacardiaceae genera. **Taxon** 53: 357-364.
- Barroso, G.M.; Morin, M.P.; Peixoto, A.L.; Ichaso, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV.
- Barroso, G.M.; Peixoto, A.L.; Ichaso, C.L.F.; Guimarães, E.F.; Costa, C.G. 2007. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. 2 ed. Viçosa: UFV, vol. 2, p. 266-271.
- Bennici, A.; Tani, C. 2004. Anatomical and ultrastructural study of the secretory cavity development of *Citrus sinensis* and *Citrus limon*: evaluation of schizolysigenous ontogeny. **Flora** 199: 464–475.
- Berlyn, G.P.; Miksche, J.P. 1976. **Botanical microtechnique and citochemistry**. Iowa, The Yowa State University Press.
- Bouman, F. 1984. The ovule. In: Johri, B.M. (ed.). **Embryology of angiosperms**. New York: Springer-Verlag, p. 123-157.
- Buchholz, R.; Levey, D.J. 1990. The evolutionary triad of microbes, fruits, and seed dispersers – an experiment in fruit choice by cedar waxwings, *Bombycilla cedrorum*. **Oikos** 59: 200–204.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Quarterly Journal of Microscopical Science** 88: 383-392.
- Castro, M.M. & Demarco, D. 2008. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. **Natural Product Communications** 3: 1273-1284.
- Carmello-Guerreiro, S.M.; Paoli, A.A.S. 1999a. Aspectos morfológicos e anatômicos da semente de aroeira (*Myracrodruom urundeuva* Fr. Allem. – Anacardiaceae), com notas sobre paquicalaza. **Revista Brasileira de Sementes** 21: 222-228.
- Carmello-Guerreiro, S.M.; Paoli, A.A.S. 1999b. Morfologia e anatomia da semente de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em desenvolvimento. **Revista Brasileira de Botânica** 22: 91-98.
- 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 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. Anatomy of the pericarp and seed-coat of *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae) with taxonomic notes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 48: 599-610.
- Chiarini, F.E.; Barboza, G.E. 2009. Fruit anatomy of species of *Solanum* sect. *Acanthophora* (Solanaceae). **Flora** 204: 146-156.
- Cipollini, M.L.; Stiles, E.W. 1993a. Fruit rot, antifungal defense, and palatability of fleshy fruits for frugivorous birds. **Ecology** 74: 751–762.
- Cipollini, M.L.; Stiles, E.W. 1993b. Fungi as biotic defense agents of fleshy fruits – alternative hypotheses, predictions, and evidence. **American Naturalist** 141: 663–673.
- Cipollini, M.L.; Levey, D.J. 1997. Why are some fruits toxic? Glycoalkaloids in *Solanum* and fruit choice by vertebrates. **Ecology** 78: 782-798.
- Cipollini, M.L.; Bohs, L.A.; Mink, K.; Paulk, E.; Bohning-Gaese, K. 2002. Secondary metabolites of ripe fleshy fruits: ecology and phylogeny in the genus *Solanum*. In: Levey, D.J.; Silva, W.R.; Galetti, M. (eds.). **Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution, and conservation**. Wallingford: CABI Publishing.
- Corner, E.J.H. 1976. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, vol. 2, 552 p.
- Dong, Z.; Bass, P. 1993. Wood anatomy and shrubs from China. V. Anacardiaceae. **IAWA Journal**, 14:87-102.
- Engler, A. 1892. Anacardiaceae. In: Engler, A.; Prantl, K. **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. Leipzig: Englemann, vol. 3, p. 138-178.
- Evert, R.F. 2006. **Esau's plant anatomy, meristems, cells, and tissues of plant body : their structure, function, and development**. 3 ed. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 601 pp.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissue in plants**. London: Academic Press.
- Fisher, D.B. 1968. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie** 16: 92-96.
- Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products** 44: 153-159.
- 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.

- González, A.M.; Vesprini, J.L. 2010. Anatomy and fruit development in *Schinopsis balansae* (Anacardiaceae). **Anales del Jardín Botánico de Madrid** 67: 103-112.
- Guimarães, M.A. 2003. Frugivoria por aves em *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) na zona urbana do município de Araruama, estado do Rio de Janeiro, sudeste brasileiro. **Atualidades Ornitológicas** 116: 12-21.
- Harada, M. 1937. On the distribution and construction of the resin canal in *Rhus succedanea*. **Botanical Magazine**, 51: 846-856.
- Herrera, C.M. 1982. Defense of ripe fruit from pests: its significance in relation to plant–disperser interactions. **American Naturalist** 120: 218–241.
- Herrera, C.M. 1986. Vertebrate dispersed plants: why they don't behave the way they should. In: Estrada, A.; Flemming, T.H. (eds.). **Frugivores and seed dispersal**. Dordrecht: Dr W Junk Publishers Co., p. 5–18.
- Herrera, C.M. 1992. Interspecific variation in fruit shape: allometry, phylogeny, and adaptation to dispersal agents. **Ecology** 73: 1832–1841.
- Herrera, C.M. 1998. Long-term dynamics of Mediterranean frugivorous birds and fleshy fruits: a 12-year study. **Ecological Monographs** 68: 511–538.
- Joel, D.M.; Fahn, A. 1980. Ultrastructure of the resin ducts of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) 3. Secretion of the protein-polysaccharide mucilage in the fruit. **Annals of Botany**, 46 : 785-790.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Mycrotechnique**. New York: McGraw-Hill Book.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. 2007. Anacardiaceae. In: Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F.; Donoghue, M.J. **Plant systematics: a phylogentetic approach**. Massachusetts: Sunderland, p.416-417.
- Korth, K.L.; Doege, S.J.; Park, S.; Goggin, F.L.; Wang, Q.; Gomez, S.K.; Liu, G.; Jia, L.; Nakata, P.A. 2006. *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. **Plant Physiology** 141: 188-195.
- Lacchia, A.P.S. 2006. **Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, histoquímica e ultra-estrututa**. Tese de doutorado. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.
- Lacchia, A.P.S.; Carmello-Guerreiro, S. M. 2009. Aspectos ultra-estruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae. **Acta Botanica Brasilica**, 23: 376-388.

- Langenheim, J.H. 2003. **Plant resins: chemistry, evolution, ecology and ethnobotany**. Portland: Timber Press.
- Larcher, L.; Boeger, M.R.T. 2006. Anatomia foliar de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae). **Biotemas** 19: 23-31.
- Leon, W.J. 2003. Estudio anatómico del xilema secundario de 17 especies de la familia Anacardiaceae en Venezuela. **Acta Botánica Venezuelica**, 26:1-30.
- Lenza, E; Oliveira, P.E. 2005. Biología reproductiva de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), uma espécie dióica em mata de galeria do Triângulo Mineiro, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 28: 179-190.
- Li, J.X.; Baskin, J.M.; Baskin, C.C. 1999. Pericarp ontogeny and anatomy in *Rhus aromatica* Ait. and *R. glabra* L. (Anacardiaceae). **Journal of the Torrey Botanical Society** 126: 279-288.
- Lorenzi, H. 2002. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4 ed. São Paulo: Nova Odessa.
- Lozano, N.B. 1986. Desarrollo y anatomía del fruto del jobo (*Spondias moin* L.). **Caldasia XIV** (68-70): 465-490.
- Machado, S.R.; Carmello-Guerreiro, S.M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, 15: 189-195.
- Machado, S.R.; Rodrigues, T.M. 2004. Anatomia e ultra-estrutura do pulvino primário de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae – Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 135-147.
- McManus, J.F.A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology** 23: 99-108.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, vol. 2, p.244-248.
- Molano-Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany** 88: 387-391.
- Monteiro, W.R.; Castro, M.M.; Fahn, A.; Caldeira, W. 1995. Observations on the development of the foliar secretory cavities of *Porophyllum lanceolatum* (Asteraceae). **Nordic Journal of Botany** 15:69–76.
- Monteiro, W.R.; Fahn, A.; Caldeira, W.; Castro, M.M. 1999. Ultrastructural observations on the foliar secretory cavities of *Porophyllum lanceolatum* DC. (Asteraceae). **Flora** 194: 113–126.

- O'Brien, T.P.; Feder, N.; Mccully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** 59: 368-373.
- 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. Hill. com vista a sua forma e às bolsas oleíferas. **Brasil Florestal**, 9: 33-39.
- Pearse, A.G.E. 1980. **Histochemistry theoretical and applied preparative and optical technology**. 4 ed. Edinburgh, Churchill Livingston.
- Pell, S.K. 2004. **Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae)**. Dissertation, Department of Biological Sciences, Faculty of the Louisiana State University, Louisiana.
- Piennar, M.E.; Von-Teichman, I. 1998. The generic position of *Lithraea brasiliensis* Marchand (Anacardiaceae): evidence from fruit and seed structure. **Botanical Journal of Linnean Society**, 126: 327-337.
- Pizzolato, T.D.; Lillie, R.D. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry** 21: 56-64.
- 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.
- Rodrigues, T.M., Teixeira, S.P., Machado, S.R. 2011a. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae-Caesalpinioideae). **Flora** 206: 585–594.
- Rodrigues, T.M.; Santos, D.C.; Machado, S.R. 2011b. The role of the parenchyma sheath and PCD during the development of oil cavities in *Pterodon pubescens* (Leguminosae – Papilionoideae). **Comptes Rendus Biologies** 334: 535-543.
- Roshchina, V.V. & Roshchina, V.D. 1993. **The excretory function of higher plants**. Berlin: Springer-Verlag.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms**. Berlin: Grebuder Borntraeger.
- Santana, W.M.S.; Silva-Mann, R.; Ferreira, R.A.; Arrigoni-Blank, M.F.; Blank, A.; Poderoso, J.C.M. 2009. Morfologia de flores, frutos e sementes de pau-pombo (*Tapirira guianensis* Aublet. - Anacardiaceae) na região de São Cristóvão, SE, Brasil. **Scientia Forestalis**, 37: 47-54.

- Silva-Cruz, C.L.; Pirani, J.R. 2012. Anacardiaceae. In: **Lista de espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB004408> > Acesso em: 04/06/2012.
- Souza, V.C.; Lorenzi, H. 2008. Anacardiaceae. In: Souza, V.C.; Lorenzi, H. **Botânica Sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 432-434.
- Spjut, R.W. 1994. **A systematic treatment of fruit types**. New York: The New York Botanical Garden.
- Tewksbury, J. 2002. Fruits, frugivores and the evolutionary arms race. **New Phytologist**. 156: 137-139.
- Tropicos. 2012. Tropicos Home. Missouri Botanical Garden. Disponível em <http://www.tropicos.org/>; acessado em 30/04/2012.
- Van Der Pijl, L. 1982. **Principles of dispersal in higher plants**. 3 ed. Berlin: Springer-Verlag.
- Volk, G.M., Lynch-Holm, V.J., Kostman, T.A., Goss, L.J.; Franceschi, V.R. 2002. The hole of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. **Plant Biology** 4: 34-45.
- Von-Teichman, I. 1987. Development and structure of the pericarp of *Lannea discolor* (Sonder) Engl. (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 95: 125-135.
- Von-Teichman, I. 1990. Pericarp and seed coat structure in *Tapirira guianensis* (Spondiadeae: Anacardiaceae). **South African Journal of Botany**, 56: 435-439.
- Von-Teichman, I. 1991. Ontogeny of seed-coat of *Rhus lancea* L. fil., and pachycalazy in the Anacardiaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 107: 35-47.
- Von-Teichman, I. 1994. Generic position of *Protorhus namaquensis* Sprague (Anacardiaceae): evidence from seed structure. **Botanical Bulletin of Academia Sinica** 35: 53-60.
- Von-Teichman, I. 1998. Micromorphological structure of the fruit and seed of *Smodingium argutum* (Anacardiaceae), as an adaptation to its natural habitat. **South African Journal of Botany**, 64: 121-127.
- Von-Teichman, I.; Robbertse, P.J. 1986. Development and structure of the pericarp and seed of *Rhus lancea* L. fil. (Anacardiaceae) with taxonomic notes. **Botanical Journal of the Linnean Society** 93: 291-306.

- Von-Teichman, I.; Van-Wyk, A.E. 1988. The ontogeny and structure of the pericarp and seed-coat of *Harpephyllum caffrum* Bernh. ex Kraus (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 98: 159-176.
- Von-Teichman, I.; Van-Wyk, A.E. 1991. Taxonomic position of *Rhus prolematodes* (Anacardiaceae): evidence from fruit and seed structure. **Botanical Journal of Linnean Society** 105: 211-237.
- Von-Teichman, I.; Van-Wyk, A.E. 1993. Ontogeny and structure of the drupe of *Ozoroa paniculosa* (Anacardiaceae). **Botanical Journal of Linnean Society** 111: 253-263.
- 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 pachychalaly and recalcitrance. **Botanical Journal of Linnean Society**, 122: 335-352.
- Wannan, B.S.; Quinn, C.J. 1990. Pericarp structure and generic affinities in the Anacardiaceae. **Botanical Journal of Linnean Society**, 102: 225-252.
- Watson, M.L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. **Journal of Biophysical and Biochemical Cytology** 4: 475.
- Werker, E. 1997. **Seed anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 424 pp.
- Xiang, H.; Chen, J. 2004. Interspecific variation of plant traits associated with resistance to herbivory among four species of *Ficus* (Moraceae). **Annals of Botany** 94: 377-384.

Considerações finais

Analisando-se todos os resultados obtidos pode-se concluir que o disco glandular floral presente em *Tapirira guianensis* Aubl. é uma glândula de secreção mista, tendo em sua composição néctar com predominância de sacarose, lipídios e substâncias fenólicas, sendo considerado nectário *sensu lato*. Esta glândula atua na atração de polinizadores ao mesmo tempo em que repele herbívoros e agentes patogênicos.

As análises ultraestruturais e histoquímicas trouxeram grande contribuição com relação ao conhecimento da organização e funcionamento da glândula, do mecanismo de liberação da secreção, principais componentes da secreção e puderam elucidar quais as mudanças ocorridas ao longo das diferentes fases de existência da flor. O primeiro capítulo contribuiu para o conhecimento detalhado do funcionamento da glândula floral presente em *T. guianensis*, trazendo resultados inéditos para a família Anacardiaceae.

No segundo capítulo a análise ontogenética do fruto e da semente mostrou-se de grande utilidade para a correta classificação dos tecidos presentes nos órgãos completamente desenvolvidos. Foram encontradas várias características comuns na família, e mais especificamente na tribo Spondieae, como presença de canais secretores e endocarpo lignificado de orientação irregular no fruto, e ausência de camada mecânica e formação de paucicalaza na semente. As substâncias de reserva encontradas nos cotilédones foram o amido e proteínas, o que pode indicar que esta espécie possui características transitórias dentro do grupo, pois é mais comum nesta família reservas lipídicas e protéicas.

Os frutos e sementes desta espécie possuem grande quantidade de substâncias úteis na proteção do embrião, uma vez que inibem o ataque de herbívoros e patógenos em geral. Algumas características anatômicas ainda são úteis na dispersão, pois apesar de ser uma espécie dispersa por pássaros, está inserida em ambientes alagados e a formação de aerênquima é característica útil para permitir a flutuação do diásporo até que seja encontrado ambiente propício para germinação.

Propõe-se em trabalhos futuros realizar-se um estudo mais abrangente, com espécies tanto da tribo Spondieae quanto da tribo Anacardiaceae, a fim de se verificar semelhanças e

diferenças do funcionamento das glândulas florais, bem como ampliar os estudos relativos à ontogenia de frutos e sementes. Acredita-se que a continuação deste trabalho possa trazer resultados relevantes para o entendimento da família como um todo, principalmente no que diz respeito ao estudo das estruturas secretoras. Os dados poderão ser utilizados em futuros estudos filogenéticos ou de dispersão.