UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

JECRETAION DE -OS-GRACUAÇÃO

Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias

"ESTUDOS MORPOLÓGICOS EM CINCO ESPÉCIES DE POLYGALA L. (POLYGALACEAE) COM ÊNFASE NAS ESTRUTURAS SECRETORAS"

Este exemplar corresponde à redução final ds tese defendids pelo(a) candidato (a) n Gros e sprovada pelo Comissão Julgadora. and and and

Tose apresentada ao Instituto de Biologia para obrenção do Túcio de Doutor em Biologia Vegetal

Orientador(a): Prof(a), Dr(a). Marilia de Moraes Castro Co-Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Kikyo Yamamoto

Campinas, 2008

î:

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

D543e	Dias, Ane Cristina Anonado de Aguiar Escudes monfológicos em cinco copónios de Polygala L. (Polygalaceso) com Antase nas estruturas secretores : Ana Cristina Andrado de Aguiar Dias. – Cameinas, SPI (s.n.). 2008
	Orientacores: Martila de Moraes Casho, Kikyo Yahiamoto, Tese (doutorado) - Universidano Estadual de Campinas, Institute do Biologia
	 Polygalaceae 2 Polyge/a 3 Anefordia 4 Estruturas secretores: 5. São Paulo (Estado), 1. Castro, Marilla de Moraes, 1955 - 11 Yan anoto, Kikyo, 1354 - 11, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, IV Titulo.

Titulo em inglés: Morphological studies in five species of Polygala L. (Polygalaceae) with emphaele on secietury shubbres. Pélavras-chave em inglés: Polygalaccao: Polygala: Anatomy: Serratory sin.cturos. São Paulo

(State).

Área de concentração: Biologia Vageta . Titulação: Doutors em Biologia Vegetal.

Bence examinadora: Marila de Mosces Castro, Cecília Gonçoives de Casta, Ane Paula Stechnahu Lacchia, Maria Carolina Sociolin de Rio, Luiza Sumiko Kinoshita. Data da defesa: 03/16/2006.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegelai.

Campinas, 03 de outubro de 2008

BANCA EXAMINADORA

Profa, Dra, Murilia de Moraes Castro (Orientudora)

Dra. Cecilia Gonçalvos Costa

Profe. Dru Ana Paula Steelthahn Lacchia

Dra. Maria Carolina Scutolin do Rio

Protù Dra, Loiza Sumiko Kineshita

Dra. Claudia Franca Barros

Profa, Dra. Ana Muria Goulan de Azovedo Tozzi

Profa, Dra, Sandra Maria Cannello-Guerreiro

rading

Onco

5 Lauch ne ++m4000

Dawlingth Assingua

with an

Assintan

Jostmenna

Assistance

3

ш

Dedico esta tese aos meus pais, Almir e Rosa, às minhas irmãs, Simone, Helene e Maria Fernanda e ao meu marido, Márcio, por serem meu referencial e os responsáveis pela força que tive para realizar esta importante etapa da minha vida.

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Dra. Marilia de Moraes Castro pela minha formação na área de anatomia vegetal, sem esquecer a amizade e o carinho que sempre teve por mim e que muito contribuíram para o meu crescimento como anatomista e pessoa, sendo uma das pessoas que mais acreditou na realização desta tese. Tentarei retribuir todo o ensinamento ao capacitar novos anatomistas com o mesmo carinho e dedicação. Sempre a terei como exemplo devido a sua ética, a sua responsabilidade e ao seu perfeccionismo, características do seu profissionalismo. Muito obrigada!

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Kikyo Yamamoto, por ser uma das responsáveis pelo meu desenvolvimento e por estar ao meu lado em todos os momentos, tanto nos científicos quanto nos pessoais. Tive a oportunidade de aprimorar minha visão científica nas agradáveis conversas que tivemos ao longo destes cinco anos e meio, com os quais pude "crescer" ao lado de uma excelente profissional, que admiro muito.

Aos professores do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Unicamp, em especial às professoras Ana Maria Goulart de Azevedo Tozzi, por participar da minha formação com sugestões construtivas e Luiza Sumiko Kinoshita, por ser a responsável pela minha apresentação na Instituição e por participar da minha formação como botânica. Muito obrigada!

Às professoras, Ana Paula Lacchia, Cecília Gonçalves da Costa, Luiza Sumiko Kinoshita e Sandra Carmello-Guerreiro, pelas sugestões e críticas na Pré-banca.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, por ter possibilitado a realização do presente estudo. À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Projeto Biota - Gradiente Funcional (Proc. 03/12595-7) e pela bolsa concedida de doutorado (Proc. 04/09728-8).

Ao Sebastião Militão Junior, mais conhecido como "Tião", técnico do laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica da Unicamp, por ser um excelente profissional e uma ótima pessoa para se conviver em um ambiente de trabalho. Também não posso esquecer de agradecer por sempre escutar, com a mesma atenção de sempre, os meus ensaios antes de ir para as reuniões com a Profa. Marilia. Obrigada por tudo!

Aos funcionários e técnicos do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Unicamp, em especial à: João Carlos, Iara, Lívia e Maria Lúcia por todo apoio disponibilizado.

Aos funcionários da secretária da Pós-graduação do Instituto de Biologia da Unicamp pela colaboração durante todo o desenvolvimento do presente estudo, em especial à Maria Roseli e ao Rafael Pessoa.

Aos funcionários da Biblioteca do Instituto de Biologia (Unicamp), pelos auxílios prestados.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp, por ter possibilitado a realização do presente estudo.

Aos responsáveis do Parque Estadual da Serra do Mar, Ubatuba (SP); da Estação Ecológica e Experimental de Itirapina (SP) e da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu (SP), pela atenção disponibilizada e permissão da coleta de material botânico.

Aos meus amigos do laboratório de Anatomia Vegetal, todos são muito importantes. Foram inúmeros momentos juntos, com trocas de conhecimentos e de vivência que vieram para somar à rica experiência que pude ter na Unicamp. Muito obrigada por tudo! Em especial à Ana Paula Lacchia, à Carol Rio, ao Diego Demarco, ao Fabiano Martins, à Inara Coneglian, à Poliana Cardoso, à Priscila Cortez, à Rosina Muto Marasca, à Sandra Obando e ao Shesterson Aguiar pelo convívio sempre muito produtivo e por toda a troca de experiência que tive com vocês, sem esquecer das risadas, dos momentos alegres, das viagens de campo e das inúmeras coca-lights que tomamos juntos.

Aos meus amigos do Departamento de Botânica da Unicamp (independente de já terem concluído ou não): Alessandra Nasser Caiafa, Ana Paula Fortuna, André Gil, Andréia Flores, Edson Dias da Silva, Fabiano Farah, Gustavo Shimizu (Gu), João Aranha, José Eduardo Meireles, Karina Fidanza, Lidyanne Aona, Lorena Fonseca, Ludmila Micheliunas, Roberta Macedo, Rodrigo Schultz, Rodrigo Singer, Rosana Singer, Rosilene Rodrigues, Rubem Samuel de Ávila Jr., Samantha Koehler, Sueli Gomes e Tiago Breier, pelo convívio agradável e ajuda.

Em especial, à Ana Paula Fortuna Perez e à Karina Fidanza que foram as primeiras pessoas que me acolheram em Campinas. Não tenho palavras para definir como a amizade e a companhia de vocês são importantes. Muito obrigada por tudo!

À Raquel Lüdtke, minha amiga das Polygaláceas, pelas nossas inúmeras conversas no "MSN", que muito auxiliaram nos momentos de dúvida, pela troca de relevantes artigos sobre a família e pela força e energia que sempre eram muito bem passadas.

À Ana Paula Lacchia pelos ensinamentos no laboratório de anatomia vegetal, estando sempre à disposição com a mesma alegria e paciência de sempre. Ao Fabiano Martins pelos ensinamentos no laboratório de anatomia vegetal.

À Camila Castro, pela revisão gramatical dos capítulos para a pré-banca, pelos os esclarecimentos da nossa língua portuguesa, que muito auxiliaram na fase de redação final da tese, e pela amizade que construímos ao longo deste período.

À Maria do Carmo Mendes Marques pelos ensinamentos em taxonomia vegetal, especialmente em Polygalaceae, essenciais para o desenvolvimento dos meus pensamentos que originaram esta tese.

Aos meus pais, Almir e Rosa, por serem responsáveis por toda a minha formação, sempre com palavras exatas para me auxiliar nos momentos em que mais precisava.

Às minhas irmãs, Simone, Helene e Maria Fernanda, por fazerem parte da minha vida e por me darem a força necessária em cada etapa deste trabalho. Amo vocês!

Ao meu marido, Márcio Vítor Dias, pelo amor que me dedica, pela atenção que sempre deu a minha tese e por compreender todas as ausências ao longo dos últimos três anos. Além de sempre acreditar nos meus sonhos e tentar cooperar para que estes fossem realizados. Obrigada pelo companheirismo, paciência nos momentos difíceis: entrega de relatórios Fapesp, conclusão da tese e atenção que sempre me dedicou, aliviando as incertezas que apareciam ao longo do percurso. Sua presença constante ao meu lado foi essencial.

8

Sumário

Resumo						C	01
Abstract						0	2
Introdução Geral						0	3
Objetivos						0	7
1. Capítulo 1							
Nectários extranupciais	estipulares	de	Polygala	laureola	A.StHil	&	Moq.:
morfologia e ontogênese							
Introdução						2	0
Material & métodos						2	2
Resultados						2	4
Ilustrações						2	7
Discussão						3	9
Referências bibliográficas						4	-1

2. Capítulo 2

Morfologia dos nectários extranupciais da inflorescência de *Polygala laureola* A.St.-Hil & Moq.

Introdução	45
Material & métodos	46
Resultados	49
Ilustrações	52

Discussão	62
Referências bibliográficas	65

3. Capítulo 3

Estrutura e histoquímica dos ductos mucilaginosos do caule de *Polygala* angulata L.

Introdução	69
Material & métodos	71
Resultados	72
Ilustrações	75
Discussão	85
Referências bibliográficas	87

4. Capítulo 4

Anatomia do caule aéreo e do sistema subterrâneo de cinco espécies de Polygala L.

Introdução	92
Material & métodos	94
Resultados	96
Ilustrações	109
Discussão	157
Referências bibliográficas	164

5. Capítulo 5

Anatomia foliar de cinco espécies de <i>Polygala</i> L. de restinga e cerrado	
Introdução	168
Material & métodos	170
Resultados	174
Ilustrações	177
Discussão	193

Referências bibliográficas	199
Considerações Finais	205
Perspectivas	213
Referências bibliográficas	215

Índice de Figuras e Tabelas

Introdução Geral

Figuras 1-4. <i>Polygala angulata</i> L.	11
Figuras 5-7. <i>Polygala cyparissias</i> A.StHil. & Moq.	13
Figuras 8-11. <i>Polygala laureola</i> A.StHil. & Moq.	15
Figuras 12-15. <i>Polygala paniculata</i> L.	17
Figuras 16-19. <i>Polygala violacea</i> Aubl. emend Marques.	19

1. Capítulo 1

Nectários extranupciais estipulares de *Polygala laureola* A.St.-Hil & Moq.:

morfologia e ontogênese

28
30
32
34
36
38

2. Capítulo 2

Morfologia dos nectários extranupciais da inflorescência de Polygala laureola

A.St.-Hil & Moq.

Figuras 1-5. Glândulas secretoras no eixo reprodutivo de *Polygala* 53 *laureola* A.St.Hil. & Moq.

Figuras 6-11. Nectário extranupcial em diferentes fases de 55 desenvolvimento de *Polygala laureola* A.St.Hil. & Moq. observado em MEV.

Figuras 12-15. Nectário extranupcial em fase secretora de *Polygala* 57 *laureola* A.St.Hil. & Mog. observado em MEV.

Figuras 16-20. Nectário extranupcial em fase secretora de *Polygala* 59 *laureola* A.St.Hil. & Moq.

Figuras 21-25. Nectário extranupcial em fase secretora de *Polygala* 61 *laureola* A.St.Hil. & Moq. em luz polarizada.

3. Capítulo 3

Estrutura e histoquímica dos ductos mucilaginosos do caule de *Polygala* angulata L.

Tabela 1. Resultados dos testes histoquímicos aplicados nos ductos	74
de Polygala angulata L.	
Figuras 1-6. Ductos secretores no caule de <i>Polygala angulata</i> L. em	76
corte transversal.	
Figuras 7-12. Ductos secretores no caule de <i>Polygala angulata</i> L. em	78
corte longitudinal.	
Figuras 13-18. Ductos secretores no caule de <i>Polygala angulata</i> L.	80
com mucilagem nas células epiteliais, evidenciada pela reação PAS.	
Figuras 19-23. Ductos secretores no caule de <i>Polygala angulata</i> L.	82
com mucilagem no interior das células epiteliais evidenciada, pelo	
com ácido tânico/cloreto férrico.	
Figuras 24-29 Ductos secretores no caule de <i>Polvaala angulata</i> l	84

Figuras 24-29. Ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. 84 com mucilagem no interior das células epiteliais evidenciada, pelo vermelho de rutênio.

4. Capítulo 4

Anatomia do caule aéreo e do sistema subterrâneo de cinco espécies de Polygala L.

Tabela 1. Dados referentes ao material testemunha das espécies	94
investigadas. Figuras 1-6 Caula géreo em estrutura primária de <i>Polygala</i> .	110
cyparissias A.St-Hil & Moa	110
Figuras 7-11. Caule aéreo em estrutura primária de <i>Polygala laureola</i>	112
A.StHil. & Moq.	
Figuras 12-16. Caule aéreo em estrutura secundária de Polygala	114
laureola A.StHil. & Moq.	
Figuras 1/-21. Caule aéreo em estrutura secundária de <i>Polygala</i>	116
<i>Taureola</i> A.StHII. & Moq. do sexto interno visivel.	110
Polvaala laureola A St-Hil & Moa	110
Figuras 27-32. Caule aéreo em estrutura primária de <i>Polygala</i>	120
paniculata L.	
Figuras 33-38. Caule aéreo em estrutura secundária de <i>Polygala</i>	122
paniculata L.	
Figuras 39-43. Caule em estrutura primária de <i>Polygala angulata</i> L.	124
Figuras 44-50. Caule em estrutura secundária de <i>Polygala angulata</i> L.	126
Figuras 51-53. Caule em estrutura secundária de <i>Polygala angulata</i> L.	128
fixado em SFF.	
Figuras 54-58. Caule em estrutura primária de <i>Polygala violacea</i>	130
Aubl. emend Marques.	
Figuras 59-64. Caule em estrutura secundária de <i>Polygala violacea</i>	132
Aubl. emend Marques. Figures (5.67 Deserve esquemático de sisteme subternânce des	124
espécies de Polycolo ocorrentes na restinoa	154
Figuras 68-71 Raiz em estrutura primária de <i>Polvaala cyparissias</i>	136
A.StHil. & Mog.	
Figuras 72-76. Raiz em estrutura secundária de <i>Polygala cyparissias</i>	138
A.StHil. & Moq.	
Figuras 77-81. Raiz em estrutura secundária de Polygala laureola	140
A.StHil. & Moq.	
Figuras 82-84. Raiz em estrutura primária de <i>Polygala paniculata</i> L.	142
Figuras 85-89. Raiz em estrutura secundária de <i>Polygala paniculata</i> L.	144

Figuras 90-93. Desenho esquemático do sistema subterrâneo das 146 espécies de *Polygala* ocorrentes no cerrado.

Figuras 94-96. Raiz em estrutura primária de *Polygala angulata* L. 148

Figuras 97-101. Raiz em estrutura secundária de *Polygala angulata* L. 150

Figuras 102-105. Raiz em estrutura primária de *Polygala violacea* 152 Aubl. emend Marques.

Figuras 106-110. Raiz em estrutura secundária de *Polygala violacea* 154 Aubl. emend Marques.

Figuras 111-114. Cortes longitudinais seriados da raiz gemífera 156 adicional em diferenciação de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques.

Tabela 2. Características morfológicas do sistema caulinar e163radicular das espécies investigadas.

5. Capítulo 5

Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* L. de restinga e de cerrado

Tabela 1. Dados referentes ao material testemunha das espécies 173 investigadas.

Tabela 2. Tipo de solo e clima das formações em que as espécies173foram coletadas.

Tabela 3. Características morfológicas foliares das espécies 176 estudadas.

Figuras 1-6. Superfície epidérmica de espécies de *Polygala* 178 observadas em MEV.

Figuras 7-12. Superfície epidérmica de espécies de *Polygala* 180 observadas em MEV.

Figuras 13-18. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala* 182 *cyparissias* A. St.-Hil. & Moq.

Figuras 19-25. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala laureola* 184 A. St.-Hil. & Moq.

Figuras 26-33. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala paniculata* L.

Figuras 34-39. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala angulata* 188 L.

Figuras 40-45. Região mediana da lâmina foliar de <i>Polygala violacea</i>	190
Aubl. emend Marques.	
Figuras 46-51. Cortes transversais da região proximal do pecíolo de	192
espécies de <i>Polygala</i> L.	
Tabela 4. Características morfológicas foliares das espécies	198
estudadas.	

Considerações Finais

Tabela 1. Características morfológicas do eixo vegetativo das espécie:210investigadas.

"Estudos morfológicos em cinco espécies de *Polygala* L. (Polygalaceae) com ênfase nas estruturas secretoras"

Resumo

Este estudo tem como principal objetivo contribuir para o conhecimento morfológico de cinco espécies de *Polygala* L., das guais três ocorrem em restinga (P. cyparissias A.St.-Hil. & Mog., P. laureola A.St.-Hil. & Mog. e P. paniculata L.) e duas em cerrado (P. angulata L. e P. violacea Aubl. emend Margues) no estado de São Paulo. Os principais pontos abordados na tese são a caracterização de estruturas secretoras e a elaboração de um inventário de caracteres morfológicos do eixo vegetativo. Destaca-se entre os resultados obtidos: a verificação de que as glândulas presentes no caule de P. laureola tratam-se de nectários extranupciais de origem estipular ocupando posição nodal. Além disso, foi possível constatar que as glândulas da inflorescência de P. laureola também são nectários extranupciais. Já em P. angulata, ductos secretores são observados no caule. Tais estruturas estão sendo identificadas como sítios de síntese de compostos hidrossolúveis - mucilagem. No inventário morfológico realizado nas cinco espécies de *Polygala*, foi evidenciado que a estrutura primária do caule se apresenta distintiva, enguanto que a estrutura secundária do caule e da raiz se apresenta conservativa. No estudo anatômico foliar, dois padrões estruturais são observados nas espécies estudadas de restinga e de cerrado; P. laureola, P. paniculata e P. violacea possuem características mesomórficas, *P. cyparissias* e *P. angulata* apresentam características xeromórficas.

Palavras-chave: Polygalaceae, *Polygala*, anatomia, estruturas secretoras, glândulas, restinga, cerrado, São Paulo.

"Morphological studies in five species of *Polygala* L. (Polygalaceae) with emphasis on secretory structures"

Abstract

The purpose of this study is to contribute to the morphological knowledge of five species of *Polygala* L., three of which occur in the *restinga* (P. cyparissias A.St.-Hil. & Mog., P. laureola A.St.-Hil. & Mog. and P. paniculata L.) and the other two occur in the *cerrado* vegetation (*P. angulata* L. and *P.* violacea Aubl. emend Margues) of São Paulo state, Brazil. The main points of this research are the characterization of the secretory structures and the survey of morphological features of the vegetative axis of these five species. Among the data obtained, it should be highlighted that the vegetative glands of *P. laureola* are stipular, extranuptial nectaries occupying a nodal position and that their inflorescence glands are also extranuptial nectaries. Secretory ducts observed in the stem of *P. angulata* are identified as sites of biosynthesis and secretion of mucilage. The morphological survey of the five *Polygala* species reveal that the primary stem structure is distinctive, whereas the secondary structure of the stem and the root is conservative. The leaf anatomy of these species shows two structural patterns occurring in the restinga and the cerrado vegetation: P. laureola, P paniculata and P. violacea have mesomorphic characters and *P. cyparissias* and *P. angulata* have xeromorphic features.

Keywords: Polygalaceae; *Polygala*; plant anatomy; secretory structures; glands; *restinga* vegetation; *cerrado* vegetation; São Paulo state, Brazil.

Introdução Geral

As Polygalaceae despertam grande interesse devido à sua importância medicinal, que ainda é economicamente pouco explorada. A partir dos primeiros trabalhos que relataram as qualidades terapêuticas de *Polygala senega* L. realizados por Linnaeus (1749, 1750, 1751), o reconhecimento da importância farmacêutica das espécies deste gênero tem-se consolidado. Deste modo, pesquisas fitoquímicas vêm sendo desenvolvidas em todo o mundo, não apenas em *Polygala* como em outros gêneros da família (Hoffmann *et al.* 1977, Monzou *et al.* 1999, Mak *et al.* 2001).

De acordo com indexadores bibliográficos, os gêneros mais pesquisados a este respeito foram *Polygala* L., *Securidaca* L. e *Bredemeyera* Willd., tendo sido detectados ácidos graxos, saponinas, fenóis, cumarinas, xantonas e alcalóides nas espécies analisadas (Hamburger et al. 1985, Silveira et al. 1995; Zhang et al. 1998; Oliveira e Silveira 2000; Pizzolatti et al. 2002, 2004). Tais estudos comprovaram eficaz ação terapêutica dessas no tratamento de afecções respiratórias, diabetes, reumatismos, contusões, infecções renais ou picadas de cobra. Além disso, estudos oncológicos, imunológicos e neurológicos têm proporcionado dados promissores (Daros et al. 1996, Kako et al. 1996, Pereira et al. 1996, Monzou et al. 1999, Desbene et al. 1999, Ikeya et al. 2001, Chung et al. 2002, Obi et al. 2002, Park et al. 2002, Yabe et al. 2003). Em particular, estes estudos evidenciam a relevância terapêutica das saponinas (ou saponosídeos) que, do ponto de vista químico, formam um grupo particular de heterosídeos derivados dos triterpenos tetracíclicos (Harbone & Baxter 1995). Economicamente, a raiz tem sido o órgão de maior interesse, mas grande parte das pesquisas tem comprovado a existência destes compostos também nos órgãos aéreos (Miyase *et al.* 1995, Yoshikawa *et al.* 1995, Zhang *et al.* 1998, Nagai *et al.* 2001, Jiang & Tu 2003).

Atualmente, Polygalaceae encontra-se incluída na ordem Fabales, sendo considerada grupo-irmão de Fabaceae (Judd et al. 2002; APG II 2003). Compreende 16 (-18) gêneros com cerca de 1300 espécies distribuídas nas regiões tropicais e temperadas do mundo, exceto Nova Zelândia; são especialmente abundantes no continente americano (Paiva 1998). No Brasil, estão representadas por cerca de 240 espécies, pertencentes a sete gêneros: Barnhartia Gleason, Bredemeyera Willd., Diclidanthera Mart., Monnina Ruiz et. Pav., Moutabea Aublet, Polygala L. e Securidaca L. Dentre as poligaláceas brasileiras, *Polygala* é constituído por cerca de 180 espécies, distribuídas em cinco subgêneros: Acanthocladus (Klotzsch ex Hassk.) Paiva, Gymnospora (Chodat) Paiva, *Hebeclada* (Chodat) Blake, *Ligustrina* (Chodat) Paiva e *Polygala* (Chodat) Blake (Margues 1979, Paiva 1998, Margues & Peixoto 2007). Com base nos recentes resultados filogenéticos, *Polygala* poderá ser desmembrada e não possuirá os subgêneros considerados atualmente. Dos cinco subgêneros que ocorrem em território brasileiro, quatro são indicados como possíveis gêneros e não subgêneros de *Polygala* (Forest, com. pess.).

Polygala é o maior gênero de Polygalaceae, com cerca de 500 das aproximadamente 1300 espécies da família (Marques 1979). Dado o interesse fitoquímico neste gênero, é importante efetuar uma extensa investigação das propriedades dos compostos bioativos de potencial uso medicinal (Yoshikawa *et al.* 1995). Contudo, grande parte dos estudos já realizados referem-se a poucas espécies. As mais pesquisadas são *P. senega, P. japonica* Houtt e *P. tenuifolia* Willd. (Corner *et al.* 1962, Sakuma *et al.* 1981, Saitoh *et al.* 1993, Zhang *et al.* 1996, Lee *et al.* 1996, Ikeya *et al.* 2001, Chung *et al.* 2002, Park *et al.* 2002, Yabe *et al.* 2003). No Brasil, os estudos fitoquímicos levantados foram efetuados em *P. spectabilis* DC. (Andrade *et al.* 1977), *P. cyparissias* A.St.-Hil et Moq. (Campos *et al.* 1997), *P. paniculata* L. (Pizzolatti *et al.* 2002, Nogueira 2004) e *P. sabulosa* (Pizzolatti *et al.* 2004).

Polygala está muito bem estudado do ponto de vista taxonômico no Brasil, sendo elevado o número de trabalhos realizados por pesquisadores de diversas regiões do país (Marques 1979, 1988; Marques & Aguiar 2000, 2001, 2007; Aguiar & Marques 2001; Silva 2001; Marques & Gomes 2002; Lüdtke & Miotto 2004; Aguiar 2005; Lüdtke & Miotto 2007; Marques & Peixoto 2007; Aguiar *et al.* 2008; Lüdtke 2008; Aguiar & Aranha 2008), porém, sua anatomia é pouco conhecida e desta forma, pouco explorada em estudos que englobam o gênero.

Além do interesse medicinal ou estritamente taxonômico, o conhecimento sobre as espécies de *Polygala* é igualmente desejável do ponto de vista ecológico, pois suas espécies ocorrem em praticamente todas as formações vegetais do país (Marques 1979), o que faz deste gênero um objeto de pesquisa adequado para estudos comparados entre as distintas formações vegetais brasileiras.

Enquanto crescem os estudos fitoquímicos, ainda que em um número limitado de espécies, os trabalhos anatômicos em *Polygala* são escassos. Assim, as características morfológicas do gênero e os possíveis sítios de produção das substâncias de ação terapêutica são praticamente desconhecidos, o que evidencia a importância de investir esforços para ampliar os conhecimentos anatômicos de suas espécies.

Em sua extensa revisão sobre estudos anatômicos em dicotiledôneas, Solereder (1908) relatou a ocorrência de células oleíferas, receptáculos oleíferos e cavidades secretoras nos órgãos aéreos de espécies de Polygalaceae ("Polygaleae"). Para o lenho de *P. senega*, o autor questiona a ocorrência de células oleíferas. Atualizando a revisão efetuada por Solereder (1908), Metcalfe & Chalk (1950) referiram a presença de óleo no parênquima vascular e de uma substância de coloração amarelada no córtex primário da raiz de *P. senega. G*otas de óleo também foram citadas para a epiderme caulinar de algumas espécies de *Polygala*. Ductos e cavidades secretoras foram registrados para o caule e as folhas das espécies americanas do gênero.

Os trabalhos anatômicos em Polygalaceae publicados no século passado abordaram principalmente os órgãos reprodutivos de espécies americanas e européias (Milby 1976; VerkerKe & Bouman 1980; VerkerKe 1984, 1985, 1991; Erikssen 1993; Krüger & Pretorius 1997). É notável a escassez de pesquisas anatômicas sobre os órgãos vegetativos de espécies da família. Dickison (1973) efetuou um interessante estudo em *Xanthophyllum Roxb.* e constatou que a variação na estrutura foliar é taxonomicamente significante nesse gênero. Dentre os caracteres anatômicos analisados, destacam-se os idioblastos traqueoidais e as glândulas crateriformes. A presença destes idioblastos nas terminações vasculares auxiliou na circunscrição do gênero e o padrão de distribuição dos mesmos contribuiu para o agrupamento das espécies em nível subgenérico. Ressalta-se que os estudos citados acima não investigaram espécies brasileiras.

Esta tese é vinculada ao projeto temático intitulado "Composição florística, estrutura e funcionamento da Floresta Ombrófila Densa dos Núcleos Picinguaba e Santa Virgínia do Parque Estadual da Serra do Mar" (Biota/Fapesp proc. nº 03/12595-7), que reúne pesquisadores de vários centros de pesquisas das universidades paulistas sob a coordenação do Prof.

21

Dr. Carlos Alfredo Joly. Um inventário de caracteres morfológicos será realizado com o propósito de comparar as espécies da restinga do Núcleo Picinguaba (Ubatuba, SP) com as de fragmentos de cerrado (Itirapina e Moji Guaçu, SP) para verificar a ocorrência de padrões estruturais entre as espécies de *Polygala* que ocorrem nestas formações vegetais.

Tendo em vista a importância do gênero, sua ampla distribuição e a escassez de dados anatômicos, propõe-se neste trabalho estudar a estrutura anatômica dos órgãos vegetativos de cinco espécies de *Polygala* do estado de São Paulo, visando à elaboração de um inventário morfológico enfatizando as estruturas secretoras.

Objetivos

Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo contribuir para o conhecimento anatômico de cinco espécies de *Polygala* L., ocorrentes nas formações de restinga e de cerrado do estado de São Paulo, selecionadas com base nos levantamentos florísticos já realizados (Giannotti & Leitão Filho 1992, Mantovani & Martins 1993, Assis 1999) e na monografia da família para a Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo (Marques & Gomes 2002):

- Polygala angulata L. (subg. Polygala (Chodat) Paiva), campo cerrado da Estação
 Ecológica e Experimental de Itirapina, SP (Figuras 1-4);
- *P. cyparissias* A. St.-Hil. & Moq. (subg. *Polygala* (Chodat) Paiva), duna da Praia da
 Fazenda, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, SP (Figuras 5-7);
- *P. laureola* A. St.-Hil. & Moq. (subg. *Ligustrina* (Chodat) Paiva), margem da floresta da restinga na Praia da Fazenda, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, SP (Figuras 8-11);

- *P. paniculata* L. (subg. *Polygala* (Chodat) Paiva), campo brejoso da Praia da Fazenda, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, SP (Figuras 12-15);
- *P. violacea* Aubl. emend. Marq. (subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake), margem de cerradão da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu, SP (Figuras 16-19).

Um inventário das características morfológicas será efetuado nas espécies selecionadas e a estrutura do eixo vegetativo das cinco espécies descritas. Através de análise comparativa, pretende-se verificar a ocorrência de padrões estruturais comuns às espécies que ocorrem nas formações de restinga e de cerrado.

Objetivos específicos

- Efetuar um estudo morfológico e ontogenético das glândulas nodais de *P. laureola* com a finalidade de verificar sua origem, estrutura e função;
- Realizar um estudo das glândulas da inflorescência de *P. laureola* com o escopo de caracterizar sua morfologia e função;
- Caracterizar anatomicamente as estruturas secretoras do caule de *P. angulata* e identificar as principais classes de substâncias que compõem o exsudato por elas produzido, através da aplicação de testes histoquímicos convencionais;
- Realizar um inventário das características morfológicas e descrever o eixo vegetativo de *P. angulata*, *P. cyparissias*, *P. laureola*, *P. paniculata* e *P. violacea*.;
- Verificar a ocorrência de padrões estruturais comuns às espécies estudadas.

Estes objetivos específicos são abordados em cinco capítulos distintos e conjuntamente avaliados nas considerações finais:

1° Capítulo: Nectários extranupciais estipulares de *Polygala laureola* A.St.-Hil.
& Moq.: morfologia e ontogênese

2° Capítulo: Morfologia dos nectários extranupciais da inflorescência de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq.

3° Capítulo: Estrutura e histoquímica dos ductos mucilaginosos do caule de *Polygala angulata* L.

4° Capítulo: Anatomia do caule aéreo e sistema subterrâneo de cinco espécies de *Polygala*

5° Capítulo: Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* L. de restinga e de cerrado

ILUSTRAÇÕES

Figuras 1-4. *Polygala angulata* L. 1. População de campo cerrado (Itirapina, SP). 2-3. Vista geral de dois indivíduos em estádios de desenvolvimento distintos. 2. Indivíduo jovem; notar raiz principal. 3. Indivíduo adulto com sistema subterrâneo bem desenvolvido; notar ramificação. 4. Raiz gemífera. Escalas: 1= 10cm; 2= 2cm; 3= 5cm; 4= 5mm.



Figuras 5-7. *Polygala cyparissias* A.St.-Hil. & Moq. 5. População de duna (Ubatuba, SP). 6. Vista geral do hábito das plantas. 7. Detalhe em maior aumento, evidenciando as folhas aciculares (seta). Escalas: 1= 1m; 2= 6cm; 3= 5mm.



Figuras 8-11. *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. 8. População da margem da floresta da restinga na Praia da Fazenda (Ubatuba, SP). 9. Vista geral do hábito. 10. Indivíduo coletado evidenciando o sistema subterrâneo (seta). 11. Pormenor da figura 10; notar o sistema subterrâneo formado pelo sistema caulinar e radicular. 8-9= 15cm; 10= 10cm; 11= 3cm.



Figuras 12-15. *Polygala paniculata* L. 12. População de campo brejoso (Ubatuba, SP). 13. Indivíduo coletado evidenciando o sistema subterrâneo (seta). 14. Pormenor do órgão subterrâneo. 15. Indivíduo jovem com raiz pouco ramificada (seta). Escalas: 12= 5cm; 13=10cm; 14= 5cm; 15= 3cm.



Figuras 16-19. *Polygala violacea* Aubl. emend Marques. 16. Indivíduo coletado à margem do cerradão (Moji Guaçu, SP), evidenciando órgão subterrâneo constituído por raiz axial pivotante (seta). 17. Pormenor do sistema caulinar; notar folhas alternas com nastismo ascendente. 18-19. Pormenor da figura 16; notar raiz axial pivotante (seta). 19. Órgão subterrâneo; notar ramificações (seta). Escalas: 16= 2cm; 17=1cm; 18-19= 5mm.



1. Capítulo 1

Nectários extranupciais estipulares de Polygala laureola A.St.-Hil.

& Mog.: morfologia e ontogênese

Introdução

Nectários extranupciais (NENs) são definidos como estruturas secretoras que apresentam vasta variação morfológica (Bentley 1977, Metcalfe & Chalk 1979, Elias 1983, Oliveira & Leitão-Filho 1987, Koptur *et al.* 1998) e não estão envolvidos com a polinização (Schmid 1988, Galetto & Bernadello 1992, Kopter 1992, Díaz-Castelazo 2005). Tais estruturas ocorrem em folhas (incluindo pecíolo e estípulas), caules jovens e estruturas reprodutivas (Fahn 1979, Metcalfe & Chalk 1979, Elias & Bentley 1983, Rico-Gray 1993, Rico-Gray *et al.* 2004).

Os NENs estão amplamente distribuídos entre as angiospermas e são freqüentemente encontrados em espécies de Bignoniaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Passifloraceae, Poaceae, Polygonaceae e Turneraceae (Fahn 1979). No entanto, eles são pouco citados em Polygalaceae (Elias 1983, Marques & Peixoto 2007), ao contrário dos nectários nupciais (Marques 1979, Eriksen 1993, Paiva 1998, Eriksen & Persson 2007).

As glândulas nectaríferas despertam interesse devido ao seu valor taxonômico e ecológico, por este motivo existem análises que buscam compreender a relação inseto-planta na comunidade; particularmente, as formigas são cada vez mais investigadas (Bentley 1977; Keeler 1977, 1980; Elias 1983; Oliveira & Leitão Filho 1987; Galetto & Bernadello 1992; Rico-Gray *et al.* 2004; Díaz-Castelazo 2005). Marques & Peixoto (2007) identificaram as glândulas nodais presentes em *Polygala* subg. *Ligustrina* (Chodat) Paiva como nectários. Estas glândulas ocorrem em cinco dos sete gêneros da família em território brasileiro (Eriksen 1993, Marques 1996, Eriksen & Persson 2007, Marques & Peixoto 2007, Aguiar *et al.* 2008) e pouco se sabe sobre sua origem, estrutura e função. O que causa controvérsias nos dados obtidos de literatura: Dickison (1973) foi o primeiro a descrever a morfologia das glândulas nodais e a comprovar a sua relevância taxonômica para espécies de *Xanthophyllum* Roxb. Chodat (1891) considerou tais glândulas como estruturas foliares, enquanto Weberling (1974), Eriksen & Persson (2007) e Marques & Peixoto (2007) as consideraram como estruturas caulinares. Em nenhum dos estudos mencionados foram realizadas análises anatômicas para definir a origem destas glândulas, e nem pesquisada a composição do exsudato por elas secretado (Chodat 1891, Dickison 1973, Weberling 1974, Eriksen & Persson 2007, Marques & Peixoto 2007).

A identificação de uma estrutura secretora, como nectário, não pode ser determinada apenas pela morfologia que a estrutura apresenta, devendo ser também definida pela composição química da secreção produzida. Diversas vezes, as glândulas nectaríferas foram confundidas com coléteres, hidatódios ou elaióforos devido ao formato ou por serem registradas como tal em outras espécies do grupo (Schmid 1988). Um exemplo disto são as glândulas foliares de *Passiflora*, que em *Passiflora foetida* (Bertol.) Mast. são responsáveis pela produção de resina e nas demais espécies do gênero, secretam néctar (Durkee *et al.* 1984).

Diante da representatividade das glândulas nodais e da inexistência de trabalhos anatômicos relativos a estas estruturas em *Polygala* L., o objetivo da presente investigação é efetuar um estudo morfológico e ontogenético destas
glândulas em *Polygala laureola* A.St.-Hil & Moq., com o intuito de verificar sua origem, estrutura e função.

Material & métodos

Cinco indivíduos de *Polygala laureola* A.St.-Hil & Moq. foram coletados na margem da floresta da restinga na Praia da Fazenda, Núcleo Picinguaba, do Parque Estadual da Serra do Mar, Ubatuba, SP (23°27'S e 45°15'W). O material testemunha e suas respectivas identificações foram providenciados pela Ms. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias.

Dados referentes ao material testemunha são apresentados a seguir: *P. laureola*: Brasil: São Paulo, Ubatuba, Picinguaba, 25/IV/2005 A.C.Aguiar *et al.* 702 (UEC); 17/V/2005, A.C.Aguiar *et al.* 704 (UEC); 12/VII/2005, A.C.Aguiar *et al.* 706 (UEC); 30/X/2005; A.C.Aguiar *et al.* 710 (UEC); 01/XI/2005; A.C.Aguiar *et al.* 711 (UEC).

Um dos indivíduos coletados (A.C.Aguiar *et al.* 711) foi cultivado para observar a atividade secretora das glândulas nodais, na casa de vegetação do Departamento de Botânica, do Instituto de Biologia da Unicamp.

Para verificar a ocorrência de glicose na secreção, utilizou-se glicofita Plus, no habitat natural da espécie. Cinco indivíduos foram testados do primeiro nó visível ao décimo primeiro nó. As imagens do eixo caulinar (Figuras 1-5) foram obtidas em câmera digital Olympus C-170 4MP e trabalhadas no Microsot Office Picture Manager 2003.

Para o estudo de possíveis visitantes, três indivíduos de *P. laureola* foram marcados no campo e observados ao longo de quatro dias seguidos, durante o período de luminosidade (8:00-18:00h), nos meses de abril, julho, setembro, outubro e novembro. No período de seca, as glândulas não

apresentaram secreção. Quinze formigas visitando as glândulas e coletando o exsudato foram preservadas em etanol 70%, identificadas em nível de gênero *Paratrechina* (Formicinae, Formicidae) pelo Prof. Dr. Carlos Roberto Brandão do Museu de Zoologia da USP e amostra-testemunho depositada na coleção de Formicidae do Museu de Zoologia da USP.

Para o estudo em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), ramos caulinares vegetativos foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas, mantidos em vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, em seguida, estocados em etanol 70%. As amostras da região nodal de *P. laureola* foram isoladas e desidratadas em série etílica. Subseqüentemente, as peças foram secas pelo método do ponto crítico, montadas e metalizadas com ouro. As observações e captura das imagens (600 dpi) foram realizadas em microscópio JEOL JSM 5000LV a 20kV no Instituto de Química/Unicamp e processadas no programa Photoshop 7.0. As mensurações das glândulas foram efetuadas em 12 glândulas em fase secretora.

Para estudo estrutural, ramos caulinares vegetativos foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e em formalina neutra tamponada (FNT) por 48 horas (Lillie 1965), mantidos em vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente, estocados em etanol 70%.

O ápice caulinar vegetativo e a região nodal do primeiro ao décimo nó visíveis dos quatro indivíduos foram isolados, desidratados em série butílica (álcool butílico terciário; Johansen 1940) e incluídos em paraplast. Cortes seriados transversais e longitudinais (10-15µm de espessura) foram corados com Safranina e Azul de Astra (Gerlach 1969) e as lâminas montadas em resina sintética. Após a observação e a análise do laminário, o registro dos aspectos importantes foi efetuado em filme Kodak ProImage 100 utilizando-se microscópio Olympus BX51; as escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações. Alguns cortes foram submetidos à luz polarizada a fim de verificar a ocorrência de lignificação. Os negativos foram digitalizados e as imagens (600 dpi) processados no programa Photoshop 7.0.

Resultados

Dados macromorfológicos e observações de campo (Figuras 1-6)

Um par de glândulas é observado próximo à base do pecíolo (Figuras 1-3), ocupando posição nodal no eixo caulinar vegetativo (Figuras 1-5). A partir do primeiro nó visível, todas as glândulas apresentam atividade secretora (Figuras 1-2), que ocorrem simultaneamente ao longo de todo o dia. A quantidade do exsudato é mais profusa nas glândulas da quarta à sétima folha (Figuras 3-4) e menos profusa nas situadas entre a nona e a décima primeira (Figura 5).

A presença de glicose na secreção das glândulas nodais foi evidenciada pelo uso da glicofita. Indivíduos pertencentes à Formicidae, da subfamília Formicinae, gênero *Paratrechina* foram observados (Figura 6) coletando o exsudato (néctar) ao longo de todo o dia (8:00-18:00h). Estes indivíduos visitam todos os nectários (NENs) da planta, independentemente da quantidade de exsudato liberado, não permitem o acesso de outros animais. Mesmo quando não se consegue visualizar a secreção, as formigas visitam os nectários. Por volta das 18hs, quando o nastismo descendente é observado nas folhas, a quantidade de formigas patrulhando a planta diminui, embora o exsudato produzido pelos nectários permaneça profuso.

Dados micromorfológicos e ontogenéticos (Figuras 7-26) Nectário em fase secretora (Figuras 7-10) O nectário tem formato cilíndrico, com aproximadamente 7-8mm de comprimento e 4-5mm de largura; nas regiões mediana e basal, nota-se que há um escasso indumento, constituído por tricomas não glandulares de ápice agudo (Figura 7). Na região apical, observa-se uma concavidade com um orifício em posição central (Figura 8); através deste orifício, a secreção é liberada para o ambiente (Figuras 9-10). Hifas de fungo podem ser encontradas sobre a superfície epidérmica e, também, próximas ao orifício central do nectário (Figuras 9-10).

Ontogênese do nectário (Figuras 11-14)

No início do seu desenvolvimento, o formato das glândulas em estádio meristemático é semelhante ao das glândulas em fase secretora (Figuras 11, 15); na fase pré-secretora todos os tecidos ainda são meristemáticos, evidenciando-se a protoderme, o meristema fundamental e o procâmbio (Figuras 11-14).

Através da análise dos cortes seriados do ápice caulinar vegetativo, foi possível constatar que os nectários têm origem foliar e não caulinar. Posicionadas no primórdio caulinar (Figura 11), as glândulas recebem um cordão procambial oriundo do traço foliar (Figuras 13-14) na altura da lacuna (Figura 11). Desta forma, cada primórdio foliar está conectado a um par de glândulas; com a expansão dos órgãos vegetativos, os nectários são deslocados para o eixo caulinar e ocupam a posição nodal (Figura 4).

Estrutura do nectário diferenciado (Figuras 15-26)

Epiderme - A epiderme é unisseriada e nenhum estômato é evidenciado ao longo de toda sua extensão (Figuras 15-18, 24-26). Na região apical do nectário, a epiderme em paliçada delimita um orifício que se prolonga sob a forma de um canal central; as paredes periclinais e anticlinais das células epidérmicas são incrustadas por cutina (Figuras 15-16, 24-26). Nas regiões mediana e basal do nectário, a cutina é observada apenas na parede periclinal externa das células epidérmicas (Figuras 15, 17-18).

Tecido fundamental e secretor - No parênquima não são observados elementos de sustentação entre as células parenquimáticas (Figuras 15, 19-20). As células nectaríferas são pequenas, possuem paredes finas e núcleo proeminente (Figuras 15, 24-25). Elas ocupam a porção central nas regiões apical e mediana da glândula (Figuras 15-17) e estão delimitadas pela epiderme na região apical (Figuras 16, 24-25), pelo floema na região mediana (Figura 17) e pelo xilema na região basal da glândula (Figura 23). As células nectaríferas secretam o exsudato no canal apical e o néctar é liberado para o ambiente através do orifício existente no ápice glandular (Figuras 24-25).

Tecido vascular - O nectário é vascularizado por um único feixe, situado em posição central (Figuras 15, 18, 20, 23). Na região basal, o feixe é anficrival (Figuras 18, 20, 23) e na região mediana é constituído apenas por floema que envolve as células secretoras (Figura 17).

<u>ILUSTRAÇÕES</u>

Figuras 1-6. Glândulas em fase secretora ocupando posição nodal de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 711). 1. Primeira à terceira folha e ramo da inflorescência. 3. Quarta a sétima folha; notar a maior produção de secreção nas glândulas do sétimo nó. 2,4. Pormenor das Figuras 1 e 3 respectivamente. 5. Décima (seta) e décima primeira folha. 6. Indivíduos de *Paratrechina* sp. coletam néctar nas glândulas do quarto nó. Escalas: 1= 5mm; 2= 2mm; 3= 7mm; 4= 10mm; 5-6= 7mm.



Figuras 7-10. Nectário extranupcial estipular em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. observado em MEV (A.C.Aguiar *et al.* 702). 7. Vista geral do nectário; observar tricomas unicelulares de ápice agudo. 8. Notar abertura do canal (orifício) pelo qual o néctar é liberado. 9-10. Hifas de fungo e secreção acumulados junto ao orifício. 9-10. Pormenor da Figura 9.



Figuras 11-14. Nectário extranupcial em fase pré-secretora na gema apical de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 702). 11. Glândula localizada em oposição à lacuna foliar. 12-14. Cordão procambial ligando o nectário ao traço foliar (seta). 11-14. Corte transversal. Escalas: 11-14=50µm.



Figuras 15-18. Nectário extranupcial estipular em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 702). 15. Aspecto geral do nectário. 16. Região apical, notar tecido secretor (seta). 17. Região mediana, notar floema ao redor do tecido secretor com hifas de fungo (seta). 18. Região basal, notar feixe anficrival (seta). 15. Corte longitudinal. 16-18. Corte transversal. Escalas: 15=40µm, 16-18=50µm.



Figuras 19-23. Nectário extranupcial estipular em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. em luz polarizada (A.C.Aguiar *et al.* 702). 19-20. Aspecto geral do nectário; região apical (19) e basal (20). 21-23. Região apical (21), mediana (22) e basal (23) do nectário. 20, 23. Notar xilema (seta). 19-20. Corte longitudinal. 21-23. Corte transversal. Escalas: 19-20=40µm, 21-23=50µm.



Figuras 24-26. Região apical do nectário extranupcial estipular em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 702). 24-25. Epiderme em paliçada delimita o canal e o orifício pelo qual o néctar é liberado; notar continuidade entre as células secretoras e o canal (seta). 26. Vista tangencial; notar epiderme em paliçada com paredes espessadas incrustadas de cutina (setas). 24-26. Corte longitudinal. Escalas: 24-26=20µm.



Discussão

A presença de nectários estipulares ocupando posição nodal é um dado inédito para *Polygala*. Marques & Peixoto (2007), ao estudarem *Polygala* subg. *Ligustrina* (Chodat) Paiva, interpretaram estas glândulas como nectários, porém as consideraram pertencentes ao caule e não à folha.

Neste estudo, tais estruturas são interpretadas como sendo de origem foliar em *P. laureola* por apresentarem sua vascularização ligada ao traço foliar, sendo duas glândulas por nó. A presença de tricomas fortalece a evidência de que estas glândulas são peças modificadas. Com a constatação da presença de glicose na secreção das glândulas estipulares e o registro de formigas coletando este néctar, estas glândulas foram identificadas como nectários extranupciais.

Segundo Fahn (2000), a liberação do néctar pode ocorrer através de estômatos, de tricomas ou por ruptura da cutícula. Em *Chamaecrista trichopoda* (Benth.) Britton & Killip. (Leguminosae), Francino *et al.* (2006) observaram poros na superfície do nectário foliar que podem ser sítios preferenciais para liberação do néctar.

O nectário extranupcial estipular de *P. laureola* apresenta epiderme em paliçada e libera o néctar pelo orifício localizado na porção central da região apical da glândula. A secreção é liberada para o meio externo através da corrente transpiratória, passando das células secretoras para o canal e deste para o orifício. A incrustação por cutina observada nas paredes das células epidérmicas impede que a secreção seja liberada de outras maneiras, sendo translocada para o único orifício existente. A presença de tricomas fortalece a evidência de que estas glândulas são peças modificadas. A distribuição e a organização dos tecidos vasculares dos nectários de *P. laureola* apresentam aspectos muito particulares. O xilema está presente somente na base da glândula; nas demais regiões, apenas o floema envolve o tecido secretor. Já nos nectários de *Chamaecrista trichopoda*, o xilema estende-se até o ápice do nectário (Francino *et al.* 2006).

Morfologicamente, os NENs de *P. laureola* apresentam algumas semelhanças, como formato cilíndrico, com as glândulas calicinais (elaióforos) de *Dinemandra ericoides* Adr. Juss. (Malpighiaceae) (Cocucci *et al.* 1996). Esta similaridade é um dado interessante, já que com base em análises morfológicas Malpighiaceae já foi considerada próxima de Polygalaceae, em Polygalales no conceito de Cronquist (1981).

A presença de nectários extranupciais de origem estipular em Polygalaceae é um resultado de grande relevância para os estudos filogenéticos; de acordo com análises que englobaram dados moleculares e morfológicos, esta família está atualmente incluída junto às Leguminosae em Fabales (APG II 2003). Deve-se ressaltar que a presença de estípulas era um dos caracteres distintivos entre Leguminosae e Polygalaceae até o presente trabalho.

Análises moleculares realizadas por Eriksen & Persson (2007), aliadas às análises morfológicas, evidenciaram que as glândulas nodais presentes em espécies de um dos três subgêneros de *Monnina* Ruiz. & Pav. (Polygalaceae) corroboraram a separação destas espécies das que não apresentam tais estruturas; conseqüentemente, a proposta de Eriksen (1993) de elevar o subgênero *Pterocarya* DC. a gênero, denominado *Pteromonnina* B. Eriksen (Polygalaceae) foi sustentada, tendo como base a presença ou ausência das glândulas nodais. A interação inseto-planta é facilmente observada entre os indivíduos de formigas do gênero *Paratrechina*, que coletam o néctar secretado por *P. laureola* na restinga do núcleo Picinguaba (Ubatuba, SP). A presença de NENs possibilita a relação mutualística entre plantas e determinados insetos, especialmente formigas. Estas desempenham uma importante função na proteção contra a herbivoria, além de deterem outros organismos que reduzem a capacidade reprodutiva das plantas (Bentley 1977, Keeler 1980, Elias 1983).

A presença de estípulas modificadas em nectários em *P. laureola* evidencia a importância de ampliar os estudos anatômicos com o intuito de verificar se esta ocorrência é um caso isolado ou se estípulas modificadas estão presentes em outras espécies e/ou gêneros que apresentam glândulas nodais na família. Ressalta-se, também, a importância de investigar as interações inseto-planta em espécies que possuem glândulas nodais, a fim de verificar a ocorrência de padrões. Todas as evidências levantadas neste estudo apontam para a importância deste caráter em Polygalaceae.

Referências bibliográficas

- AGUIAR, A.C.A.; MARQUES, M.C.M. & YAMAMOTO, K. 2008. Taxonomia das espécies de *Polygala* L. subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) ocorrentes no Brasil. Revista Brasileira de Biociências 6: 91-109.
- APG-II (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 1-399.
- BENTLEY, B.L. 1977. Extrafloral nectaries and protection by pugnancius bodyguards. Annual Review of Ecology 8: 407-428.
- COCUCCI, A.A.; HOLGADO, A.M. & ANTON, A.M. 1996. Estudio morfológico y anatómico de los eleóforos pedicelados de *Dinemandra ericoides*,

Malpiguiácea endémica del desierto de Atacama, Chile. Darwiniana 34: 183-192.

- CHODAT, R. 1891. Monographia Polygalacearum. I. Mémories de la Soviété de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève 31: 1-143.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- DÍAZ-CASTELAZO, C.; RICO-GRAY, V.; ORTEGA, F. & ANGELES, G. 2005. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. Annals of Botany 96: 1175-1189.
- DICKISON, W.C. 1973. Nodal and leaf anatomy of *Xantophyllum* (Polygalaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 67: 103-115.
- DURKEE, L.T.; BAIRD, C.W. & COHEN, P.F. 1984. Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae). American Journal of Botany 71: 596-602.
- ELIAS, T.S. 1983. Extrafloral nectaries their structure and distribution. *In* The biology of nectaries (B.L. Bentley & T.S. Elias, eds.). Columbia University Press, New York, p.74-203.
- ELIAS, T.S. & BENTLEY, B.L. 1983. The biology of nectaries. Columbia University Press, New York.
- ERIKSEN, B. 1993. Phylogeny of the Polygalaceae and its taxonomics implications. Plant Systematics and Evolution 186: 33-55.
- ERIKSEN, B. & PERSSON, C. 2007. Polygalaceae. *In* The families and genera of vascular plants (K. Kubitzki, ed.). Springer-Verlag, Berlin, v.9, p.345-363.

FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.

FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. Advances in Botanical Researchs 31: 37-75.

- FRANCINO, D.M.T.; SANTANA-SANTOS, B.F.; SILVA, K.L.F.; THADEO, M.; MEIRA, R.M.S.A. & AZEVEDO, A.A. 2006. Anatomia foliar e caulinar de *Chamaecrista trichopoda* (Caesalpinioideae) e histoquímica do nectário extrafloral. Planta Daninha 24: 695-705.
- GALETTO, L. & BERNARDELLO, L.M. 1992. Extrafloral nectaries that attract ant in Bromeliaceae: structure and nectar composition. Canadian Journal of Botany 70: 1101-1105.
- GERLACH, D. 1969. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. Georg Thieme, Stuttgart.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- KEELER, K.H. 1977. The extrafloral nectaries of *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). American Journal of Botany 64: 1182-1188.
- KEELER, K.H. 1980. The extrafloral nectaries of *Ipomoea leptophylla* (Convolvulaceae). American Journal of Botany 67: 216-222.
- KOPTUR, S. 1992. Plants with extrafloral nectaries and ants in everglades habitats. Florida Entomologist 75: 38-50.
- KOPTUR, S.; RICO-GRAY, V. & PALACIOS-RIOS, M. 1998. Ant protection of the nectaried fern *Polypodium plebeium* in central Mexico. American Journal of Botany 85: 736-739.
- LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and pratical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- MARQUES, M.C.M. 1979. Revisão das espécies do gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) do estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia 31: 69-339.
- MARQUES, M.C.M. 1996. *Securidaca* L. (Polygalaceae) do Brasil. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 34:7-144.

- MARQUES, M.C.M. & PEIXOTO, A.L. 2007. Estudo taxonômico do gênero
 Polygala L. subgênero *Ligustrina* (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Rodriguésia
 58: 95-146.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. V.1, Clarendon Press, Oxford.
- OLIVEIRA, P.S. & LEITÃO FILHO, H.F. 1987. Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in southeast Brazil. Biotropica 19: 140-148.
- PAIVA, J. 1998. Polygalarum Africanarum et Madagascariensium prodromus atque gerontogaei generis *Heterosamara* Kuntze, a genere *Polygala* L. segregati et a nobis denus recepti, Synopsis Monogr. Fontqueira 50: 1-347.
- RICO-GRAY, V. 1993. Use of plant-derived food resources by ants in the dry tropical lowlands of coastal Veracruz, Mexico. Biotropica 25: 301-315.
- RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P.S.; PARRA-TABLA, V.; CUAUTLE, M. & DIAS-CASTELAZO, C. 2004. Ant-plant interactions: their seasonal variation and effectis on plant fitnees. *In* Coastal dunes, ecology and conservation. Ecological studies (M.L. Martínez, N. Psuty, eds.). Springer-Verlag, Berlin.
- SCHMID, R. 1988. Reproductive versus extra-reproductive nectaries historical perspective and terminological recommendations. The Botanical Review 54: 179-232.
- WEBERLING, F. 1974. Weitere Untersuchengen zur Morphologie des Unterblattes bei den Dikotylen. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 50: 277-289.

2. Capítulo 2

Morfologia dos nectários extranupciais da inflorescência de

Polygala laureola A.St.-Hil. & Moq.

Introdução

Polygalaceae é investigada há aproximadamente dois séculos por apresentar compostos químicos utilizados na produção de medicamentos (Chodat 1891, Paiva 1998, Pizzolatti *et al.* 2002, 2004). Solereder (1908) já relatava a ocorrência de células oleíferas, receptáculos oleíferos e cavidades secretoras nos órgãos aéreos de espécies de Polygalaceae.

Os trabalhos anatômicos em Polygalaceae abordam principalmente os órgãos reprodutivos (Milby 1976; Verkerke & Bouman 1980; Verkerke 1984; Erikssen 1993; Krüger & Pretorius 1997). Porém, existe uma escassez de dados sobre as estruturas secretoras tanto em órgãos reprodutivos quanto vegetativos nas espécies brasileiras desta família.

Dentre as estruturas abundantes e pouco estudadas nas espécies brasileiras estão as glândulas presentes no eixo da inflorescência. Geralmente, estas estruturas são semelhantes às observadas no eixo vegetativo (Marques 1979, Eriksen 1993, Eriksen & Persson 2006, Marques & Peixoto 2007) e poderiam ser utilizadas nos estudos taxonômicos do grupo.

Em território brasileiro, as glândulas da raque da inflorescência estão representadas em cinco dos sete gêneros, entre eles *Polygala* L. (Eriksen 1993). Estes gêneros ocorrem em diversas formações vegetais, tais como florestas, tanto primárias quanto secundárias, cerrado, caatinga e campo. De acordo com a espécie, podem existir duas ou apenas uma glândula na base de cada flor (Marques 1996, Aguiar 2005, Marques & Peixoto 2007). Segundo Cocucci *et al.* (1996), tais glândulas apresentam semelhanças estruturais com as glândulas calicinais de *Dinemandra ericoides* (Malpiguiaceae) família que pertence à ordem Polygalales, junto com Polygalaceae, no conceito de Cronquist (1981).

Marques & Peixoto (2007) descreveram como nectários as glândulas ocorrentes no eixo vegetativo e utilizaram tais estruturas como caráter diagnóstico, em nível específico em *Polygala* subg. *Ligustrina*. Dentre os estudos realizados em Polygalaceae, os nectários florais são as estruturas mais citadas, representados a maioria das vezes por um anel secretor, situado abaixo do ovário (Marques 1979, Eriksen 1993, Paiva 1998, Eriksen & Persson 2006, Marques & Peixoto 2007, Castro *et al.* 2008), entretanto, não foram investigadas anatomicamente.

Diante da ampla representatividade destas glândulas no eixo reprodutivo em Polygalaceae e dos escassos trabalhos anatômicos que possam auxiliar no conhecimento da família, este trabalho tem como objetivo desenvolver um estudo das glândulas da inflorescência de *Polygala laureola* A.St.-Hil & Moq. com o intuito de caracterizar sua morfologia e função.

Materiais & métodos

Cinco indivíduos de *Polygala laureola* A.St.-Hil & Moq. foram coletados na margem da floresta da restinga na Praia da Fazenda, Núcleo Picinguaba, do Parque Estadual da Serra do Mar, Ubatuba, SP (23°27'S e 45°15'W). O material testemunha e suas respectivas identificações foram providenciados pela Ms. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias.

Dados referentes ao material testemunha providenciado são apresentados a seguir: *P. laureola*: Brasil: São Paulo, Ubatuba, Picinguaba. 25.IV.2005, A.C.Aguiar *et al.* 702 (UEC); 17.V.2005, A.C.Aguiar *et al.* 704 (UEC); 12.VII.2005, A.C.Aguiar *et al.* 706 (UEC); 30.X.2005, A.C.Aguiar *et al.* 710 (UEC); 01.XI.2005, A.C.Aguiar *et al.* 711 (UEC). Um dos indivíduos coletados (A.C.Aguiar *et al.* 711) foi mantido vivo, para observar a atividade secretora das glândulas, na casa de vegetação do Departamento de Botânica, do Instituto de Biologia da Unicamp.

Para verificar a ocorrência de glicose na secreção, utilizou-se glicofita Plus, no habitat natural da espécie. Cinco indivíduos foram testados do primeiro botão floral visível ao fruto em desenvolvimento. As imagens do eixo caulinar (Figuras 1-5) foram obtidas em câmara digital Olympus C-170 4MP e trabalhadas no Microsot Office Picture Manager 2003.

Para o estudo de possíveis visitantes, três indivíduos de *P. laureola* foram marcados no campo e observados ao longo de quatro dias seguidos, durante o período de luminosidade (8:00-18:00h), nos meses de abril, julho, setembro e outubro. No período de seca, as glândulas não apresentam secreção. Quinze formigas visitando as glândulas e coletando o exsudato foram preservadas em etanol 70%, identificadas em nível de gênero - *Paratrechina* (Forminae, Formicidae) pelo Prof. Dr. Carlos Roberto Brandão do Museu de Zoologia da USP e a amostra-testemunho foi depositada na coleção de Formicidae do Museu de Zoologia da USP.

Para o estudo em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), ápices reprodutivos e regiões da inflorescência, desde o botão floral ao fruto, foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas, mantidos em vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente, estocados em etanol 70%. Amostras da região onde as glândulas estão localizadas nas inflorescências de *P. laureola* foram isoladas e desidratadas em série etílica. Subseqüentemente, as peças foram secas pelo método do ponto crítico, montadas e metalizadas com ouro. As observações e captura das imagens (600 dpi) foram realizadas em microscópio JEOL JSM 5000LV a 20kV e processadas no programa Photoshop 7.0. As mensurações das glândulas foram efetuadas em 12 glândulas em fase secretora.

Para estudo estrutural, ápices reprodutivos e regiões da inflorescência desde o botão floral ao fruto foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e em formalina neutra tamponada (FNT) por 48 horas (Lillie 1965), mantidos em vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente, estocados em etanol 70%.

Estes ápices reprodutivos e regiões da inflorescência desde o botão floral ao fruto foram isolados. A seguir, os materiais foram desidratados em série butílica (álcool butílico terciário; Johansen 1940) e incluídos em paraplast. Cortes seriados transversais e longitudinais (10-15µm de espessura) foram corados com Safranina e Azul de Astra (Gerlach 1969) e as lâminas montadas em resina sintética.

Após observação e análise do laminário, o registro dos aspectos importantes foi efetuado em filme Kodak ProImage 100 utilizando-se microscópio Olympus BX51; as escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações. Alguns cortes foram submetidos à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares de natureza birrefringente. Os negativos foram digitalizados e as imagens (600dpi) processadas no Photoshop 7.0.

Resultados

Dados macromorfológicos e observação de campo (Figuras 1-5)

As inflorescências de *Polygala laureola* estão localizadas inicialmente no ápice do eixo caulinar e, com o crescimento de novas gemas apicais, as inflorescências tornam-se laterais e axilares (Figuras 1-2). Uma glândula é observada próximo à base de cada botão floral (Figuras 2-3), apresentando formato semelhante às glândulas do eixo vegetativo. A atividade secretora destas glândulas tem início quando as flores atingem a fase de antese e permanece durante o desenvolvimento dos frutos (Figuras 4-5). As glândulas secretam simultaneamente ao longo de todo o dia e o exsudato se deposita praticamente por toda a raque; no entanto, a quantidade do exsudato é mais profusa na região em que os frutos já se desenvolveram (Figuras 4-5).

A presença de glicose na secreção das glândulas foi evidenciada pelo uso da glicofita. Indivíduos de *Paratrechina* sp. coletando o néctar ao longo do dia (8:00-18:00h) vem corroborar esta presença. Estes indivíduos visitam todos os nectários da planta, independente da quantidade de exsudato liberado, não permitindo o acesso de outros animais. Mesmo quando não se consegue visualizar a secreção, as formigas visitam os nectários. Por volta das 18hs, a quantidade de formigas patrulhando as glândulas da inflorescência diminui, mas o exsudato produzido pelos nectários permanece profuso.

Dados micromorfológicos (Figuras 6-25)

Nectários em desenvolvimento (Figuras 6-11)

O desenvolvimento da glândula inicia-se na fase da pré-antese floral e o nectário tem formato arredondado (Figuras 6-7). Dois nós abaixo do ápice, a glândula apresenta um achatamento em sua região apical (Figura 8). A partir do quarto nó, é iniciado o processo de alongamento (Figuras 9-11) que continuará até a total formação da estrutura, que possui um orifício na região apical (Figuras 10-11).

Nectários em fase secretora (Figuras 12-25)

O nectário tem formato cilíndrico, com aproximadamente 6-7mm de comprimento e 5-6mm de largura; nas regiões mediana e basal (Figura 12), nota-se que há um escasso indumento constituído por tricomas não glandulares de ápice agudo e a presença de papilas próximo ao ápice. Na região apical (Figura 13), uma concavidade com um orifício de posição central é observada (Figura 14-15); através deste orifício, a secreção é liberada para o ambiente (Figura 15).

Estrutura do nectário diferenciado

Epiderme - A epiderme é unisseriada e nenhum estômato é evidenciado ao longo de toda sua extensão (Figuras 16-20). Na região apical do nectário, a epiderme em paliçada delimita um orifício que se prolonga sob a forma de um canal central; as paredes periclinais e anticlinais das células epidérmicas são incrustadas por cutina (Figuras 16-17, 21, 23). Nas regiões mediana e basal do nectário, a cutina é observada apenas na parede periclinal externa das células epidérmicas (Figuras 17, 19-20).

Tecido fundamental e secretor - No parênquima não são observados elementos de sustentação entre as células parenquimáticas (Figuras 16-19, 21, 23-24). As células nectaríferas são pequenas, possuem paredes finas e núcleo proeminente (Figura 16) e estão localizadas na porção central das regiões apical e mediana da glândula (Figuras 16-17). Tais células são delimitadas pela epiderme na região apical (Figura 16), pelo floema na região mediana (Figura 19) e pelo xilema na região basal da glândula (Figuras 20, 25). As células nectaríferas secretam o exsudato no canal apical e o néctar é liberado para o ambiente através do orifício existente no ápice glandular (Figura 16).

Tecido vascular - O nectário é vascularizado por um único feixe, situado em posição central (Figuras 16-17, 19-20). Na região basal, o feixe é anficrival (Figuras 22, 25) e na região mediana é constituído apenas por floema que envolve as células secretoras (Figura 19).

ILUSTRAÇÕES

Figuras 1-5. Glândulas secretoras no eixo reprodutivo de *Polygala laureola* A.St.Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710). 1. Indivíduo adulto com inflorescências axilares (seta) e terminais (seta). 2. Pormenor da figura 1; inflorescência terminal jovem. 3. Pormenor da Figura 2; notar glândulas em fase présecretora (seta). 4. Eixo reprodutivo axilar em frutificação; notar glândulas ao longo do eixo. 5. Pormenor da Figura 4; notar secreção no ápice da glândula (seta). Escalas: 1=10cm; 2= 5mm; 3= 2mm; 4= 1cm; 1,5cm.



Figuras 6-11. Nectário extranupcial em diferentes fases de desenvolvimento de *Polygala laureola* A.St.Hil. & Moq. observado em MEV (A.C.Aguiar *et al.* 710). 6. Fase inicial, nectário tem formato arredondado (seta) e está localizado abaixo da bráctea. 7. Pormenor da Figura 6. 8. Ápice do nectário em processo de achatamento. 9-11. Crescimento em comprimento do nectário. 10-11. Início da formação do orifício pelo qual o néctar será liberado. Abreviações: B= bráctea, Bt=botão floral, N= nectário, Se= sépala externa. Escalas: 6, 10=200µm; 7-9=50µm; 11=100µm.



Figuras 12-15. Nectário extranupcial em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710) observado em MEV. 12. Vista geral do nectário; notar tricomas. 13-15. Pormenores da Figura 3; notar abertura do orifício pelo qual o néctar é liberado. Escalas: 12=100µm; 13-14=50µm; 15= 20µm.


Figuras 16-20. Nectário extranupcial em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710). 16-17. Aspecto geral do nectário; 18. Região apical, notar tecido secretor (seta). 19. Região mediana, notar floema ao redor do tecido secretor (seta). 20. Região basal, notar feixe anficrival (seta). 16-17. Corte longitudinal. 18-20. Corte transversal. Escalas: 16-17= 40µm; 18-20= 50µm.



Figuras 21-25. Nectário extranupcial em fase secretora de *Polygala laureola* A.St.Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710) em luz polarizada. 21-22. Aspecto geral do nectário; região apical (21) e basal (22). 23-25. Região apical (23), mediana (24) e basal (25) do nectário. 22, 25. Notar xilema (seta). 21-22. Corte longitudinal. 23-25. Corte transversal. Escalas: 21-22= 40µm; 23-25= 50µm.



Discussão

A caracterização das glândulas como nectários extranupciais no eixo reprodutivo é um dado inédito para *Polygala*. Apesar de serem morfologicamente semelhantes às glândulas observadas no eixo vegetativo, estas estruturas são pouco citadas em estudos taxonômicos (Eriksen & Persson 2007).

Apenas uma glândula na base de cada flor é observada, ao contrário do que foi observado nos órgãos vegetativos de *P. laureola*, que possui dois nectários estipulares na região nodal (Capítulo 1). A secreção destas estruturas é tão profusa quanto a dos nectários estipulares. Nos gêneros que possuem este tipo de glândula na inflorescência, o número pode variar de uma ou duas glândulas por flor. O fato de ter sido observado apenas uma glândula na base de cada flor não pode ser considerado um padrão dentre as espécies. Em espécies de *Securidaca* e d*e Polygala* subg. *Ligustrina*, a variação no número de glândulas possibilita o seu uso como caráter diagnóstico entre as espécies do grupo (Marques 1996, Marques e Peixoto 2007).

A constatação de glicose na secreção dessas glândulas, o registro da ocorrência de formigas coletando néctar e a presença de floema em torno do tecido secretor contribuem positivamente para que estas sejam identificadas como nectários extranupciais - NENs. Marques & Peixoto (2007) descreveram as glândulas nodais de *Polygala* subg. *Ligustrina* como nectários, porém, não mencionaram sobre o exsudato das glândulas presentes nos órgãos reprodutivos. A ausência de tal informação também foi observada em outros trabalhos taxonômicos; em alguns estudos analisados, como os de Eriksen (1993) e Eriksen & Persson (2006), as glândulas da inflorescência não foram citadas. A presença de NENs possibilita a relação mutualística entre a planta e determinados insetos, especialmente as formigas que desempenham uma importante função na proteção contra a herbivoria, além de impedirem a ação de outros insetos que reduzem a capacidade reprodutiva da planta (Bentley 1977, Elias 1983).

A posição ocupada pelos NENs na raque da inflorescência pode estar relacionada com a proteção contra herbivoria e com a dispersão das sementes de *P. laureola.* Tais estruturas, posicionadas na base de cada flor, permanecem ativas até a deiscência dos frutos, sendo que o exsudato recobre toda a raque especialmente na área frutificada. As sementes desta espécie apresentam carúnculas ricas em lipídios, que auxiliam na atração das formigas (Paiva 1998, Marques & Peixoto 2007). Os indivíduos de *Paratrechina* que coletam néctar em *P. laureola* pertencem a uma das quatro subfamílias (Formicinae) e existem registros que confirmam seu envolvolvimento na dispersão de sementes da família (Forest *et al.* 2007).

A coevolução de plantas e formigas envolvendo o sistema de recompensa (néctar extrafloral e sementes com elaiossomos) e serviços (defesa e dispersão) tem proporcionado uma elaborada e complexa interação mutualística (Beattie & Hughes 2002, Cuautle *et al.* 2005). Em *P. laureola*, tanto os NENs quanto as sementes com elaiossomos estão presentes em um mesmo órgão. Diante destas observações, sugere-se que tais estruturas possam estar ligadas à defesa e dispersão através da relação mutualística com as formigas.

Os nectários do eixo da inflorescência de *P. laureola* possuem morfologia externa, assim como via de liberação de néctar e organização dos tecidos vasculares semelhantes aos nectários estipulares que ocupam posição nodal nesta espécie (Capítulo 1). O xilema está presente somente na base da glândula. Nas demais regiões, apenas o floema é observado ao redor do tecido secretor. Segundo Fahn (2000), a liberação do néctar pode ocorrer por estômatos ou pelo rompimento da cutícula e os nectários podem ser vascularizados apenas por floema.

Além da semelhança com os nectários estipulares, os nectários da raque da inflorescência de *P. laureola* apresentam semelhanças na morfologia externa com os elaióforos calicinais de *Dinemandra ericoides* (Malpighiaceae) (Cocucci *et al.* 1996) e com os nectários extranupciais peciolares de *Chamaecrista trichopoda* (Benth.) Britton & Killip (Leguminosae) (Francino *et al.* 2006), espécies pertencentes as famílias consideradas próximas de Polygalaceae (Malpighiaceae - Cronquist 1981, Leguminosae - APG II 2003).

Nectários e elaióforos podem apresentar estrutura similar, a diferença essencial entre estas glândulas reside no produto que secretam (Schmid 1988). Estas semelhanças morfológicas são evidenciadas em espécies pertencentes a famílias consideradas próximas de Polygalaceae, o que justifica o aumento do número de espécies a serem analisadas para que possam ser associadas a pesquisas baseadas em análises moleculares futuramente.

Através deste estudo, iniciou-se uma investigação sobre a morfologia das glândulas do eixo reprodutivo de Polygalaceae. Em *P. laureola,* estas glândulas são identificadas como nectários, secretando exsudato semelhante ao das glândulas estipulares. Este aspecto não pode ser generalizado e a investigação deve ser estendida às demais espécies que apresentam tais glândulas. Diante da realização de um inventário, as questões levantadas poderão ser esclarecidas, verificando se há relação das glândulas dos órgãos vegetativos com as dos reprodutivos.

Referências bibliográficas

- AGUIAR, A.C.A. 2005. Estudos taxonômicos sobre o gênero *Polygala* subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) no Brasil. Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- APG-II (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 1-399.
- BEATTIE, A.J. & HUGHES, L. 2002. Ant-plant interactions. In Plant-animal interactions (C.M. Herrera & O. Pellmyr, eds.). Blackwell, Oxford, p. 211-235.
- BENTLEY, B.L. 1977. Extrafloral nectaries and protection by pugnancius bodyguards. Annual Review of Ecology 8: 407-428.
- CASTRO, S.; SILVEIRA, P. & NAVARRO, L. 2008. How flower biology and breeding system affect the reproductive sucess of the narrow endemic *Polygala varyedae* Costa (Polygalaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 157: 67-81.
- COCUCCI, A.A.; HOLGADO, A.M. & ANTON, A.M. 1996. Estudio morfológico y anatómico de los eleóforos pedicelados de *Dinemandra ericoides*, Malpiguiácea endémica del desierto de Atacama, Chile. Darwiniana 34: 183-192.
- CHODAT, R. 1891. Monographia Polygalacearum. I. Mémories de la Soviété de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève 31: 1-143.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- CUAUTLE, M.; RICO-GRAY, V. & DIAZ-CASTELAZO, C. 2005. Effects of ant behaviour and presence of extrafloral nectaries on seed dispersal of

Neotropical myrmecohore *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae). Botanical Journal of the Linnean Society 86: 67-77.

- ELIAS, T.S. 1983. Extrafloral nectaries their structure and distribution. *In* The biology of nectaries (B.L. Bentley & T.S. Elias, eds.). Columbia University Press, New York, p.74-203.
- ERIKSEN, B. 1993. Phylogeny of the Polygalaceae and its taxonomics implications. Plant Systematics and Evolution 186: 33-55.
- ERIKSEN, B. & PERSSON, C. 2007. Polygalaceae. *In* The families and genera of vascular plants (K. Kubitzki, ed.). Springer-Verlag, Berlin, V.9, p.345-363.
- FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. Advances in Botanical Researchs 31: 37-75.
- FOREST, F.; CHASE, M.W.; PERSSON, C.; CRANE, P.R. & HAWKINS, J.A. 2007. The role of biotic and abiotic factors in evolution of ant dispersal in the milkwort family (Polygalaceae). Evolution 61: 1675-1694.
- FRANCINO, D.M.T.; SANTANA-SANTOS, B.F.; SILVA, K.L.F.; THADEO, M.; MEIRA, R.M.S.A. & AZEVEDO, A.A. 2006. Anatomia foliar e caulinar de *Chamaecrista trichopoda* (Caesalpinioideae) e histoquímica do nectário extrafloral. Planta Daninha 24: 695-705.
- GERLACH, D. 1969. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. Georg Thieme, Stuttgart.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- KRUGER, H. & PRETORIUS, W.E. 1997. Notes on the structure of the stigma of *Polygala virgata* var. *virgata* (Polygalaceae). South African Journal of Botany 63: 261-266.
- LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and pratical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.

- MARQUES, M.C.M. 1979. Revisão das espécies do gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) do estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia 31: 69-339.
- MARQUES, M.C.M. 1996. *Securidaca* L. (Polygalaceae) do Brasil. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 34: 7-144.
- MARQUES, M.C.M. & PEIXOTO, A.L. 2007. Estudo taxonômico do gênero Polygala L. subgênero Ligustrina (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Rodriguésia 58: 95-146.
- MILBY, T.H. 1976. Studies in the floral anatomy of *Polygala*. American Journal of Botany 63: 1319-1326.
- PAIVA, J. 1998. Polygalarum Africanarum et Madagascariensium prodromus atque gerontogaei generis *Heterosamara* Kuntze, a genere *Polygala* L. segregati et a nobis denus recepti, Synopsis Monogr. Fontqueira 50: 1-347.
- PIZZOLATTI, M.G.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D. & CRISTIANO, R. 2002. Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia 12: 21-26.
- PIZZOLATTI, M.G.; PEREIRA, W.S. & MONACHE, F.D. 2004 . A new styryl-2pyrone derivative from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae). Biochemical Systematics and Ecology 32: 603-606.
- SCHMID, R. 1988. Reproductive versus extra-reproductive nectaries historical perspective and terminological recommendations. The Botanical Review 54: 179-232.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Translated by L.A. Boodle & F.G. Fritisch, 2v., Claredon Press, Oxford.
- VERKERKE, W. 1984. Ovule and seed of *Xanthophyllum* (Polygalaceae). Blumea 29: 409-421.

VERKERKE, W. & BOUMAN, F. 1980. Ovule ontogeny and its relation to seedcoat structure in some species of *Polygala* (Polygalaceae). Botanical Gazette 141: 277-282.

3. Capítulo 3

Estrutura e histoquímica dos ductos mucilaginosos do caule de

Polygala angulata L.

Introdução

Uma grande diversidade de estruturas secretoras relacionadas à proteção, atração e dispersão ocorre nos vegetais (Fahn 1979, 2000; Metcalfe & Chalk 1983, Ascensão *et al.* 1999, Monteiro *et al.* 2001, Rio *et al.* 2002, Simões *et al.* 2006, Demarco *et al.* 2006, Simões *et al.* 2007, Castro & Demarco 2008). Estas estruturas podem produzir mucilagens, gomas, resinas, goma-resinas, óleos essenciais e látex, que são liberados da célula secretora ou permanecem em seu interior (Fahn 1979; Metcalfe & Chalk 1979, 1983; Lacchia 2006, Pickard 2008). A secreção extracelular pode ser acumulada em espaços intercelulares (lume), variáveis na forma e origem, sendo alongados nos ductos e esférica nas cavidades (Metcalfe & Chalk 1983, Fahn 1990).

Chodat (1891) relatou a ocorrência de células oleíferas, receptáculos oleíferos e cavidades secretoras lisígenas nos órgãos aéreos de espécies americanas de *Polygala*. Solereder (1908), em sua extensa revisão sobre estudos anatômicos em dicotiledôneas, ressaltou a necessidade de reinvestigar as estruturas secretoras descritas por Chodat (1891).

Atualizando a revisão efetuada por Solereder (1908), Metcalfe & Chalk (1950) referiram a presença de óleo no parênquima cortical e de uma substância de coloração amarelada no córtex da raiz de *P. senega*. Os autores em pauta citaram gotas de óleo também para a epiderme caulinar de algumas espécies de *Polygala*. Ductos oleíferos e cavidades secretoras foram registrados para o caule e as folhas das espécies americanas do gênero. Entretanto, apesar da proposta de Solereder (1908), nenhuma investigação mais minuciosa foi feita sobre as cavidades lisígenas relatadas por Chodat (1891).

Estudos fitoquímicos demonstram a diversidade de substâncias que ocorrem em um número limitado de espécies da família, tanto na parte vegetativa (raiz, caule e folha) quanto na reprodutiva (flores e frutos), tendo sido detectados: ácidos graxos, saponinas, fenóis, salicilato de metila, cumarinas, xantonas e alcalóides (Hamburger *et al.* 1985; Campos *et al.* 1997; Pizolatti *et al.* 2002, 2004). Em contrapartida, os trabalhos anatômicos sobre espécies de *Polygala* são escassos (Chodat 1891, Pyykkö 1966, Dickison 1973, Milby 1976, Verkerke & Bouman 1980, Verkerke 1984, 1985, 1991, Eriksen 1993, Krüger & Pretorius 1997). Assim, os sítios de produção destas substâncias são praticamente desconhecidos, o que aponta a relevância de serem os mesmos analisados em nível anatômico com o intuito de ampliar o conhecimento sobre as estruturas secretoras presentes nas espécies brasileiras do gênero.

Ao realizar um inventário das características morfológicas e descrever os órgãos vegetativos de cinco espécies de *Polygala* do estado de São Paulo (Capítulo 4), registrou-se a ocorrência de ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. Este trabalho tem por objetivo caracterizar anatomicamente estas estruturas e identificar as principais classes de substâncias que compõem o exsudato por elas produzido, por meio da aplicação de testes histoquímicos.

Material & métodos

Seis indivíduos de *Polygala angulata* L. foram coletados no campo cerrado da Estação Ecológica e Experimental de Itirapina, SP (22°15'S e 47°09'W). Todos os indivíduos foram identificados pela Ms. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias.

Dados referentes ao material testemunha providenciado são apresentados a seguir: *P. angulata*: Brasil: São Paulo, Itirapina, Estação Ecológica e Experimental de Itirapina. 21.X.2006, A.C.Aguiar *et al.* 744 (UEC); 21.X.2006, A.C.Aguiar *et al.* 745 (UEC); 21.X.2006, A.C.Aguiar *et al.* 746 (UEC); 14.IV.2007, A.C.Aguiar *et al.* 780 (UEC); 14.IV.2007, A.C.Aguiar *et al.* 781 (UEC); 14.IV.2007, A.C.Aguiar *et al.* 782 (UEC).

Para o estudo estrutural, os ramos vegetativos foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas, em formalina neutra tamponada (FNT; Lillie 1965) e sulfato ferroso em formalina (SFF; Johansen 1940) por 48 horas, mantidos sob vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente, estocados em etanol 70%.

Regiões internodais do sistema caulinar em estrutura primária e secundária foram isoladas, desidratadas em série butílica (álcool butílico terciário; Johansen 1940) e incluídas em paraplast. Cortes seriados transversais e longitudinais (10-18µm de espessura) foram corados com safranina e azul de astra (Gerlach 1969) e as lâminas montadas em resina sintética.

Para os testes histoquímicos, materiais fixados em FAA foram utilizados para evidenciar substâncias hidrofílicas, materiais fixados em FNT para substâncias lipofílicas e materiais fixados em SFF para compostos fenólicos totais. Os tratamentos realizados foram: reação PAS (Periodic acid - Schiff's reaction) para polissacarídeos totais (Jensen 1962), ácido tânico/cloreto férrico para mucilagem (Pizzolato 1977), vermelho de Rutênio para detecção de mucilagens ácidas (Gregory & Baas 1989), preto de Sudão B para lipídios totais (Pearse 1985) e cloreto férrico para compostos fenólicos totais (Johansen 1940).

Para o controle dos testes que detectam substâncias lipofílicas, o material foi colocado em solução composta por metanol/clorofórmio/água/HCL (High 1984) por 48 horas. Posteriormente, o material foi fixado em FNT e tratado com os reagentes e corantes mencionados. Os controles dos testes para substâncias hidrofílicas foram realizados conforme as respectivas técnicas.

Após observação e análise do laminário, o registro dos aspectos importantes foi efetuado em fotomicroscópio Olympus BX51 com a utilização de filme Kodak ProImage ASA 100; as escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações. Os negativos foram digitalizados e as imagens (600 dpi) processadas no programa Photoshop 7.0.

Resultados

Anatomia dos ductos secretores (Figuras 1-12)

O sistema secretor é representado por ductos com diâmetros variáveis localizados no parênquima cortical nos ângulos do caule (Figuras 1-12), que apresenta formato triangular (Figura 1). Cada ducto é constituído por um lume e pelo epitélio secretor, formado por células conspícuas de formato variável em secção longitudinal (Figuras 8,10), que variam em estrutura conforme a

fase secretora. No primeiro internó visível, as células epiteliais são isodiamétricas em seção transversal e apresentam citoplasma denso, acidófilo, fortemente corado pela safranina (Figuras 2-4). No segundo internó visível, é possível observar células esféricas e células com protoplasto retraído de conformação variada (Figuras 5, 9-10). A partir do quarto internó visível, o ducto está praticamente desprovido de células epiteliais, com o lume circundado por células parenquimáticas (Figuras 6, 11-12). Na fase présecretora as células epiteliais apresentam citoplasma parietal, núcleo esférico e nucléolo volumoso (inset, Figura 8). Os ductos já se encontram totalmente formados, numa etapa de diferenciação inicial do caule, em que ainda estão presentes a protoderme e meristema fundamental (Figura 4). Nos caules em estrutura primária, os ductos estão em fase secretora e observa-se a liberação de células epiteliais para o interior do lume (Figura 5); poucas células epiteliais ou mesmo nenhuma são encontradas ao redor do lume nos caules em estrutura secundária (Figuras 6, 11-12). Com a ausência de células epiteliais, o exsudato não é mais observado (Figuras 6, 11-12).

Histoquímica dos ductos secretores (Figuras 13-29; Tabela 1)

A secreção dos ductos é observada apenas nas células epiteliais, não sendo encontrado exsudato no lume (Figuras 13-29). O exsudato observado nas células epiteliais é incolor tanto no material fixado em FAA quanto no material fixado em FNT.

Pelos testes histoquímicos aplicados (Figuras 13-29, Tabela 1), constata-se que a secreção é exclusivamente mucilaginosa, dando resultado fortemente positivo pela reação PAS (Figuras 13-18) e com ácido tânico cloreto/férrico (Figuras 19-23); o resultado é fraco positivo com vermelho de Rutênio (Figuras 24-29). Material lipofílico e compostos fenólicos não foram detectados nas células epiteliais (Tabela 1).

Tratamentos	Substâncias a serem evidenciadas	Cor (resultado positivo)	Ductos (Figuras)	
			células epiteliais	lume
reação PAS	polissacarídeos totais	Rosa a vermelho	+++ (13-15)	-
ácido tânico/cloreto férrico	mucilagens	Preto	+++ (19-21)	-
vermelho de Rutênio	mucilagens ácidas	Rosa a vermelho	++ (25)	-
preto de Sudão B	lipídios totais	Azul a preto	-	-
cloreto férrico (FAA)	compostos fenólicos	Marrom a preto	-	-
cloreto férrico (FNT)	compostos fenólicos	Marrom a preto	-	-
sulfato ferroso em formalina	compostos fenólicos	Marrom a preto	-	-

Tabela 1. Resultado dos testes histoquímicos aplicados nos ductos de Polygala angulata L.

Abreviações: +++=forte positivo; ++=positivo; -=negativo

89

ILUSTRAÇÕES

Figuras 1-6. Ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. (fixador: FAA). 1. Vista geral do caule; notar os ductos nos ângulos do caule (seta). 2-4. Primeiro internó visível. 2-3. Células epiteliais com citoplasma denso (seta). 4. Notar secreção apenas no interior das células epiteliais (seta). 5. Células epiteliais em início do processo de lise no segundo internó visível (seta). 6. Ducto desprovido de células epiteliais no quarto internó visível; notar clorênquima delimitando lume (seta). 1-6. Corte transversal. Escalas: $1=50\mu m$; $2-6=30\mu m$.



Figuras 7-12. Ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. (fixador: FAA). 7. Primeiro internó; notar células epiteliais com vacúolo volumoso (*inset*, figura 8). 9. Segundo internó visível; notar células epiteliais em lise (seta). 11. Quarto internó; notar ducto desprovido de células epiteliais (seta). 8, 10, 12. Pormenores das Figuras 7, 9, 11, respectivamente. Células epiteliais com citoplasma em posição parietal no *inset* da figura 8. 7-12. Corte longitudinal. Escalas: 7, 9, 11=70µm; 8, 10, 12=50µm.



Figuras 13-18. Ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. com mucilagem nas células epiteliais, evidenciada pela reação PAS (fixador: FAA). 13. Primeiro internó visível. 14. Terceiro internó visível; notar início do processo de lise. 15. Pormenor da Figura 14. 16-18. Região apical (16), mediana (17), basal (18). 13-15. Corte transversal. 16-18. Corte longitudinal. Escalas: 13=10µm; 14=30µm; 15=40µm; 16-18=30µm.



Figuras 19-23. Ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. com mucilagem no interior das células epiteliais evidenciada, pelo com ácido tânico/cloreto férrico (fixador: FAA). 19. Primeiro internó visível. 20. Segundo internó visível; notar células epiteliais no início do processo de lise. 21. Pormenor da figura 20. 22. Ducto secretor em vista geral. 23. Pormenor da figura 22. 19-21. Corte transversal. 22-23. Corte longitudinal. Escalas: 19, 22=50µm; 20, 23=30µm; 21=20µm.



Figuras 24-29. Ductos secretores no caule de *Polygala angulata* L. com mucilagem no interior das células epiteliais evidenciada, pelo vermelho de Rutênio (fixador: FAA). 24. Primeiro internó visível; notar células epiteliais integras e outras em processo de lise. 26, 28. Segundo e terceiro internó visível; notar células epiteliais no início do processo de lise. 25, 27, 29. Pormenores das figuras 24, 26, 28 respectivamente. 24-29. Corte transversal. Escalas: 24, 26, 28=50µm; 25, 27, 29=25µm.



Discussão

As estruturas secretoras observadas nos ângulos do caule de *Polygala angulata* foram identificadas como ductos mucilaginosos. A presença deste tipo de exsudato em *P. angulata* é um dado inédito para a família. Até o momento, os estudos anatômicos citavam idioblastos, cavidades e ductos oleíferos, mas não referiam a presença de mucilagem nas espécies de Polygalaceae. Apenas a localização dos ductos segue o padrão mencionado na literatura, pois todos são descritos para a região cortical do caule (Metcalfe & Chalk 1950, Paiva 1998).

Os ductos estão sendo formados a partir do primeiro internó, na altura do primeiro internó visível, quando a estrutura caulinar ainda se encontra em estádio meristemático, ao contrário dos nectários observados em *P. laureola* (Capítulo 1), que se apresentam em fase secretora quando o caule atinge a estrutura primária. Segundo Solereder (1908), os ductos mucilaginosos podem estar presentes na estrutura primária dos órgãos vegetativos, sendo observados na estrutura secundária em espécies de poucas famílias de angiospermas, como Fabaceae e Sterculiaceae. Tal observação foi confirmada por Lacchia (2006) em espécies de Anacardiaceae, que ocorrem no cerrado do estado de São Paulo.

Através do estudo estrutural, é possível verificar que o processo de lise das células epiteliais se completa quando a estrutura secundária do caule está perfeitamente instalada. O ducto torna-se desprovido de células epiteliais a partir do quarto internó visível. Chodat (1891), Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1950) descreveram a presença de cavidades lisígenas para o gênero. Solereder (1908) ressaltou a importância de se reinvestigar as possíveis cavidades lisígenas descritas por Chodat (1891). Neste estudo, pode-se verificar que o processo de lise observado nos ductos caulinares de *P. angulata*

100

assemelha-se ao que foi descrito para as cavidades secretoras de outras espécies de Polygalaceae. O próprio Solereder (1908) mencionou que os ductos mucilaginosos podem apresentar formação esquizolisígena ou lisígena.

Através da aplicação de testes histoquímicos foi possível constatar que os ductos de *P. angulata* são exclusivamente mucilaginosos, não tendo sido detectados compostos lipofílicos na secreção. A mucilagem é observada apenas nas células epiteliais, não sendo encontrado exsudato no lume dos ductos. Somente nos três primeiros internós são observadas células epiteliais com secreção, sendo que a maior quantidade de tais células está concentrada no segundo internó visível. Polygalaceae não está inserida, até o momento, entre as famílias que possuem ductos mucilaginosos (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1983, Gregory & Baas 1989). Chodat (1891) relatou a existência de idioblastos mucilaginosos na região cortical do caule de espécies americanas de *Polygala*, enquanto Paiva (1998) mencionou a presença de imensas e abundantes células mucilaginosas na região cortical do caule em *P. microphylla* L.

P. angulata é uma espécie predominantemente brasileira e sua maior ocorrência está na região centro-oeste do Brasil, em áreas de campo cerrado a cerradão (Marques & Peixoto 2007). Segundo Fahn (1979), as funções atribuídas à mucilagem em plantas diferem de acordo com o tecido, órgão ou espécie em que é encontrada. O autor comenta ainda que a mucilagem pode armazenar água no parênquima de plantas suculentas e, em alguns casos, pode proteger a planta contra herbivoria. Gregory & Baas (1989) também mencionaram a retenção de água, como uma das prováveis funções das células mucilaginosas, sendo características de plantas de ambientes que apresentam estresse hídrico. Mesmo não tendo sido definida, até o presente momento, a função desempenhada pelos ductos mucilaginosos nas espécies de angiospermas que possuem tal estrutura, acredita-se que em *P. angulata* esta estrutura possa estar relacionada com a retenção hídrica; impedindo o ressecamento dos ápices vegetativos.

Referências bibliográficas

- ASCENSÃO, L.; MOTA, L.; CASTRO, M. de M. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. Annals of Botany 84: 437-447.
- CAMPOS, R.O.P.; SANTOS, A.R.S.; VAZ, Z.R.; PINHEIRO, T.R.;
 PIZZOLATTI, M.G.; CECHINEL FILHO,V.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A.
 & CALIXTO, J.B. 1997. Antinociceptive properties of hidroalcoholic extract and preliminary study of xanthone isolated from *P. cyparissias* (Polygalaceae). Life Science 61; 1619-1630.
- CASTRO, M. de M. & DEMARCO, D. 2008. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. Natural Product Communications 3: 1273-1284.
- CHODAT, R. 1891. Monographia Polygalacearum. I. Mémories de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève 31, suppl. 7: 1-143.
- DEMARCO, D.; KINOSHITA, L. S. & CASTRO, M. de M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados - novos registros para Apocynaceae. Revista Brasileira de Botânica 29: 133-144.
- DICKISON, W.C. 1973. Nodal and leaf anatomy of *Xantophyllum* (Polygalaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 67: 103-115.

- ERIKSEN, B. 1993. Floral Anatomy and Morphology in the Polygalaceae. Plants Systematics and Evolution 186: 17-32.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. Advances in Botanical Researchs 31: 37-75.
- GERLACH, D. 1969. Botanische Mikrotechnik, Eine Einfuhrung. Georg Thieme, Stuttgart.
- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. Israel Journal of Botany 38: 125-174.
- HAMBURGER, M.; GUPTA, M. & HOTETTMANN, K. 1985. Coumarins from *Polygala paniculata*. Planta Medica 51: 215-216.
- HIGH, O.B. 1984. Lipid histochemistry. Oxford University Press, New York.
- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- KRUGER, H. & PRETORIUS, W.E. 1997. Notes on the structure of the stigma of *Polygala virgata* var. *virgata* (Polygalaceae). South African Journal of Botany 63: 261-266.
- LACCHIA, A.P.S. 2006. Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de Anacardiaceae: anatomia, histoquímica e ultraestrutura. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and pratical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.

- MARQUES M.C.M. & PEIXOTO, A.L. 2007. Estudo taxonômico do gênero Polygala L. subgênero Ligustrina (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Rodriguésia 58: 95-146.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. V. 1, Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. V.1, Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. Anatomy of the dicotyledons: Wood structures and conclusions of the general introduction. V. 2, Clarendon Press, Oxford.
- MILBY, T.H. 1976. Studies in the floral anatomy of *Polygala*. American Journal of Botany 63: 1319-1326.
- MONTEIRO, W. R.; CASTRO, M. de M.; MAZZONIVIVEIROS, S. C. & MAHLBERG, P. G. 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. - Asteraceae. Revista Brasileira de Botânica 24: 349-357.
- PAIVA, J. 1998. Polygalarum Africanarum et Madagascariensium prodromus atque gerontogaei generis *Heterosamara* Kuntze, a genere *Polygala* L. segregati et a nobis denus recepti, Synopsis Monogr. Fontqueira 50: 1-347.
- PEARSE, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applies. V.2, C. Livingstone, Edinburgh.
- PICKARD, W.F. 2008. Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. New Phytologist 177: 877-888.

- PIZZOLATO, T.D. 1977. Mayer's tannic acid- ferric chloride stain for mucins. Journal of Histochemistry and Cytochemistry 21: 56-64.
- PIZZOLATTI, M.G.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D. & CRISTIANO, R. 2002. Artefatos Cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia 12: 21-26.
- PIZZOLATTI, M.G.; PEREIRA, W.S. & MONACHE, F.D. 2004 . A new styryl-2pyrone derivative from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae). Biochemical Systematics and Ecology 32: 603-606.
- PYYKKÖ, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. Annales Botanici Fennici 3: 453-622.
- RIO, M. C. S. do; CASTRO, M. de M. & KINOSHITA, L. S. 2002. Distribuição e caracterização anatômica dos coléteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 25: 339-349.
- SIMÕES, A. O.; CASTRO, M. de M.; KINOSHITA, L. S. 2006. Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. Botanical Journal of the Linnean Society 152: 387-398.
- SIMOES, A. O.; RIO, M. C. S. do; CASTRO, M. de M. & KINOSHITA, L. S. 2007. Gynostegium morphology of Mesechiteae Miers (Apocynaceae, Apocynoideae) as it pertains to the classification of the tribe. International Journal of Plant Sciences 168: 999-1012.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Transl. by L.A. Boodle & F.G. Fritsch. V. 1, Clarendon Press, Oxford.
- VERKERKE, W. 1984. Ovule and seed of *Xanthophyllum* (Polygalaceae). Blumea 29: 409-421.

- VERKERKE, W. 1985. Ovule and seed of Polygalaceae. Journal of the Arnold Arboretum 66: 353-394.
- VERKERKE, W. 1991. Fruits and seed of *Balgoya pacifica* (Polygalaceae) from New Caledonia. Bulletin du Museum National D'Historie Naturelle 13: 9-12.
- VERKERKE, W. & BOUMAN, F. 1980. Ovule ontogeny and its relation to seedcoat structure in some species of *Polygala* (Polygalaceae). Botanical Gazette 141: 277-282.

4. Capítulo 4

Anatomia do caule aéreo e do sistema subterrâneo de cinco espécies de *Polygala* L.

Introdução

A primeira abordagem anatômica do eixo vegetativo de Polygalaceae foi apresentada por Chodat (1891), que observou variações estruturais e diversas estruturas secretoras em espécies americanas. O autor ressaltou a ocorrência de células oleíferas, cavidades e ductos secretores, a organização do tecido vascular e das fibras existentes no caule. Tais características têm fornecido subsídios para os estudos taxonômicos do grupo.

Em sua extensa revisão sobre estudos anatômicos em dicotiledôneas, Solereder (1908) relatou a ocorrência de células oleíferas, receptáculos oleíferos e cavidades secretoras nos órgãos aéreos de espécies de Polygalaceae, além de descrever a estrutura e organização dos órgãos vegetativos. Para o lenho de *Polygala senega* L., o autor deixou em dúvida a ocorrência de células oleíferas.

Metcalfe & Chalk (1950), atualizando a revisão efetuada por Solereder (1908), referiram a presença de óleo no parênquima vascular e de uma substância de coloração amarelada no córtex primário da raiz de *P. senega. Os* autores citaram gotas de óleo na epiderme caulinar de algumas espécies de *Polygala* L., assim como ductos oleíferos e cavidades secretoras no caule e nas folhas das espécies americanas do gênero.

No Brasil, trabalhos que abordem aspectos estruturais de espécies desta família são pouco explorados (Marques 2003, Aguiar 2005, Aguiar *et al.* 2008a), o que contribui para que apenas observações associadas à morfologia externa sejam utilizadas nos estudos taxonômicos. Polygalaceae está distribuída em todo o território brasileiro, representada por sete gêneros, sendo grande parte das espécies pertencentes a *Polygala* (Eriksen & Persson 2007). Este gênero está representado no território brasileiro por cinco subgêneros, *Acanthocladus* (Klotzsch ex Hassk.) Paiva, *Gymnospora* (Chodat) Paiva, *Hebeclada* (Chodat) Blake, *Ligustrina* (Chodat) Paiva e *Polygala* (Chodat) Paiva (Marques & Peixoto 2007). Destes subgêneros, *Polygala*, *Hebeclada*, *Ligustrina* representam 98% das espécies brasileiras, existindo espécies que ocupam formações exclusivas e outras que ocorrem em mais de um ambiente (Aguiar *et al.* 2008b).

Apesar da escassez de descrições anatômicas, tem sido crescente o interesse pelos estudos químicos (Campos *et al.* 1977, Deng *et al.* 2005) e taxonômicos das espécies brasileiras da família (Marques & Aguiar 2000, 2007, Marques & Gomes 2002, Lüdtke & Miotto 2004, Aguiar 2005, Marques & Peixoto 2007, Aguiar *et al.* 2008b, Lüdtke 2008).

Estudos anatômicos do eixo vegetativo são notadamente pouco explorados em espécies de *Polygala*. Com isso, várias lacunas são observadas, dificultando a compreensão estrutural do gênero no Brasil.

O objetivo deste trabalho é realizar um inventário das características morfológicas e descrever o caule aéreo e o sistema subterrâneo de *Polygala angulata* L., *P. cyparissias* A.St.-Hil & Moq., *P. laureola* A.St.-Hil & Moq., *P. paniculata* L. e *P. violacea* Aubl. emend Marques. Através de análise comparativa, pretende-se verificar a ocorrência de padrões estruturais comuns a estas espécies que ocorrem nas formações de restinga e cerrado no estado de São Paulo.
Material & métodos

Três indivíduos de *Polygala cyparissias*, três indivíduos de *P. laureola* e três de *P. paniculata* foram coletados na restinga da Praia da Fazenda, Núcleo Picinguaba, do Parque Estadual da Serra do Mar, Ubatuba, SP (23°27'S e 45°15'W); três indivíduos de *P. angulata* no campo cerrado da Estação Ecológica e Experimental de Itirapina, SP (22°15'S e 47°09'W) e três de *P. violacea* na margem de cerradão da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu, SP (22°18'S e 47°11'W). Todos os indivíduos foram identificados pela Ms. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias e os materiais testemunha (Tabela 1), depositados no Herbário UEC.

Espécie	localidade / formação	Data	nome e número do coletor	Herbário
P. angulata	Itirapina / cerrado	21.X.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 744	UEC
	Itirapina / cerrado	21.X.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 745	UEC
	Itirapina / cerrado	21.X.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 746	UEC
P. cyparissias	Ubatuba / restinga	01.IV.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 715	UEC
	Ubatuba / restinga	06.VII.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 724	UEC
	Ubatuba / restinga	16.IX.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 727	UEC
P. laureola	Ubatuba / restinga	25.IV.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 702	UEC
	Ubatuba / restinga	17.V.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 704	UEC
	Ubatuba / restinga	12.VII.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 706	UEC
P. paniculata	Ubatuba / restinga	25.IV.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 703	UEC
	Ubatuba / restinga	17.V.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 705	UEC
	Ubatuba / restinga	12.VII.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 707	UEC
P. violacea	Moji Guaçu / cerrado	06.IV.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 685	UEC
	Moji Guaçu / cerrado	05.VI.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 720	UEC
	Moji Guaçu / cerrado	23.IX.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 733	UEC

Tabela 1. Dados referentes ao material testemunha das espécies investigadas.

Com a finalidade de obter raízes em crescimento primário de indivíduos das cinco espécies, sementes foram colocadas para germinar em placas de petri revestidas com algodão umedecido em água destilada e mantidas em câmara de germinação - Tecnal TE401, no Laboratório de Biossistemática do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Unicamp. Apenas *P. laureola* não germinou em nenhuma das semeaduras efetuadas.

Para estudo estrutural, órgãos aéreos e subterrâneos foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas, em formalina neutra tamponada (FNT) e SFF (sulfato ferroso em formalina; Johansen 1940) por 48 horas (Lillie 1965), mantidos sob vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente, estocados em etanol 70%.

Regiões do caule em estrutura primária e secundária e regiões do sistema subterrâneo em estrutura secundária foram isoladas, desidratadas em série butílica (álcool butílico terciário; Johansen 1940) e incluídas em paraplast. Cortes seriados transversais e longitudinais (8-15µm de espessura) foram corados com Safranina e Azul de Astra (Gerlach 1969) e as lâminas, montadas em resina sintética.

Porções selecionadas de raízes germinadas de quatro espécies e do caule de *P. cyparissias* foram fixadas em FAA, desidratados em série etílica e infiltradas em resina plástica (Gerrits 1991). Os cortes transversais com 10µm de espessura foram obtidos em micrótomo rotativo e corados com azul de toluidina 0,05% pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964). Os tricomas foram identificados e descritos de acordo com Theobald *et al.* (1979) e o indumento caracterizado segundo Radford *et al.* (1974). Após observação e análise do laminário, o registro dos aspectos importantes foi efetuado em filme Kodak ProImage 100 utilizando-se microscópio Olympus BX51; as escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações. Alguns cortes foram submetidos à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares de natureza birrefringente. Os negativos foram digitalizados e as imagens (600 dpi) trabalhadas no Photoshop 7.0.

Caracteres morfológicos do sistema subterrâneo que, em menor escala, fossem observáveis em estereomicroscópio foram documentados sob esse tipo de equipamento, com câmera clara.

Resultados

Os caracteres anatômicos levantados integram as descrições morfológicas dos sistemas caulinar e radicular das cinco espécies estudadas.

Ressalta-se que as descrições mencionam as estruturas observadas nos espécimes estudados, em que:

- *P. cyparissias* apresenta apenas caule aéreo em estrutura primária;
- *P. laureola* apresenta, além do caule em estrutura primária, o caule em estrutura secundária, tanto na parte aérea quanto na subterrânea;
- P. angulata, P. paniculata e P. violacea possuem caule aéreo em estrutura primária e em estrutura secundária;
- Em relação ao sistema radicular, apenas *P. laureola* não teve sua raiz em estrutura primária descrita.

Polygala cyparissias (Figuras 1-6)

<u>Caule aéreo em estrutura primária</u> - A estrutura primária já está diferenciada a partir do terceiro nó visível e persiste por todo o eixo aéreo. O caule apresenta contorno circular com saliências e reentrâncias (Figura 1). A epiderme é unisseriada, glabra (Figuras 1-2, 4-6) e com idioblastos secretores (Figura 5). A secreção destes idioblastos é preservada tanto pelo FAA (Figura 5) quanto pelo FNT. A região cortical contém cerca de quatro camadas de parênquima clorofiliano (Figuras 1-2, 4-5) e uma bainha parenquimática delimita o cilindro vascular (Figuras 1-2, 4-5).

Um anel contínuo de duas a quatro camadas de elementos esclerenquimáticos perivasculares é evidenciado delimitando o floema primário (Figuras 2-3, 5). O procâmbio ocorre em faixa contínua, caracterizando um sifonostelo (Figuras 1-2) e apresenta uma atividade bidirecional, formando xilema primário para dentro e floema primário para fora (Figuras 1-2). Na região do xilema primário são observados traços foliares (Figura 2). A região medular é ampla e constituída por parênguima fundamental (Figura 1-2).

Polygala laureola (Figuras 7-26)

<u>Caule aéreo em estrutura primária</u> - A estrutura primária já está diferenciada a partir do segundo nó visível e persiste até o terceiro nó visível. A epiderme é unisseriada (Figuras 7-8) e tricomas não glandulares unicelulares de ápice agudo estão distribuídos por todo o eixo vegetativo (Figuras 7-8, 14-15). A região cortical contém cerca de oito camadas de parênquima fundamental (Figura 7).

O procâmbio ocorre em uma faixa contínua (Figuras 7) com dois tipos de atividade. Nas regiões de formação dos traços foliares, o procâmbio apresenta atividade bidirecional, formando xilema primário para dentro e floema primário para fora (Figuras 7, 9-10). Nas demais áreas da faixa, possui atividade unidirecional e forma apenas floema primário para fora (Figuras 7, 11). Esta organização caracteriza eustelo. A região medular é ampla e constituída por parênquima fundamental semelhante ao da região cortical (Figura 7).

<u>Caule aéreo em estrutura secundária</u> - A estrutura secundária inicia-se a partir do quarto nó visível. A epiderme unisseriada permanece (Figuras 12, 14, 17-19), não havendo a instalação do felogênio. Estômatos ocorrem por toda sua extensão (Figuras 17-18). Tricomas não glandulares unicelulares de ápice agudo persistem por todo eixo vegetativo (Figuras 14-15, 19). A região cortical contém cerca de sete camadas de parênquima (Figura 12), clorofiliano nas primeiras camadas e fundamental nas demais camadas (Figuras 17-18).

Um anel descontínuo de duas a três camadas de elementos esclerenquimáticos perivasculares é evidenciado delimitando o sistema vascular (Figuras 12-13, 20-21).

O caule possui um sistema vascular circular, fechado e colateral (Figuras 12-13). A faixa cambial apresenta atividade bidirecional por todo o sistema, sendo formado floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 12-13). Os elementos de vaso apresentam-se em séries radiais (Figuras 12-13) com placas de perfuração simples (Figuras 14, 16). O xilema primário contém três polos de protoxilema. A região medular é ampla e formada por parênquima fundamental (Figuras 12-13).

<u>Caule subterrâneo em estrutura secundária</u> - A partir do caule subterrâneo, observa-se a instalação do felogênio com formação da periderme (Figura 22). O súber é multisseriado e constituído por células retangulares, e a feloderme é unisseriada; já se observa a presença de lenticelas (Figura 22). A região cortical apresenta cerca de seis camadas de parênguima amilífero.

Observa-se a ocorrência de grupos de fibras perivasculares formando um anel descontínuo de duas a três camadas celulares (Figuras 23, 25-26).

O sistema vascular é circular, fechado e colateral (Figura 23), acompanhando a mesma estrutura do caule aéreo em estrutura secundária. A faixa cambial se encontra instalada com atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figura 23). A região medular é estreita em relação à do caule aéreo e formada por parênquima fundamental (Figura 24).

Polygala paniculata (Figuras 27-38)

<u>Caule aéreo em estrutura primária</u> - A estrutura primária já está diferenciada a partir do segundo nó visível e persiste até o quarto nó visível. A epiderme é unisseriada (Figura 27) e tricomas não glandulares ocorrem por todo o eixo vegetativo (Figura 27).

Os tricomas são não glandulares unicelulares de ápice dilatado com um prolongamento lateral (Figura 28-30); possuem protoplasto com conteúdo acidófilo de aspecto denso evidenciado pela safranina e parede celular fina, exceto a região do prolongamento, onde a parede é espessa (Figuras 28-30). Estômatos não foram observados no eixo caulinar. Na região cortical, ocorrem cerca de três camadas de colênquima e uma de parênquima fundamental (Figura 27, 31).

O caule é do tipo eustelo, os feixes vasculares são colaterais com a presença de cordões procambiais (Figuras 27, 31-32). A região medular é ampla e constituída por parênquima fundamental (Figuras 27, 31-32).

<u>Caule aéreo em estrutura secundária</u> - A estrutura secundária inicia-se no quinto nó. A epiderme é unisseriada (Figuras 33-34, 38), não ocorrendo a instalação do felogênio. Tricomas persistem por todo o eixo vegetativo, não sendo evidenciado seu conteúdo como no caule em estrutura primária. A região cortical contém cerca de três camadas de parênquima fundamental (Figuras 33-34).

Um anel contínuo de uma a duas camadas de elementos esclerenquimáticos perivasculares delimita o sistema vascular (Figuras 33-35).

O sistema vascular é circular, fechado e colateral (Figuras 33-34), com três pólos de protoxilema (Figura 37). A faixa cambial já se encontra instalada com atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 33-34). Os elementos de vaso apresentam-se em séries radiais (Figuras 33, 36-37) com placas de perfuração simples. O xilema primário possui três polos de protoxilema. A região medular é ampla e formada por parênquima fundamental.

Polygala angulata (Figuras 39-53)

<u>Caule aéreo em estrutura primária</u> - A estrutura primária já está diferenciada a partir do segundo nó visível e persiste até o terceiro nó visível. A epiderme é unisseriada (Figuras 39-40) com tricomas não glandulares unicelulares de ápice dilatado com um prolongamento lateral, distribuídos por todo o eixo vegetativo (Figuras 39-40). A região cortical contém cerca de cinco camadas de parênquima clorofiliano (Figuras 39-41) e, em cada ângulo do caule, um ducto secretor com células epiteliais contendo secreção (Figuras 39-40).

Um anel descontínuo perivascular de elementos esclerenquimáticos em grupos é evidenciado delimitando o sistema vascular (Figura 42).

O procâmbio ocorre sob a forma de cordões (Figura 39) e apresenta uma atividade bidirecional formando xilema primário para dentro e floema primário para fora (Figuras 39, 41). Esta organização caracteriza estrutura eustélica. A região medular é ampla e constituída por parênquima fundamental (Figuras 39, 41).

<u>Caule aéreo em estrutura secundária</u> - A estrutura secundária inicia-se a partir do quarto nó visível. A epiderme unisseriada permanece (Figuras 44-45, 47-49), não havendo instalação do felogênio. Estômatos ocorrem por toda sua extensão (Figuras 47-48). Tricomas não glandulares unicelulares de ápice dilatado com um prolongamento lateral persistem por todo o eixo vegetativo (Figuras 49-50). As células epidérmicas têm paredes periclinais externas convexas e no seu conteúdo são observados compostos fenólicos (Figuras 51-53). A região cortical contém cerca de cinco camadas de parênquima clorofiliano (Figuras 44-45). O ducto possui origem lisígena e as células epiteliais encontram-se em fase pós-secretora (Figuras 44, 47). Um anel descontínuo de duas a três camadas de elementos esclerenquimáticos perivasculares é evidenciado delimitando o sistema vascular (Figuras 45-46).

O caule possui um sistema vascular circular, fechado e colateral (Figuras 44-45). A faixa cambial se encontra instalada com atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 44-45). Os elementos de vaso são solitários e espaçados um do outro (Figuras 44-46). O xilema primário contém três polos de protoxilema. A região medular é ampla e formada por parênquima fundamental (Figura 44).

Polygala violacea (Figuras 54-64)

<u>Caule aéreo em estrutura primária</u> - A estrutura primária já está diferenciada a partir do terceiro nó visível e persiste até o quarto nó visível. A epiderme é unisseriada (Figuras 54,56) com tricomas não glandulares unicelulares com paredes espessas e ápice agudo, distribuídos por todo o eixo vegetativo, persistindo na fase de estrutura secundária (Figuras 54, 56, 59). Estômatos não foram observados. A região cortical contém cerca de cinco camadas de parênquima fundamental (Figuras 54, 56).

O procâmbio ocorre em uma faixa contínua (Figura 54) com dois tipos de atividade. Nas regiões em que os traços foliares são formados, o procâmbio apresenta atividade bidirecional formando xilema primário para dentro e floema primário para fora (Figuras 54-58) e, nas demais áreas da faixa, possui atividade unidirecional e forma apenas floema primário para fora (Figura 54). Esta organização caracteriza uma estrutura eustélica. A região medular é constituída por parênquima fundamental (Figuras 54-55).

<u>Caule aéreo em estrutura secundária</u> - A estrutura secundária inicia-se no quinto nó. A epiderme é unisseriada (Figuras 59-60, 64), não ocorrendo instalação do felogênio. Os tricomas não glandulares, unicelulares ou pluricelulares, de ápice agudo persistem por todo o eixo vegetativo (Figura 59, 61). Estômatos ocorrem no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figuras 59-60). A região cortical contém cerca de duas camadas de clorênquima (Figuras 59-60, 64).

Um anel contínuo de duas camadas de fibras esclerenquimáticos perivasculares delimita o sistema vascular (Figuras 59-60, 62-64).

O sistema vascular é circular, fechado e colateral (Figura 59). A faixa cambial já se encontra instalada com atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 59-60, 62-63). O xilema primário possui três polos de protoxilema. A região medular é formada por parênquima amilífero (Figura 63). *O* sistema subterrâneo das espécies estudadas é constituído exclusivamente por raízes (Figuras 65-66, 90-93) ou por estruturas mistas (Figura 67); o sistema radicular de *P. angulata* apresenta raízes contrácteis (Figuras 90, 92) e gemíferas (Figura 91).

Sistema Radicular

Polygala cyparissias (Figuras 65, 68-76)

<u>Raiz em estrutura primária</u> - A raiz apresenta epiderme unisseriada com pêlos absorventes (Figuras 69-70) e exoderme evidente (Figura 68, 70). A região cortical é formada por cerca de seis camadas de parênquima fundamental (Figuras 68-69). O cilindro vascular está constituído por dois pólos de protoxilema e de protofloema, indicando uma raiz diarca (Figuras 69, 71).

<u>Raiz em estrutura secundária</u> - No trecho analisado, a raiz principal apresentase em estrutura secundária com início de instalação da periderme (Figuras 72, 76). A região cortical é formada por cerca de cinco camadas de parênquima fundamental (Figura 72). Elementos esclerenquimáticos perivasculares não são observados (Figuras 72-74).

A faixa cambial tem atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 72, 74). Os elementos de vaso podem ser solitários ou geminados (Figura 75). Observam-se os dois pólos de protoxilema indicativos da condição diarca da raiz (Figura 75).

Polygala laureola (Figuras 67, 77-81)

<u>Raiz em estrutura secundária</u> - Como no caule subterrâneo, o felogênio já está instalado e funcional (Figura 77). O súber é multisseriado e constituído por células retangulares e achatadas (Figura 77). Na medida em que a estrutura secundária se torna avançada, o número de camadas do súber aumenta, sendo que as camadas mais profundas perdem o arranjo inicial. A região cortical é formada por cinco camadas de parênquima fundamental (Figura 77); grãos de amido não foram abservados.

Um anel descontínuo de duas a três camadas de elementos esclerenguimáticos perivasculares delimita o cilindro vascular (Figuras 77-79).

A faixa cambial já se encontra instalada com atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 77, 79). Os elementos de vaso são solitários ou geminados e espaçados (Figuras 80-81). Observam-se os dois pólos de protoxilema indicativos da condição diarca da raiz (seta; Figura 81).

Polygala paniculata (Figuras 66, 82-89)

<u>Raiz em estrutura primária</u> - A epiderme é unisseriada e a região cortical é formada por cinco camadas de parênquima fundamental (Figura 82). O cilindro vascular está em diferenciação, com a formação de dois pólos de protoxilema, indicando uma raiz diarca (Figuras 83-84). <u>Raiz em estrutura secundária</u> - No trecho analisado, a raiz principal apresentase em estrutura secundária (Figura 85) já com início da instalação do felogênio (Figura 85,89); o súber é constituído por células retangulares e achatadas no plano periclinal. A região cortical é formada por cinco camadas de parênquima fundamental (Figura 85, 89). Elementos esclerenquimáticos perivasculares não são observados (Figuras 85-86).

A faixa cambial já se encontra instalada com atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 85, 87). Os elementos de vaso são solitários ou geminados (Figuras 85-89) com placas de perfuração simples. Observam-se os dois pólos de protoxilema indicativos da condição diarca da raiz (Figura 88).

Polygala angulata (Figuras 90-92, 94-101)

<u>Raiz em estrutura primária</u> - A raiz apresenta epiderme unisseriada e a região cortical é formada por cerca de quatro camadas de parênquima fundamental (Figura 94). O cilindro vascular está em diferenciação, com a formação de dois pólos de protoxilema, indicando uma raiz diarca (Figuras 94-96).

<u>Raiz em estrutura secundária</u> - O felogênio já está instalado e o súber é constituído por células retangulares e achatadas (Figura 97). Na medida em que a estrutura secundária se torna avançada, o número de camadas do súber aumenta. A região cortical é formada por mais de dez camadas de células (Figura 97): no parênquima cortical, observam-se grãos de amido como elemento de reserva nas proximidades do floema da região gemífera (Figuras 97, 99); células esclerenquimáticas também estão registradas (Figuras 97-98).

Na zona de contração, observam-se aproximadamente 15 camadas de células parenquimáticas (Figura 101).

A faixa cambial tem atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 97, 99). Os elementos de vaso são solitários ou geminados (Figuras 97, 90-100). Observam-se os dois pólos de protoxilema indicativos da condição diarca da raiz (Figura 100).

Polygala violacea (Figuras 93, 102-114)

<u>Raiz em estrutura primária</u> - A raiz apresenta epiderme unisseriada com pêlos absorventes (Figuras 102-103). A região cortical é formada por cerca de cinco camadas de parênquima fundamental (Figura 102). A camada mais interna do córtex, a endoderme, é visualizada assim como as estrias de Caspary (Figuras 102,104).

O cilindro vascular está diferenciado, sendo constituído por uma camada de células pericíclicas, dois pólos de protoxilema e protofloema, indicando uma raiz diarca (Figuras 104-105).

<u>Raiz em estrutura secundária</u> - No trecho analisado, a raiz principal apresentase em estrutura secundária com início de instalação da periderme (Figura 106, 108, 110). A região cortical é formada por cerca de duas camadas de parênquima fundamental (Figuras 106, 108, 110). Elementos esclerenquimáticos perivasculares não são observados (Figuras 106-108).

A faixa cambial tem atividade bidirecional por todo o sistema, formando floema secundário para fora e xilema secundário para dentro (Figuras 106107). Os elementos de vaso podem ser solitários ou geminados (Figura 106). Observam-se os dois pólos de protoxilema indicativos da condição diarca da raiz (Figura 109).

Gemas radiculares de origem pericíclica em diferenciação são observadas (Figuras 111-114).

ILUSTRAÇÕES

Figuras 1-6. Caule aéreo em estrutura primária de *Polygala cyparissias* A.St.-Hil & Moq. 1. Aspecto geral do terceiro internó visível. 2-5. Pormenores da
Figura 1. 2, 4-5. Notar epiderme unisseriada e glabra. 3. Elementos esclerenquimáticos perivasculares em luz polarizada (seta). 4. Estômato (seta).
5. Idioblastos secretores na epiderme (seta) (fixador: FAA). 6. Elemento de vaso espiralado (seta). 1-5. Corte transversal. 6. Corte longitudinal. Escalas: 1=50µm; 2, 6=30µm, 3=25µm, 4=20µm; 5=10µm.



Figuras 7-11. Caule aéreo em estrutura primária de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. 7. Aspecto geral do segundo internó visível; notar faixa procambial. 8. Pormenor da epiderme unisseriada com tricoma não glandular, unicelular. 9-10. Faixa procambial com atividade bidirecional. 11. Faixa procambial com atividade unidirecional; forma apenas floema primário para fora. 7-11. Corte transversal. 9-11. Pormenores da Figura 7. Escalas: 7=50µm; 8, 10-11=10µm; 9=30µm. Abreviações: fl= floema primário, xl= xilema primário.



Figuras 12-16. Caule aéreo em estrutura secundária de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. 12. Vista geral do quarto internó visível; notar epiderme (seta) e faixa cambial em início de atividade (*). 13. Três polos de protoxilema (seta). 14. Epiderme. 15. Tricoma não glandular, unicelular. 16. Elemento de vaso com placa de perfuração simples (seta). 12-13. Corte transversal. 14-16. Corte longitudinal. 13 e 16. Pormenores da Figura 13 e 15 respectivamente. Escalas: 12=100µm; 13-14, 16=70µm; 15=50µm.



Figuras 17-21. Caule aéreo em estrutura secundária de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. do sexto internó visível. 17. Epiderme unisseriada com estômato (seta) e região cortical com parênquima clorofiliano (*). 18. Pormenor da figura 17. 19. Tricoma não glandular, unicelular. 20-21. Faixa cambial; notar elementos esclerenquimáticos perivasculares (seta). 21. Figura 20 em luz polarizada. 17-18; 20-21. Corte transversal. 19. Corte longitudinal. Escalas: 17=50µm; 18-19=10µm; 20-21=30µm.



Figuras 22-26. Caule subterrâneo em estrutura secundária de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. 22. Lenticela, felogênio (seta) e região cortical (*). 23. Faixa cambial e fibras perivasculares (seta). 24. Xilema secundário (seta) e região medular (*). 25. Fibras perivasculares (seta). 26. Pormenor da Figura 25 em luz polarizada. 22-24. Corte transversal. 25-26. Corte longitudinal. Escalas: 22-26=40µm.



Figuras 27-32. Caule aéreo em estrutura primária de *Polygala paniculata* L. 27. Vista geral do segundo internó visível; notar tricomas e cordões procambiais (seta). 28-30. Tricoma unicelular com conteúdo protoplasmático; parede espessa com protuberância lateral. 30. Figura 29 observada em luz polarizada. 31. Pormenor da epiderme e dos cordões procambiais (seta). 32. Procâmbio em início de atividade, formando protofloema e protoxilema. 27-32. Corte transversal. 31-32. Pormenores da Figura 27. Escalas: 27=40µm; 28-30=5µm; 31=10µm; 32=20µm.



Figuras 33-38. Caule aéreo em estrutura secundária de *Polygala paniculata* L. 33. Aspecto geral do quinto internó visível; notar epiderme, faixa cambial e elementos esclerenquimáticos perivasculares. 34. Epiderme e elementos esclerenquimáticos perivasculares (seta). 35. Figura 34 em luz polarizada. 36. Faixa cambial e xilema secundário (*). 37. Xilema secundário e um pólo de protoxilema (seta). 38. Epiderme e fibra perivascular (seta). 33-37. Corte transversal. 38. Corte longitudinal. 34-37. Pormenores da Figura 33. Escalas: 33=30µm; 34=20µm; 35-37=10µm; 38=25µm.



Figuras 39-43. Caule em estrutura primária de *Polygala angulata* L. 39. Aspecto geral do segundo internó visível; notar contorno triangular, ductos secretores nos ângulos do caule (seta) e procâmbio (*). 40. Ducto secretor (fixador: FAA). 41-42. Procâmbio com atividade bidirecional. 42. Pormenor da figura 39 em luz polarizada, evidenciando os grupos perivasculares de elementos esclerenquimáticos (seta). 43. Procâmbio em atividade; notar protoxilema em diferenciação (seta). 39-43. Corte transversal. 40-43. Pormenores da Figura 39. Escalas: 39=50µm; 40=25µm; 41-42=30µm; 43=20µm.



Figuras 44-50. Caule em estrutura secundária de *Polygala angulata* L. 44. Aspecto geral do quarto internó visível; notar ducto lisígeno (seta). 45. Notar faixa cambial com atividade bidirecional (seta). 46. Detalhe da figura 45 em luz polarizada. 47. Ducto lisígeno. 48. Epiderme com estômato (seta); região cortical. 49. Epiderme com tricoma não glandular de ápice dilatado com um prolongamento lateral; tecido vascular secundário. 50. Pormenor da Figura 49; notar tricoma não glandular de ápice dilatado com um prolongamento lateral. 45-46. Pormenores da Figura 44. 44-48. Corte transversal. 49-50. Corte longitudinal (CL). Escalas: 44=100µm; 45-47=50µm; 48=30µm; 49=20µm; 50=10µm.



Figuras 51-53. Caule em estrutura secundária de *Polygala angulata* L. fixado em SFF. 51. Vista geral do caule; notar paredes periclinais externas convexas e idioblastos com conteúdo fenólico (seta). 52-53. Pormenores da Figura 51; notar compostos fenólicos nas células epidérmicas (seta). 51-53. Corte transversal. Escalas: 51=50µm, 52=30µm, 53=20µm.



Figuras 54-58. Caule em estrutura primária de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques. 54. Aspecto geral do terceiro internó visível; notar tricomas não glandulares de ápice agudo e faixa procambial (seta). 55-57. Pormenores da figura 54; notar epiderme unisseriada com tricoma não glandular de ápice agudo na figura 56. 57. Procâmbio em atividade bidirecional formando protofloema e protoxilema. 58. Xilema primário em luz polarizada (seta). 54-58. Corte transversal. Escalas: 54=50µm, 55-56=30µm, 57=40µm, 58=60µm. Abreviações: pfl= protofloema; pxl= protoxilema.


Figuras 59-64. Caule em estrutura secundária de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques. 59. Aspecto geral do quinto internó visível; notar epiderme uniestratificada, clorênquima, fibras perivasculares, faixa cambial e pólos de protoxilema (seta). 60. Estômatos na epiderme (seta) e clorênquima (*). 61. Tricoma não glandular de ápice agudo, pluricelular. 62-63. Faixa cambial (seta) e fibras lignificadas perivasculares (*). 63. Pormenor da figura 62 em luz polarizada (seta). 64. Epiderme unisseriada, clorênquima e fibras perivasculares (seta). 59-63. Corte transversal. 64. Corte longitudinal. 60, 62-63. Pormenores da Figura 59. Escalas: 59=100µm; 61=20µm; 60, 62-63=30µm; 64=50µm.



Figuras 65-67. Desenho esquemático do sistema subterrâneo das espécies de *Polygala* ocorrentes na restinga (Ubatuba, SP). 65. *Polygala cyparissias* A.St.-Hil. & Moq. na duna. 66. *Polygala paniculata* L. no campo brejoso. 67. *P. laureola* na margem da floresta; notar os eixos caulinares oriundos do sistema subterrâneo. Escalas: 65, 67=1cm; 66=2mm.



Figuras 68-71. Raiz em estrutura primária de *Polygala cyparissias* A.St.-Hil. & Moq. 68. Aspecto geral; notar epiderme unisseriada. 69. Figura 68 em luz polarizada; raiz diarca. 70. Epiderme com pêlos absorventes. 71. Região cortical e cilindro vascular. 70-71. Pormenores da Figura 68. 68-71. Corte transversal. Escalas: 68-69=50µm; 70-71=30µm.



Figuras 72-76. Raiz em estrutura secundária de *Polygala cyparissias* A.St.-Hil. & Moq. 72. Aspecto geral; notar periderme, faixa cambial e ausência de elementos esclerenquimáticos perivasculares. 73. Pormenor da Figura 72 em luz polarizada. 74. Pormenor da Figura 72, ressaltando a faixa cambial (seta), o xilema secundário e o floema secundário. 75. Raiz diarca (seta). 76. Periderme. 72-75. Corte transversal. 76. Corte longitudinal. Escalas: 72=50µm; 73=25µm; 74-75=20µm, 76=30µm.



Figuras 77-81. Raiz em estrutura secundária de *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. 77. Aspecto geral; notar periderme, elementos esclerenquimáticos perivasculares e faixa cambial. 78. Figura 77 em luz polarizada. 79. Elementos esclerenquimáticos (seta) e faixa cambial (*). 80. Elementos esclerenquimáticos (seta) e xilema secundário visualizados sob a luz polarizada. 81. Raiz diarca (seta). 77-81. Corte transversal. 78-80. Pormenor da Figura 77. Escalas: 77=50µm; 78=20µm; 79-81=30µm.



Figuras 82-84. Raiz em estrutura primária de *Polygala paniculata* L. 82. Aspecto geral; notar epiderme unisseriada. 83-84. Região cortical e cilindro vascular. 84. Detalhe da figura 82 em luz polarizada; raiz diarca. 83-84. Pormenores da Figura 82. 82-84. Corte transversal. Escalas: 82=50µm; 83-84=30µm.



Figuras 85-89. Raiz em estrutura secundária de *Polygala paniculata* L. 85. Aspecto geral; notar periderme, faixa cambial e ausência de elementos esclerenquimáticos perivasculares. 86. Pormenor da figura 85 sob luz polarizada. 87. Pormenor da Figura 85; notar faixa cambial (seta), floema secundário e xilema secundário. 88. Raiz diarca (seta). 89. Periderme (seta). 85-88. Corte transversal. 89. Corte longitudinal. Escalas: 85=50µm; 86, 89=25µm; 87-88=20µm.



Figuras 90-93. Desenho esquemático do sistema subterrâneo das espécies de *Polygala* ocorrentes no cerrado. 90-92. *Polygala angulata* L. no campo cerrado (Itirapina, SP); notar gemas e raízes contráteis. 93. *P. violacea* Aubl. emend Marques na margem de cerradão (Moji Guaçu, SP). Escalas: 90=1cm, 91-92=2mm, 92= 1mm (detalhe), 93=5mm.



Figuras 94-96. Raiz em estrutura primária de *Polygala angulata* L. 94. Aspecto geral; notar epiderme unisseriada. 95-96. Pormenores da figura 94; notar a região cortical e o cilindro vascular. 96. Detalhe da figura 94 em luz polarizada; raiz diarca. 94-96. Corte transversal. Escalas: 94=50µm; 95-96=30µm.



Figuras 97-101. Raiz em estrutura secundária de *Polygala angulata* L. 97. Aspecto geral; notar periderme, região cortical com substâncias hidrofílicas e faixa cambial. 98. Elementos esclerenquimáticos corticais (seta) e xilema secundário em luz polarizada. 99. Células com substâncias hidrofílicas na região perivascular (seta), faixa cambial e xilema e floema secundário (fixador: FAA). 100. Raiz diarca (seta). 101. Zona de contração (seta); notar a ausência de elementos esclerenquimáticos perivasculares. 97-100. Corte transversal. 101. Corte longitudinal. 98-100. Pormenores da Figura 97. Escalas: 97-98=50µm; 99-100=30µm; 101=100µm.



Figuras 102-105. Raiz em estrutura primária de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques. 102. Aspecto geral; notar epiderme unisseriada com pêlos absorventes. 103. Detalhe dos pêlos absorventes da figura 102. 104. Região cortical e cilindro vascular, notar periciclo e endoderme (seta). 105. Detalhe da figura 102 em luz polarizada. 103-105. Pormenor da figura 102. 102-105. Corte transversal. Escalas: 102=70µm; 103=50µm; 104-105=25µm. Abrevações: P= periciclo; En= endoderme.



Figuras 106-110. Raiz em estrutura secundária de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques. 106. Aspecto geral; notar início da instalação da periderme e faixa cambial. 107. Pormenor da Figura 106 em luz polarizada; notar ausência de elementos esclerenquimáticos perivasculares. 108. Faixa cambial (seta). 109. Raiz diarca (seta). 110. Notar periderme (seta) e tecido vascular secundário. 106-109. Corte transversal. 110. Corte longitudinal. Escalas: 106, 110=50µm; 107-109=30µm.



Figuras 111-114. Cortes longitudinais seriados da raiz gemífera adicional em diferenciação de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques. 111-112. Gema radicular de origem pericíclica (seta). 113-114. Cortes tangenciais à gema radicular; notar promeristema (*) radicular. Escalas: 111=100µm; 112-114=50µm.



Discussão

No inventário morfológico realizado em cinco espécies de *Polygala* ocorrentes na restinga e no cerrado do estado de São Paulo, evidenciou-se uma maior variação nos caracteres do sistema caulinar primário e um padrão conservativo na estrutura secundária do eixo vegetativo (Tabela 2).

A epiderme é observada por todo sistema aéreo, tanto na estrutura primária quanto na secundária, não havendo instalação do felogênio. A instalação do felogênio ocorre no sistema subterrâneo de todas as espécies, esta característica é descrita como um caráter diagnóstico em nível genérico em relevantes estudos taxonômicos de Polygalaceae (Chodat 1891, Paiva 1998).

Os tricomas observados no caule em três das espécies estudadas são não glandulares e unicelulares; a única espécie que apresenta tricomas pluricelulares é *P. violacea*; a epiderme de *P. cyparissias* é glabra. Chodat (1891), Solereder (1908), Metcalfe & Chalk (1950) e Paiva (1998) relataram apenas tricomas de cobertura para os órgãos vegetativos na família, enquanto Marques (1979) descreveu tricomas glandulares, unicelulares para as espécies da seção *Polygala*, a qual *P. paniculata* pertence; porém, a autora os caracterizou pelo formato destas estruturas. Para afirmar que os tricomas são secretores, mais estudos devem ser realizados. A parede espessada observada em todos os tricomas estudados faz com que, até o presente momento, sejam considerados como sendo tricomas de cobertura (Fahn 1979).

Paiva (1998) observou, em espécies africanas de *Polygala*, que os tricomas apresentam paredes muito espessas e com o respaldo de estudos ultra-estruturais foi possível localizar a parede interna lignificada, assim como protoplasto, não apresentando qualquer conteúdo que pudesse ser considerado como exsudato. No entanto, os tricomas analisados por Paiva (1998) apresentaram ápice agudo e até o presente momento, os tricomas que possuem o ápice dilatado com um prolongamento lateral não foram observados em estudos ultra-estruturais. Este tipo de tricoma, com o ápice dilatado com um prolongamento lateral foi descrito apenas para espécies do subgênero *Polygala*; nos demais subgêneros, somente tricomas tectores de ápice agudo foram evidenciados. Mesmo que venha a confirmação que tanto tricomas de ápice agudo quanto de ápice dilatado com um prolongamento lateral sejam glandulares, o formato do tricoma auxilia em estudos taxonômicos, pois os tricomas de ápice dilatado com um prolongamento lateral descritos por Marques (1979) como glandulares ocorrem apenas em um dos subgêneros investigados - *Polygala*, auxiliando na delimitação subgenérica.

Polygala angulata foi a espécie que apresentou mais de um tipo de estrutura secretora: idioblastos secretores na epiderme e ductos mucilaginosos na região cortical do caule, já discutidos no capítulo 3. Na epiderme, os idioblastos secretores foram identificados tendo como conteúdo compostos fenólicos. A função desempenhada por estes idioblastos pode estar relacionada com a proteção contra herbivoria e radiação UV (Fahn 1979). O fato de termos localizado compostos fenólicos na epiderme de *P. angulata* apresenta indícios do potencial medicinal que esta espécie pode ter, já que compostos químicos encontrados em *Polygala* pertencem a este grupo químico – fenóis, cumarinas e xantonas (Hamburger *et al.* 1985).

Os ductos mucilaginosos observados no ângulo do caule jovem de *P. angulata* foram discutidos no capítulo 3.

Além das estruturas secretoras observadas em *P. angulata,* outras foram descritas para as demais espécies estudadas, como: idioblastos secretores na epiderme de *P. cyparissias*, tanto no caule quanto nas folhas (Capítulo 5): nectários extranupciais estipulares em *P. laureola* (Capítulo 1) e cavidades lisígenas nas folhas jovens de *P. paniculata* (Capítulo 5). Ressalta-se que as espécies que apresentam idioblastos secretores na epiderme, *P. angulata e P. cyparissias*, pertencem ao subgênero *Polygala*. Nota-se assim, a ampla ocorrência e a diversidade das estruturas secretoras nas espécies estudadas sugerindo que mais estudos deste tipo, envolvendo outras espécies de *Polygala* são desejáveis. A única espécie que não apresentou estruturas secretoras no eixo vegetativo foi *P. violacea*; entretanto, esta espécie apresenta estruturas secretoras no eixo reprodutivo (Chodat 1981, Marques 1979, Aguiar *et al.* 2008b). Na literatura, tais estruturas são consideradas de grande relevância nos estudos taxonômicos para o subgênero *Hebeclada*, ao qual pertence, em que os tricomas glandulares nas sépalas externas e os nectários na base do ovário são os principais caracteres dignósticos de grande importância na delimitação das espécies do subgênero (Aguiar 2005, Aguiar *et al.* 2008b).

Em todas as espécies, elementos esclerenquimáticos foram evidenciados delimitando o sistema vascular caulinar. No sistema vascular das raízes, estes elementos foram observados apenas em *P. angulata e P. laureola.* Em *P. laureola,* os elementos esclerenquimáticos ocorrem desde o caule aéreo em estrutura secundária até a raiz em estrutura secundária; apenas no caule subterrâneo, pudemos constatar que são fibras pelo corte longitudinal. Nas demais espécies, estes elementos estão presentes apenas no sistema caulinar, formando um anel contínuo em *P. cyparissias* e descontínuo nas demais espécies. Esta é a primeira vez que fibras são descritas nas raízes de Polygalaceae e sugere-se que a ocorrência destas esteja associada à sustentação da planta, já que *P. laureola* é um subarbusto e não uma erva como as demais espécies estudadas. Solereder

(1908), Metcalfe & Chalk (1950) e Paiva (1998) relataram a ocorrência de fibras na região cortical e fibras pericíclicas do caule em diferentes gêneros de Polygalaceae. Erdtman (1944) utilizou este caráter junto com o tipo polínico e reposicionou Diclidhanteraceae como gênero de Polygalaceae. Por não ter sido identificada a origem destes elementos esclerenquimáticos, será adotado o conceito recomendado por Esau (1977) que designou os elementos esclerenquimáticos perivasculares tendo por base a posição que ocupam.

O procâmbio possui organização e atividade distintas entre as cinco espécies. Chodat (1891), Metcalfe & Chalk (1950) e Paiva (1998) não observaram a atividade procambial descrita para *P. cyparissias*, descrevendo toda a família como tendo sistema vascular do tipo eustelo. As espécies estudadas nestas obras pertenciam ao subgênero *Polygala*. Em todas as espécies, o sistema vascular é fechado no caule em estrutura secundária. O câmbio possui uma atividade bidirecional em todo o sistema vascular, com formação de floema secundário para fora e xilema secundário para dentro.

Ao analisar o sistema subterrâneo de *P. laureola,* verificou-se que este sistema é misto, sendo formado pelos sistemas caulinar e radicular. O sistema caulinar subterrâneo armazena grãos de amido no parênquima cortical, ao contrário do sistema radicular no qual nenhuma reserva foi observada. Marques & Peixoto (2007) ressaltaram a dificuldade em definir o tipo de raiz ao estudar espécies do subgênero *Ligustrina*, por terem observado uma grande variação morfológica entre os indivíduos, podendo existir desde raízes delgadas a tuberosas.

A propagação vegetativa de *P. laureola* é de fácil observação, tendo em vista a ligação de um indivíduo a outro(s) pelo sistema subterrâneo de origem caulinar. Sugere-se que este tipo de propagação represente uma estratégia

para a preservação da espécie. Além de *P. laureola*, este fenômeno foi detectado em *P. angulata*. Ressalta-se que *P. laureola* foi a única espécie em que as sementes levadas à câmara de germinação não germinaram. No campo, a espécie apresentou uma baixa taxa no desenvolvimento de frutos (ca. 1-2 por inflorescência) com produção de sementes viáveis.

Nas espécies ocorrentes no cerrado, *P. angulata e P. violacea*, raízes gemíferas foram observadas, porém, o tipo de gema só pôde ser identificado em *P. violacea*. Esta gema é de origem pericíclica e foi denominada como gema adicional. Este tipo de gema é característico de sistema radicular não perturbado, além de indicar o potencial da espécie em formar populações clonais (Appezzato da Glória 2003). No cerrado e em campos rupestres, a formação de gemas está relacionada à estratégia adaptativa das plantas aos períodos de seca e à ação das queimadas periódicas (Rachid-Edwards 1946). Apesar das raízes gemíferas serem encontradas em grande maioria nas espécies do cerrado, Hayashi (1998) constatou a existência destas estruturas em *Polygala klotzschii C*hodat, espécie arvoreta que ocorre em floresta estacional semidecidual e atribuía esta característica às queimadas devida à proximidade de conjuntos habitacionais.

Gemas não foram observadas no sistema subterrâneo de *P. laureola*, embora existam estudos que demonstraram que a perturbação do ambiente interfere na reprodução de sementes e, conseqüentemente, estimula a gemação radicular (Hayashi 2003). As raízes gemíferas ficam protegidas no solo e em conexão com o sistema subterrâneo axial capaz de nutri-las continuamente, o que não ocorre com as plântulas provenientes das sementes, que precisam se estabelecer no habitat, enfrentando as condições adversas do ambiente (Rizzini & Heringer 1966). Em *P. angulata*, parênquima de reserva foi localizado na região cortical da raiz apenas nas áreas que produziam raízes gemíferas; nas demais áreas, o parênquima não apresentou reservas, sendo descrito como parênquima fundamental. Sugere-se que esta reserva seja importante no período de desenvolvimento da gema.

Analisando o sistema subterrâneo das cinco espécies estudadas, *Polygala laureola* foi a que apresentou diferenças que podem ser utilizadas para subsidiar estudos taxonômicos, como a presença de um sistema caulinar subterrâneo com instalação do felogênio e fibras perivasculares no sistema radicular. As demais, em geral, apresentaram a mesma organização estrutural, independente da formação vegetal por elas ocupada.

Em relação ao tipo de estratégia que cada uma apresenta de acordo com o ambiente, destaca-se *P. angulata* que apresentou raízes contrácteis e gemas e *P. violacea* que também apresentou gemas, características estas de plantas que ocupam áreas de cerrado. Já entre as três espécies que ocorrem na restinga de Picinguaba, *P. laureola* apresentou propagação vegetativa conseguindo manter populações clonais.

Os sistemas subterrâneos podem ser considerados como notáveis adaptações às condições ambientais. A presença de gemas e de propagação vegetativa nos sistemas subterrâneos evidencia a estratégia de sobrevivência das plantas às condições desfavoráveis do ambiente, como a ocorrência de queimadas no cerrado. Portanto, o potencial gemífero dos sistemas subterrâneos pode favorecer a propagação vegetativa de certas espécies garantindo sua sobrevivência em resposta às condições adversas do ambiente (Hayashi 2003).

177

		Restinga			Cerrado	
		P. cyparissias	P. laureola	P. paniculata	P. angulata	P. violacea
	Estrutura primária					
raiz	zona pilífera	+	no	+	+	+
	epiderme unisseriada	+	no	+	+	+
	parênquima fundamental	+	no	+	+	+
	estruturas secretoras	-	no	-	-	-
	endoderme / periciclo	no	no	no	no	+
	Estrutura secundária					
	periderme	+	+	+	+	+
	parênquima fundamental	+	+	+	+	+
	estruturas secretoras	-	-	-	-	-
	parênquima de reserva	-	-	-	+	-
	gemas	-	-	-	+	+
	elem. escl. perivascular	-	+	-	+	-
	Estrutura primária					
	contorno	sinuoso	circular	obovado	triangular	oblongo
	epiderme unisseriada	+	+	+	+	+
	tricoma	-	TAG	TAD	TAD	TAG
	estruturas secretoras	idioblasto	-	-	idioblasto/ducto	-
caule	clorênquima	+	-	-	+	-
	colênquima	-	-	+	-	-
	bainha parenquimática	+	-	+	-	-
	elem. escl. perivascular	+	-	-	-	-
	tipo de estelo	sifonostelo	eustelo	eustelo	eustelo	eustelo
	Estrutura secundária					
	contorno	-	circular	circular	triangular	circular
	epiderme (caule aéreo)	-	+	+	+	+
	periderme (caule	-	+	-	-	-
	subterrâneo)					
	clorênquima	-	-	+	+	+
	bainha parênquimática	-	+	+	+	+
	elem. escl. perivascular	-	+	+	+	+

Tabela 2. Características morfológicas do sistema caulinar e radicular das cinco espécies investigadas de Polygala L.

Legenda: + = presente; - = ausente; ... = estrutura não disponível; no= não observado; TAG= tricoma de ápice agudo; TAD= tricoma de ápice dilatado com um prolongamento lateral.

Referências Bibliográficas

- AGUIAR, A.C.A. 2005. Estudos Taxonômicos sobre o gênero *Polygala* subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) no Brasil. Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- AGUIAR, A.C.A.; GONÇALVES, V.M.; GONÇALVES-ESTEVES, V. & YAMAMOTO, K. 2008. Palinitaxonomy of brazilian species of *Polygala* subg. *Hebeclada*. Botanical Journal of the Linnean Society 157: 609-619.
- AGUIAR, A.C.A.; MARQUES, M.C.M. & YAMAMOTO, K. 2008. Taxonomia das espécies de *Polygala* L. subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) ocorrentes no Brasil. Revista Brasileira de Biociências 6: 91-109.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2003. Morfologia de sistemas subterrâneos: histórico e evolução do conhecimento no Brasil. Ribeirão Preto.
- CAMPOS, R.O.P.; VAZ, Z.R.; PINHEIRO, T.R. & PIZZOLATTI, M.G. 1997. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and preliminary study of xantones isolated from *Polygala cyparissias*. Sciences 61: 1619-1630.
- CHODAT, R. 1891. Monographia Polygalacearum. I. Mémories de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève 31(1), suppl. 7: 1-143.
- DENG, S.M.; ZHAO, Y.X. & LIU, Y.Q. 2005. Two new xanthones from *Polygala crotalarioides*. Chinese Chemical Letters 16: 623-624.
- ERDTMAN, G. 1944. Pollen Morphology and Plant Taxonomy Angiosperms. Almqvisit & Wiksell., Stockholm.
- ERIKSEN, B. & PERSSON, C. 2007. Polygalaceae. *In* The Families and Genera o Vascular Plants (K. Kubitzki, ed.). Flowering Plants. Eudicots. Springer, Berlin.

- ESAU, K. 1977. Anatomy of the seed plants. 2ed. John Wiley & Sons Inc., New. York.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- GERLACH, D. 1969. Botanische Mikrotechnik, Eine Einfuhrung. Georg Thieme, Stuttgart.
- GERRITS, P. O. 1991. The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles. Department of Anatomy and Embryology State University Groningen, Netherlands.
- HAMBURGER, M.; GUPTA, M. & HOTETTMANN, K. 1985. Coumarins from *Polygala paniculata*. Planta Medica 51: 215-216.
- HAYASHI, A.H. 1998. Estudos anatômicos de raízes gemíferas de espécies arbóreas e arbustivas de um fragmento florestal em Campinas (SP), Brasil. Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- HAYASHI, A.H. 2003. Morfo-anatomia de sistemas subterrâneos de espécies herbáceo-subarbustivas e arbóreas, enfatizando a origem das gemas caulinares. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and pratical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- LÜDTKE, R. 2008. A família Polygalaceae na Região Sul do Brasil. Tese de doutorado, Universidade Federal Rural do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- LÜDTKE, R. & MIOTTO, S.T.S. 2004. O gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Biociências 2: 49-102.
- MARQUES, M.C.M. 1979. Revisão das espécies do gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) do Estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia 31: 69-339.
- MARQUES, M.C.M. & AGUIAR, A.C.A. 2000. Flora Fanerogâmica (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga): 128 Polygalaceae 27: 159-164.
- MARQUES, M.C.M. & AGUIAR, A.C.A. 2007. *Polygala fontellana* Marques & Aguiar (Polygalaceae), uma nova espécie para o Brasil. Rodriguésia 58: 13-16.
- MARQUES, M.C.M. & GOMES, K. 2002. Polygalaceae. *In* Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. G, Wanderley, G. Shepherd & A.M. Giulietti (eds.). V.2, São Paulo.
- MARQUES, M.C.M. 2003. Estudo taxonômico do gênero *Polygala* L. subgênero
 L*igustrina* (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Tese de doutorado. Museu
 Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- MARQUES, M.C.M. & PEIXOTO, A.L. 2007. Estudo taxonômico do gênero
 Polygala L. subgênero *Ligustrina* (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Rodriguésia
 58: 95-146.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. V.1, Clarendon Press, Oxford.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N. & MCCULLY, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 368-373.
- PAIVA, J. 1998. Polygalarum Africanarum et Madagascariensium prodromus atque gerontogaei generis *Heterosamara* Kuntze, a genere *Polygala* L. segregati et a nobis denus recepti, Synopsis Monogr. Fontqueira 50: 1-347.
- RACHID-EDWARDS, M. 1946. Alguns dispositivos para a proteção de plantas contra a seca e o fogo. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo 209: 35-68.

- RADFORD, A.E; DICKISON, W.C; MASSEY, J.R. & BELL, C.R. 1974. Vascular Plant Systematics. Harper & Row Publishers, New York.
- RIZZINI, C.T. & HERINGER, E.P. 1966. Estudo sobre os sistemas subterrâneos difusos de plantas campestres. Anais da Academia Brasileira de Ciências 38: 85-112.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Transl. by L.A. Boodle & F.G. Fritsch. V. 1, Clarendon Press, Oxford.
- THEOBALD, W.L.; KRAHULIK, J.L. & ROLLINS, R.C. 1979. Trichome description and classification. *In*: C.R. Metcalfe & L. Chalk (eds.). Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject. V.1. Clarendon Press, Oxford, pp. 40-53.

5. Capítulo 5

Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* L. de restinga e de

cerrado

Introdução

A plasticidade ecológica em plantas que ocupam diferentes formações vegetais é freqüentemente acompanhada por variações morfológicas, sendo a folha o órgão vegetativo que apresenta maior variação estrutural em resposta às alterações ambientais (Dickison 2000). O estudo da anatomia foliar pode fornecer importantes evidências para o conhecimento dos padrões estruturais em diferentes tipos de habitat (Gibson 1996).

A restinga e o cerrado, dois biomas que ocupam grande área territorial no Brasil, são formações complexas que compreendem diversos tipos de habitat com grande variação nas condições abióticas, tais como intensidade de radiação luminosa, disponibilidade hídrica, temperatura e tipos de solo (Mantovani & Martins 1993, Assis 1999). Grande parte dos estudos que investigam estes biomas são de cunho florístico ou fitossociológico (Gibbs *et al.* 1983, Ferracini *et al.* 1983, Toledo Filho *et al.* 1984, Gianotti & Leitão Filho 1992, Mantovani & Martins 1993, Assis 1999). Apesar do elevado número de espécies nestas formações vegetais, a anatomia foliar de seus representantes é pouco estudada (Morretes & Ferri 1959; Andrade 1967; Handro 1966, 1967; Morretes 1966, 1968; Paviani & Ferreira 1974), dificultando o conhecimento dos padrões estruturais apresentados pelas plantas ao ocupar estes tipos de formação vegetal.

Dentre os representantes das famílias de angiospermas presentes nesses dois biomas estão as espécies de Polygalaceae, principalmente de *Polygala* L. (Gianotti & Leitão Filho 1992, Mantovani & Martins 1993, Assis 1999, Marques & Gomes 2002).

Polygala possui distribuição cosmopolita, suas espécies apresentam maior ou menor restrição ecológica e ocupam diversas formações vegetais no território brasileiro (Marques 1979, Marques & Aguiar 2000, Aguiar *et al.* 2008). A escassez de estudos sobre anatomia foliar em *Polygala*, apontada por Pyykkö (1966) há quatro décadas atrás, ainda persiste, o que dificulta o entendimento da organização estrutural e dos mecanismos fisiológicos apresentados por suas espécies, o que contrasta com os abundantes estudos químicos (Pizzolatti *et al.* 2002, 2004; Naito & Tohda 2006).

Além das obras clássicas de revisão de Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1950, 1979), são poucos os trabalhos referentes aos caracteres anatômicos dos órgãos vegetativos de espécies de Polygalaceae. Dickison (1973) constatou que a variação na estrutura foliar, com destaque aos idioblastos traqueoidais e às glândulas crateriformes, é taxonomicamente significante em nível infragenérico em *Xanthophyllum* Roxb. (Polygalaceae). Eriksen (1993) verificou que a posição das glândulas foliares e nodais tem importância taxonômica em nível genérico na família. Além dos trabalhos citados, estudos como os de Marques (1979) e Marques & Peixoto (2007) correlacionaram a posição dos estômatos com o ambiente em que as espécies brasileiras de *Polygala* se desenvolvem.

Este trabalho tem por objetivo efetuar um inventário das características morfológicas e descrever a estrutura foliar de *Polygala angulata* L. (subg. *Polygala* L.), *P. cyparissias* A.St.-Hil. & Moq. (subg. *Polygala* L.), *P. laureola* A.St.-Hil. & Moq. (subg. *Ligustrina* (Chodat) Paiva), *P. paniculata* L. (subg. *Polygala* L.) e *P. violacea* Aubl. emend Marques (subg. *Hebeclada*

184

(Chodat) Blake). Através de análise comparativa, pretende-se verificar a ocorrência de padrões estruturais comuns a estas espécies que ocorrem nas formações de restinga e cerrado.

Material & métodos

Ramos vegetativos foram coletados de indivíduos de *Polygala cyparissias* A. St.-Hil. & Moq., *P. laureola* A. St.-Hil. & Moq. e *P. paniculata* L. procedentes da restinga na Praia da Fazenda, Núcleo Picinguaba, do Parque Estadual da Serra do Mar, Ubatuba (SP); *P. angulata* L. do cerrado da Estação Ecológica e Experimental de Itirapina (SP) e *P. violacea* Aubl. emend Marques do cerrado da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji Guaçu (SP). Todos os indivíduos foram identificados pela Ms. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias e os materiais testemunha (Tabela 1), depositados no Herbário UEC.

Considerando as espécies da restinga, *P. cyparissia*s ocorre em duna, *P. laureola* na margem da floresta da restinga e *P. paniculata* em campo brejoso localizado, na área de coleta, entre aquelas duas formações. Em relação às espécies do cerrado, *P. angulata* ocorre no campo cerrado e *P. violacea* à margem de cerradão. Os indivíduos de todas as espécies em estudo recebem luminosidade ao longo de todo o dia, havendo variações no tempo de exposição de acordo com o local que ocorrem e na forma em que as folhas se posicionam em relação ao sol. A posição das folhas em relação à luminosidade difere entre as espécies de acordo com o hábito de cada uma. *P. cyparissias* apresenta hábito escandente e suas folhas ficam verticalmente posicionadas em relação ao sol; nas demais espécies, o hábito é ereto e as folhas apresentam posição horizontal, perpendicular à radiação solar. *P. cyparissias, P. angulata e P. violacea* recebem incidência luminosa durante todo o dia, enquanto que *P. violacea* ?

laureola e *P. paniculata,* apenas durante um período do dia. O tipo de clima e solo das formações em que os espécimes foram coletados e a bibliografia correspondente estão apresentados na Tabela 2.

Folhas adultas, perfeitamente expandidas, foram fixadas em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e em formalina neutra tamponada (FNT) por 48 horas (Lillie 1965), mantidas sob vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente, estocadas em etanol 70%.

Para o estudo em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), as amostras da região mediana da lâmina foliar das cinco espécies fixadas em FAA foram desidratadas em série etílica. Subseqüentemente, as peças foram secas pelo método do ponto crítico, montadas e metalizadas com ouro. As observações e captura das imagens (600 dpi) foram realizadas em microscópio JEOL JSM 5000LV a 20kV e processadas no programa Photoshop 7.0.

Para o estudo anatômico, a região mediana, incluindo a nervura principal e a margem, da lâmina foliar das cinco espécies e a proximal do pecíolo de *P. laureola, P. paniculata e P. violacea* foram isoladas, desidratadas em série butílica (álcool butílico terciário; Johansen 1940) e incluídas em paraplast. Cortes seriados transversais e longitudinais (10-18µm de espessura) foram corados com Safranina e Azul de Astra (Gerlach 1969) e as lâminas foram montadas em resina sintética. Folhas jovens de *P. paniculata* também foram isoladas e seccionadas para complementação das análises das cavidades secretoras lisígenas. Os tricomas foram identificados e descritos de acordo com Theobald *et al.* (1979) e o indumento caracterizado segundo Radford *et al.* (1974).

O registro de imagens foi efetuado em fotomicroscópio Olympus BX51 com a utilização de filme Kodak ProImage Asa 100; as escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações. Alguns cortes foram submetidos à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares de natureza birrefringente. Todas as figuras foram digitalizadas e as imagens (600 dpi) processadas no programa Photoshop 7.0.

Espécie	localidade / formação	Data	nome e número do coletor	Herbário
	Itirapina / cerrado	21.X.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 744	UEC
P. angulata	Itirapina / cerrado	21.X.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 745	UEC
	Itirapina / cerrado	21.X.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 746	UEC
P. cyparissias	Ubatuba / restinga	01.IV.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 715	UEC
	Ubatuba / restinga	06.VII.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 724	UEC
	Ubatuba / restinga	16.IX.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 727	UEC
P. laureola	Ubatuba / restinga	25.IV.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 702	UEC
	Ubatuba / restinga	17.V.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 704	UEC
	Ubatuba / restinga	30.X.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 710	UEC
P. paniculata	Ubatuba / restinga	25.IV.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 703	UEC
	Ubatuba / restinga	17.V.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 705	UEC
	Ubatuba / restinga	30.X.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 712	UEC
P. violacea	Moji Guaçu / cerrado	06.IV.2005	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 685	UEC
	Moji Guaçu / cerrado	05.VI.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 720	UEC
	Moji Guaçu / cerrado	23.IX.2006	A.C.Aguiar <i>et al.</i> 733	UEC

Tabela 1. Dados referentes ao material testemunha das espécies investigadas.

Tabela 2. Tipo de solo e clima das formações em que as espécies foram coletadas.

Espécie	tipo de clima (Köppen)	tipo de solo	referências
P. angulata	Cwa	latossolo	Giannotti & Leitão Filho (1992)
P. cyparissias	Af	arenoso	Assis (1999)
P. laureola	Af	argiloso	Assis (1999)
P. paniculata	Af	argiloso	Assis (1999)
P. violacea	Cwa	latossolo	Mantovi & Martins (1993)

Legenda: Cwa=Subtropical Úmido; Af= Equatorial

Resultados

As características morfológicas estão apresentados na Tabela 3 e os dados anatômicos referentes à lâmina foliar (Figuras 1-45) e ao pecíolo (Figuras 45-51) são relatados a seguir.

Epiderme - Nas cinco espécies estudadas, a epiderme apresenta diferenças quanto ao contorno de suas células, sendo suas paredes anticlinais sinuosas ou retas em vista frontal. Paredes anticlinais sinuosas ocorrem na epiderme de *P. cyparissias* (Figuras 1-2,13), *P. laureola* (Figuras 3-4,19), *P. paniculata* (Figuras 5-6,26) e *P. violacea* (Figuras 9-10,40). Já a epiderme de *P. angulata* (Figuras 7-8,34) apresenta células com paredes anticlinais retas. Material particulado é verificado em maior abundância em *P. cyparissias* (Figuras 1-2), *P. laureola* (Figuras 3-4) e *P. paniculata* (Figuras 5-6). Hifas de fungo são observadas em todas as espécies (Figuras 1,3,8,10).

As folhas são hipoestomáticas em *P. laureola* (Figuras 3-4) e anfiestomáticas nas demais (Figuras 1-2,5-10). Os estômatos são do tipo anomocítico em todas as espécies (Figuras 13,19,26,34,40).

Polygala angulata possui indumento profuso, constituído por papilas e tricomas de ápice dilatado com um prolongamento lateral (Figuras 7-8) e o indumento é glabro em *P. cyparissias* (Figuras 1-2,15). Nas demais espécies, o indumento é escasso e representado por tricomas de ápice agudo em *P. laureola* (Figuras 3,11) e *P. violacea* (Figura 10), e por tricomas de ápice dilatado com um prolongamento lateral em *P. paniculata* (Figuras 5,12). Todos os tricomas observados nas espécies estudadas são não glandulares unicelulares com superfície ornamentada (Figuras 22,24-25,37,39,46,49). A epiderme é unisseriada e os estômatos encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas em todas as espécies analisadas (Figuras 15,18,22-23,31-32,37-38,43-44). Em *P. cyparissias,* secreção é observada em células comuns da epiderme (Figuras 15,17-18) e nas células subsidiárias dos estômatos (Figura 18).

Mesofilo – *P. cyparissias* apresenta mesofilo homogêneo (Figura 15) com duas ou três camadas de células parenquimáticas colunares (Figuras 15,17-18). As demais espécies possuem mesofilo dorsiventral (Figuras 23,25,31-33,38-39,43-45). Nestas, o parênquima paliçádico é uniestratificado e o lacunoso, pluriestratificado (Figuras 23,25,31-33,38-39,44-45); em *P. laureola* (Figuras 22-23), os espaços intercelulares do parênquima lacunoso são proeminentes.

Cavidades secretoras estão presentes no clorênquima de *P. paniculata* (Figura 29-33). Nas folhas adultas, apenas o lume das cavidades é visualizado (Figuras 30-33); células epiteliais com secreção são observadas apenas nas folhas jovens (Figura 29). Em *P. violacea*, idioblastos com cristais do tipo drusa ocorrem no clorênquima (*inset* da figura 44).

Os feixes colaterais de menor calibre são delimitados por uma bainha parenquimática (Figuras 25,32-33,38-39,44-45).

Nervura principal - Em seção transversal, as células epidérmicas na região da nervura principal são menores que as demais em ambas as faces de *P. laureola* (Figura 22). O colênquima é constituído por duas a quatro camadas de células observadas junto à epiderme na face abaxial de *P. laureola* (Figura 22) e de *P. angulata* (Figura 37). Nas cinco espécies, o feixe vascular neste nível é único, colateral e destituído de elementos esclerenquimáticos perivasculares (Figuras 15-16,22,31,37,43).

Margem - *P. laureola* apresenta de duas a três camadas de colênquima junto à margem (Figura 25) e as demais espécies apenas clorênquima (Figuras 33,39,45). Em *P. angulata*, os feixes vasculares marginais exibem calibre variável com predominância de elementos xilemáticos (Figura 39).

Pecíolo - Nastismo foliar foi observado no crepúsculo; o movimento é descendente em *P. laureola* e ascendente em *P. violacea*. O pecíolo tem contorno circular em *P. laureola* e *P. violacea* (Figura 49) e plano-convexo em *P. paniculata* (Figura 48). Nas três espécies, a epiderme é unisseriada (Figuras 46,48-49), com tricomas não glandulares unicelulares (Figuras 46,49) e o feixe vascular é único, colateral em arco tênue (Figuras 46-49). Em *P. laureola* e *P. violacea*, o feixe é delimitado por um anel de fibras não lignificadas (seta, Figuras 47,50); o tecido fundamental está constituído por várias camadas de parênquima em *P. laureola* (Figura 46) e por várias camadas de idioblastos traqueoidais em *P. violacea* (Figura 49).

Espécie	comprimento (cm)	largura (cm)	forma	consistência	pecíolo
P. angulata	1,0 - 3,0	0,6 - 1,8	ovada a obovada	coriácea	ausente
P. cyparissias	0,4 - 1,5	0,05 - 0,15	acicular	semicarnosa	ausente
P. laureola	5,0 - 20,0	3,0 - 5,0	elíptica a lanceolada	membranácea	presente
P. paniculata	1,0 - 3,0	0,1 - 0,4	linear a lanceolada	membranácea	presente
P. violacea	3,5 - 4,5	0,7 - 2,0	lanceolada a elíptica	membranácea	presente

Tabela 3. Características morfológicas foliares das espécies estudadas.

ILUSTRAÇÕES

Figuras 1-6. Superfície epidérmica de espécies de *Polygala* de restinga observada em MEV; 3,5. face adaxial; 4, 6. face abaxial. 1-2. *Polygala cyparissias* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 724); notar paredes sinuosas, fendas estomáticas e indumento glabro. 3-4. *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710); notar paredes sinuosas. 3. Estômatos ausentes e indumento escasso. 4. Notar fendas estomáticas. 5-6. *Polygala paniculata* L. (A.C.Aguiar *et al.* 712); notar paredes sinuosas, estômatos e indumento escasso. Escalas: 1-6= 50µm.



Figuras 7-12. Superfície epidérmica de espécies de *Polygala* observadas em MEV; 7, 9. face adaxial; 8, 10- 12. face abaxial. 7-10. Espécies de cerrado. 11-12. Espécies de restinga. 7-8. *Polygala angulata* L. (A.C.Aguiar *et al.* 744); notar paredes retas e indumento profuso, constituído por papilas e tricomas de ápice dilatado com um prolongamento lateral e estômatos (seta). 9-10. *Polygala violacea* Aubl. emend. Marques (A.C.Aguiar *et al.* 685), 11. *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710); notar paredes sinuosas, fendas estomáticas e indumento escasso, tricomas de ápice agudo. 12. *Polygala paniculata* L. (A.C.Aguiar *et al.* 712); indumento escasso, tricomas de ápice



Figuras 13-18. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala cyparissias* A. St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 724). 13. Vista frontal da epiderme da face abaxial; estômatos anomocíticos. 14. Clorênquima. 15. Vista geral da lâmina foliar; notar mesofilo homogêneo (seta). 16-17. Pormenor da figura 15. 16. Nervura central. 17-18. Idioblastos secretores na epiderme (seta - 17). 18. Notar estômatos geminados (seta). 13-14. Corte paradérmico. 15-18. Corte transversal. Escalas: 13-15; 17-18=20µm; 16=50µm.



Figuras 19-25. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala laureola* A. St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710). 19. Vista frontal da epiderme da face abaxial; estômatos anomocíticos. 20. Parênquima paliçádico. 21. Parênquima lacunoso.
22. Nervura central; notar colênquima junto à epiderme na face abaxial (seta).
23. Mesofilo dorsiventral. 24. Tricoma unicelular não glandular de ápice agudo.
25. Margem, notar colênquima (seta). 19-21. Corte paradérmico. 22-25. Corte transversal. Escalas: 19-21,24=20µm; 22=100µm; 23=30µm; 25=50µm.



Figuras 26-33. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala paniculata* L. (A.C.Aguiar *et al.* 712). 26. Vista frontal da epiderme da face adaxial; estômatos anomocíticos. 27. Parênquima paliçádico. 28. Parênquima lacunoso. 29. Cavidade secretora em folha jovem; notar células epiteliais (seta). 30. Cavidade secretora lisígena em folha adulta (seta). 31-33. Mesofilo dorsiventral; notar cavidade lisígena. 31. Nervura central. 33. Margem. 26-28. Corte paradérmico. 29-33. Corte transversal. Escalas: 26=50µm; 27-28=30µm; 29=20µm; 30-33=25µm.



Figuras 34-39. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala angulata* L. (*A.C.Aguiar et al.* 744). 34. Vista frontal da epiderme da face abaxial; estômatos anomocíticos. 35. Parênquima paliçádico. 36. Parênquima lacunoso. 37. Nervura central; notar colênquima junto à epiderme na face abaxial (seta). 38-39. Mesofilo dorsiventral.39. Margem. 34-36. Corte paradérmico. 37-39. Corte transversal. Escalas: 34-36=20µm; 37-39=50µm.



Figuras 40-45. Região mediana da lâmina foliar de *Polygala violacea* Aubl. emend Marques (A.C.Aguiar *et al.* 685). 40. Vista frontal da epiderme da face abaxial; estômatos anomocíticos. 41. Parênquima paliçádico. 42. Parênquima lacunoso. 43. Nervura central; notar estômatos em ambas as faces da epiderme. 44-45. Mesofilo dorsiventral drusa (seta); notar drusa observada em luz polarizada no i*nset* da figura 44. 45. Margem. 40-42. Corte paradérmico. 43-45. Corte transversal. Escalas: 40,45=50µm; 41-42=20µm; 43-44=30µm.



Figuras 46-51. Cortes transversais da região proximal do pecíolo de espécies de *Polygala* L. 46-47. *Polygala laureola* A.St.-Hil. & Moq. (A.C.Aguiar *et al.* 710); notar fibras não lignificadas (seta). 48. *Polygala paniculata* L. (A.C.Aguiar *et al.* 712). 49-51. *Polygala violacea* Aubl. emend Marques (A.C.Aguiar *et al.* 685); notar fibras não lignificadas (seta) e idioblastos traqueoidais. Escalas: 46, 49=50µm; 47,50=20µm; 48=25µm, 51=10µm.



Discussão

Em todas as espécies estudadas, a epiderme é unisseriada, com estômatos anomocíticos, dispostos no mesmo nível das demais células epidérmicas. O feixe vascular da nervura principal é único, colateral em arco tênue e destituído de elementos esclerenquimáticos perivasculares; os feixes de menor calibre são delimitados por uma bainha parenquimática. Estes caracteres são unificadores nas espécies investigadas e coerentes com as caracterizações já apresentadas para Polygalaceae (Solereder 1908; Metcalfe e Chalk 1950, 1979; Pyykkö 1966; Dickison 1973; Eriksen 1993).

A epiderme possui células de contorno sinuoso em todas as espécies estudadas da restinga e em uma das espécies do cerrado, *P. violacea.* Apenas *P. angulata,* espécie de cerrado, possui células de contorno reto. Esau (1977) e Medri & Lleras (1980) sugeriram que a menor sinuosidade da parede celular pode estar relacionada às características adaptativas contra a perda excessiva de água.

Nas espécies da restinga, materiais particulados são encontrados sobre a epiderme em quantidades superiores aos das espécies de cerrado. Sugere-se que estes materiais sejam partículas de sal e que se depositam em maior proporção nas espécies da restinga devido à proximidade com o mar. Hifas de fungo são observadas sobre a epiderme de todas as espécies estudadas.

As folhas são anfiestomáticas, exceto em *P. laureola* que apresenta folhas hipoestomáticas. Medri & Lleras (1980) sugeriram que, nas folhas anfiestomáticas, há otimização das trocas gasosas nos períodos de alta umidade relativa. Além disso, segundo Mott *et al.* (1982), folhas anfiestomáticas possuem maior condução de gás carbônico e alta capacidade fotossintetizante, o que estaria associado aos ambientes com maior intensidade luminosa.

A distribuição das plantas em seu habitat e a intensidade luminosa à qual estão submetidas corroboram a correlação entre estômatos e tipo de ambiente. Ao estudar 39 espécies xeromórficas da Austrália, Burrows (2001) observou que as espécies com folhas anfiestomáticas eram mais espessas que aquelas com folhas hipoestomáticas. Entre as espécies aqui analisadas, *P. laureola* foi a que apresentou lâmina foliar mais delgada, corroborando com as observações de Burrows (2001). Para Marques & Peixoto (2007), a presença de folhas hipoestomáticas é uma característica diagnóstica do subgênero *Ligustrina* (Chodat) Paiva, ao qual pertence *P. laureola*.

O indumento é glabro em *P. cyparissias*, espécie de duna; profuso em *P. angulata*, de cerrado; escasso nas demais espécies. Tanto na restinga quanto no cerrado, quando presentes, os tricomas são não glandulares unicelulares e apresentam três subtipos: papilas, com ápice dilatado com um prolongamento lateral ou com ápice agudo. Kay *et al.* (1981) sugeriram que epiderme papilosa encontrada nas pétalas auxilia na reflexão dos raios luminosos; esta mesma função já foi indicada para o indumento que recobre os órgãos vegetativos (Haberlandt 1928, Esau 1977, Fahn 1990). O indumento não glandular em folhas adultas provavelmente atua na redução da transpiração (Fontenelle *et al.* 1994). Gibson (1996) considerou que uma grande quantidade de tricomas em plantas com características xeromórficas é um dos caracteres morfológicos que auxilia na estratégia adaptativa da planta em habitat árido. Neste estudo, sugere-se que as papilas observadas em *P. angulata* possuem este papel, baseando-se em Theobald *et al.* (1979) que caracterizaram as papilas como um subtipo de tricoma.

O mesofilo é dorsiventral, exceto em *P. cyparissias*, que tem mesofilo homogêneo. Aquele é o tipo que predomina nos representantes da família, na qual também ocorre o tipo isobilateral (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950). O mesofilo em *P. laureola* possui parênquima lacunoso com espaços intercelulares proeminentes, aspecto típico de plantas mesófitas (Esau 1977, Fahn 1990, Mendes & Paviani 1997). Pyykkö (1966) observou a ocorrência de mesofilo homogêneo em espécies de semideserto, onde haveria baixa disponibilidade hídrica e alta incidência luminosa. A presença deste tipo de mesofilo em *P. cyparissias* pode estar relacionada ao ambiente ocupado pela espécie (duna) e à posição vertical de suas folhas em relação à incidência luminosa.

Shields (1951), Pyykkö (1966), Fahn & Cutler (1992) e Burrows (2001) verificaram que as folhas que se apresentam em posição vertical em relação ao sol possuem mesofilo isobilateral ou homogêneo, como observado em *P. cyparissias*.

Os três tipos de estruturas secretoras observados representam uma referência inédita para as espécies brasileiras de *Polygala*, a saber: idioblastos na epiderme de *P. cyparissias*, cavidades lisígenas no mesofilo de *P. paniculata* e nectários extranupciais de origem estipular ocupando posição nodal em *P. laureola* (Capítulo 1). Estas estruturas já foram relatadas para folhas de espécies de *Polygala* por Chodat (1891), Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1950). Eriksen (1993) também mencionou a ocorrência de glândulas foliares e nodais em espécies de Polygalaceae, ressaltando a sua importância para a taxonomia dos gêneros da família.

Idioblastos cristalíferos estão presentes apenas no parênquima lacunoso de *P. violacea*. Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1950) citaram a

211

ocorrência destas estruturas nas folhas de espécies de *Bredemeyera* Willd. e *Xanthophyllum*, mas nada mencionaram para *Polygala*.

Idioblastos traqueoidais são descritos pela primeira vez no pecíolo de espécies de *Polygala*. Até o momento, estas estruturas haviam sido mencionadas apenas nas lâminas foliares de *P. ephedoides* Burch, assim como em de *Badiera domingensis* DC. (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950) e em espécies de *Xanthophyllum* (Dickison 1973).

O nastismo observado em *P. laureola e P. violacea* está relacionado às características anatômicas do pecíolo. Em *P. violacea*, são encontrados idioblastos traqueoidais e fibras não lignificadas perivasculares. Em *P. laureola*, várias camadas de parênquima fundamental e fibras não lignificadas perivasculares são registradas. As características descritas para o pecíolo de *P. laureola* também foram descritas para o pulvino de *Pterodon pubescens* Benth. (Leguminosae) por Rodrigues & Machado (2004), que as evidenciaram como responsáveis pelo movimento foliar.

Os caracteres anatômicos inventariados indicam dois padrões estruturais nas folhas das espécies estudadas, mesomórficos e xeromórficos, comuns à restinga e ao cerrado (Tabela 4). *P. laureola* (restinga), *P. paniculata* (restinga) e *P. violacea* (cerrado) apresentam características mesomórficas, tais como: folhas membranáceas, epiderme unisseriada com células de paredes sinuosas, estômatos no mesmo nível das demais células epidérmicas, mesofilo dorsiventral e ausência de elementos esclerificados. Tais características são referidas na literatura para plantas mesófitas (Esau 1977, Fahn 1990).

P. cyparissias (restinga) e *P. angulata* (cerrado) apresentam características xeromórficas. As folhas de *P. cyparissias* são semicarnosas, aciculares, com área foliar reduzida, indumento ausente e mesofilo homogêneo.

Fahn & Cutler (1992) identificaram estas características como estratégias para aumentar a resistência contra a perda de água. Segundo Esau (1977), a redução volume-superfície é característica predominante em folhas xeromórficas. Para Maranhão *et al.* (2006), a redução na área foliar em espécies de *Podocarpus* (Podocarpaceae) pode estar correlacionada à ocorrência de mesofilo espesso e células alongadas no parênguima clorofiliano.

P. angulata possui folhas coriáceas, com área foliar reduzida, células epidérmicas de paredes retas, indumento constituído por células papilosas e tricomas não glandulares unicelulares. Algumas destas características já foram mencionadas para espécies de outras famílias que ocorrem em duna (Andrade 1967), cerrado (Morretes & Ferri 1959, Morretes 1966) e campos rupestres (Handro 1966, Monteiro *et al.* 1985). Ao estudar espécies xeromórficas do leste da Patagônia, Pyykkö (1966) relatou tricomas unicelulares não glandulares e mesofilo compacto para as folhas de *P. darwiniana* A.W.Benn.; características estas similares às presentes em *P. angulata*.

Ressalta-se que o xeromorfismo foliar observado em *P. angulata e P. cyparissias* pode estar associado a mais de um fator, como luminosidade, temperatura, disponibilidade hídrica, composição do solo (Morretes & Ferri 1959, Pyykkö 1966, Fahn & Cutler 1992) e salinidade, sendo importante ainda levar em consideração o que Levitt (1980) observou, sobre a dificuldade em dissociar o stress salino do hídrico.

	Restinga			Cerrado	
	P. cyparissias	P. laureola	P. paniculata	P. angulata	P. violacea
consistência	semicarnosa	membranácea	membranácea	coriácea	membranácea
redução da área foliar	+	-	-	+	-
pecíolo	-	+	+	-	+
contorno cls. epidérmicas	sinuoso	sinuoso	sinuoso	reto	sinuoso
epiderme papilosa	-	-	-	+	-
tricoma	-	TAG	TAD	TAD	TAG
estômatos	anfiestomática	hipoestomática	anfiestomática	anfiestomática	anfiestomática
estruturas secretoras	idioblasto	nectário	cavidade	-	-
mesofilo	homogêneo	dorsiventral	dorsiventral	dorsiventral	dorsiventral
idioblasto cristalífero	-	-	-	-	+
idioblasto traqueoidal	-	-	-	-	+
colênguima	-	+	-	+	-
(nervura principal)					
elementos	-	-	-	-	-
esclerenquimáticos					

Tabela 4. Características morfológicas foliares das cinco espécies investigadas de Polygala L.

Legenda: + = presente; - = ausente; TAG= tricoma de ápice agudo; TAD= tricoma de ápice dilatado com um prolongamento lateral.

- AGUIAR, A.C.A.; MARQUES, M.C.M. & YAMAMOTO, K. 2008. Taxonomia das espécies de *Polygala* L. subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) ocorrentes no Brasil. Revista Brasileira de Biociências 6: 91-109.
- ANDRADE, M.A.B.de 1967. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas das dunas do litoral do estado de São Paulo. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica 22: 3-170.
- ASSIS, M.A. 1999. Florística e caracterização das comunidades vegetais da planície costeira de Picinguaba, Ubatuba. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- BURROWS, G.E. 2001. Comparative anatomy of the photosynthetic organs of 39 xeromorphic species from subhumid New South Wales, Australia. International Journal of Plants Sciences 162: 411-430.
- CASTRO, A.A.J.F.; MARTINS, F.R.; TAMASHIRO, J.Y. & SHEPHERD, G.J. 1999. How rich is the flora of brazilian cerrado? Annals of the Missouri Botanical Garden 86: 192-224.
- CHODAT, R. 1891. Monographia Polygalacearum. I. Mémoires de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève 31, suppl. 7: 1-143.
- DICKISON, W.C. 1973. Nodal and leaf anatomy of *Xanthophyllum* (Polygalaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 67: 103-115.
- DICKISON, W.C. 2000. Integrative plant anatomy. Harcourt/Academic Press, San Diego.

- ERIKSEN, B. 1993. Phylogeny of the Polygalaceae and it is taxonomic implications. Plant Systematis and Evolution 186: 33-55.
- ESAU, K. 1977. Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons, New York.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford.
- FAHN, A. & CUTLER, D. 1992. Xerophytes. Gebreider Borntraeger, Berlin.
- FERRACINI, M.C.; FERLINI, R.F. & CAVASSAN, O. 1983. Composição florística de uma área de cerrado no município de Bauru, SP. Salusvita 2: 1-9.
- FONTENELLE, G.B.; COSTA, C.G. & MACHADO, R.D. 1994. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 115: 111-133.
- GERLACH, D. 1969. Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung. Georg Thieme, Stuttgart.
- GIANNOTTI, E. & LEITÃO FILHO, H.F. 1992. Composição florística do cerrado da Estação Experimental de Itirapina (SP). In: R.R. Sharif. (ed.).
 Anais do 8° Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Campinas, pp. 21-25.
- GIBBS, B.E.; LEITÃO-FILHO, H.F; SHEPHERD, G. 1983. Floristic composition and community structure in an area of cerrado in S.E. Brazil. Flora, São Paulo, V.173, p.433-449.
- GIBSON, A.C. 1996. Structure-function relations of warn desert plants. Springer, Berlin.
- HANDRO, W. 1966. Escleromorfismo foliar e nutrição mineral de *Gomphrena* prostata (Mart.). Anais da Academia Brasileira de Ciências 38: 225-242.
- HANDRO, W. 1967. Contribuição ao estudo da venação e anatomia foliar das amarantáceas dos cerrados. II Gênero *Pfaffia*. Anais da Academia Brasileira de Ciências 39: 495-506.
- HABERLANDT, G. 1928. Physiological Plant Anatomy. Mc Millan & Co., London.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- KAY, Q.O.N.; DAOUD, H.S. & STIRTON, C.H. 1981. Pigment distribution, light reflection and cell structure in petals. Botanical Journal of the Linnean Society 83: 57-84.
- LEVITT, J. 1980. Responses of plants to environmental stress. Stanford, California.
- LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and pratical histochemistry. 3rd ed., McGraw Hill, New York.
- MANTOVANI, W. & MARTINS, F.R. 1993. Florística do cerrado na Reserva Biológica de Moji Guaçu, SP. Acta Botanica Brasilica 7: 33-60.
- MARANHÃO, L.T.; GALVÃO, F.; PREUSHER, K.H.; MUNIZ, G.I.B. & KUNIYOSHI, Y.S. 2006. Efeitos da poluição por petróleo na estrutura da folha de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl., Podocarpaceae. Acta Botanica Brasílica 20: 615-624.
- MARQUES, M.C.M. 1979. Revisão das espécies do gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) do Estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia 31: 69-339.
- MARQUES, M.C.M. & AGUIAR, A.C.A. 2000. Flora Fanerogâmica (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga): 128 Polygalaceae 27: 159-164.
- MARQUES, M.C.M. & GOMES, K. 2002. Polygalaceae. *In* Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. G, Wanderley, G. Shepherd & A.M. Giulietti (eds.). V.2, p.229-259.

- MARQUES, M.C.M. & PEIXOTO, A.L. 2007. Estudo taxonômico do gênero Polygala L. subgênero Ligustrina (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Rodriguésia 58: 95-146.
- MEDRI, M.E. & LLERAS, E. 1980. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. Acta Amazônica 10: 463-493.
- MENDES, I.C.A. & PAVIANI, T.I. 1997. Morfoanatomia comparada das folhas
 do par vicariante *Plathymenia foliosa* Benth. e *P. reticulata* Benth.
 (Leguminosae Mimosoideae). Revista Brasileira de Botânica 20: 185-195.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. V.2, Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject. V.1. Clarendon Press, Oxford.
- MONTEIRO, W.R.; CASTRO, M. de M. & GIULIETTI, A.M. 1985. Aspects of leaf structure of some species of *Leiothrix* Ruhl. (Eriocaulaceae) from the Serra do Cipó (Minas Gerais, Brazil). Revista Brasileira de Botânica 8: 109-125.
- MORRETES, B.L. 1966. 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, Botânica 22: 291-312.
- MORRETES, B.L. 1968. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado III. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica 24: 239-252.

- MORRETES, B.L. & FERRI, M.G. 1959. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica 16: 5-140.
- MOTT, K.A.; GIBSON, A.C & O'LEARY, J.W. 1982. The adaptative significance of amphistomatic leaves. Plant, Cell and Environment 5: 455-460.
- NAITO, R. & TOHDA, C. 2006. Characterization of anti-neurodegenerative effects of *Polygala tenuifolia* in A beta (25-35)-treated cortical neurons. Biological & Pharmaceutical Bulletin 29: 1892-1896.
- PAVIANI, T.I. & FERREIRA, M.L. 1974. Anatomia foliar de *Plathymenia reticulata* Benth. Revista Brasileira de Biologia 49: 37-48.
- PIZZOLATTI, M.G.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D. & CRISTIANO, R. 2002. Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia 12: 21-26.
- PIZZOLATTI, M.G., Pereira, W.S. & Monache, F.D. 2004 . A new styryl-2pyrone derivative from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae). Biochemical Systematics and Ecology 32: 603-606.
- PYYKKO, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. Annales Botanici Fennici 3: 453-622.
- RADFORD, A.E; DICKISON, W.C; MASSEY, J.R. & BELL, C.R. 1974. Vascular Plant Systematics. Harper & Row Publishers, New York.
- RODRIGUES, T. & MACHADO, S. R. 2004. Anatomia comparada do pulvino, pecíolo e raque de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae - Faboideae). Revista Brasileira de Botânica 18: 381-390.
- SHIELDS, L.M. 1951. Leaf xeromorphy in dicotyledons species from a gypsum sand deposit. American Journal of Botany 38: 175-190.

- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Translated by L.A. Boodle & F.G. Fritsch. V.1, Clarendon Press, Oxford.
- THEOBALD, W.L.; KRAHULIK, J.L. & ROLLINS, R.C. 1979. Trichome description and classification. *In*: C.R. Metcalfe & L. Chalk (eds.). Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem, with a brief history of the subject. V.1. Clarendon Press, Oxford, pp. 40-53.
- TOLEDO FILHO, D.V. 1984. Composição florística e estrutura fitossociológica da vegetação de cerrado no município de Luis Antônio (SP). Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Considerações Finais

As investigações realizadas para *Polygala*, durante décadas, estavam relacionadas a estudos estritamente taxonômicos e fitoquímicos. Neste trabalho foi possível levantar novos dados morfológicos referentes às cinco espécies de *Polygala* presentes na restinga e no cerrado do estado de São Paulo. Tais observações, até então desconhecidas para o gênero, demonstram a diversidade que as espécies do grupo possuem. A caracterização de estruturas secretoras inéditas e a elaboração de um inventário de caracteres morfológicos presentes no eixo vegetativo foram os principais pontos abordados nos cinco capítulos da tese.

No primeiro capítulo, foi possível verificar que as glândulas nodais presentes em *Polygala laureola* se tratam de nectários extranupciais estipulares (Tabela 1) ocupando posição nodal; um dado de extrema relevância para o gênero. Até o presente estudo, estas glândulas eram consideradas pertencentes ao caule e não à folha (Marques & Peixoto 2007). Sua vascularização ligada ao traço foliar confirmou sua origem e com a constatação da presença de glicose na secreção das glândulas estipulares de *P. laureola* e o registro de formigas coletando o néctar, estas glândulas são identificadas como nectários extranupciais. Tais estruturas são descritas anatomicamente em *Polygala* pela primeira vez. A relevância das glândulas posicionadas na altura do nó é utilizada por Eriksen & Persson (2007) para confirmar a separação do subgênero *Pterocarya* DC., dos demais subgêneros de *Monnina*, e sua elevação à categoria de gênero, como *Pteromonnina* B. Eriksen.

A distribuição e a organização dos tecidos vasculares destes nectários também se mostraram dados interessantes. Enquanto o xilema está presente somente na base da glândula, nas demais regiões, apenas o floema é observado ao redor do tecido secretor. Organização semelhante foi observada nos nectários de *Chamaecrista trichopoda* (Benth.) Britton & Killip. (Leguminosae) por Francino *et al.* (2006); porém, o xilema se estende até o ápice do nectário nesta espécie.

A ocorrência de nectários extranupciais de origem estipular em Polygalaceae é um resultado de grande relevância para os estudos filogenéticos, pois esta família está atualmente incluída junto às Leguminosae em Fabales (APG II 2003). A presença de estípulas era um dos caracteres distintivos entre Leguminosae e Polygalaceae até o presente trabalho.

No segundo capítulo, as glândulas da inflorescência de *P. laureola* foram investigadas. Ao contrário do que já foi observado no eixo vegetativo, que possui dois nectários estipulares na região nodal, apenas uma glândula foi observada na base de cada flor. No entanto, semelhanças com os nectários estipulares presentes no eixo vegetativo foram descritas como: glicose na secreção, registro de formigas coletando néctar, organização do tecido vascular com xilema apenas na base da glândula. Como os nectários estipulares, estas glândulas são identificadas como nectários extranupciais pela primeira vez. A presença de nectários extranupciais no eixo reprodutivo é um dado inédito para *Polygala*. Até o presente momento, a origem destes nectários não foi investigada.

Além do estudo dos nectários extranupciais dos eixos vegetativo e reprodutivo de *P. laureola,* destaca-se no terceiro capítulo, mais uma estrutura secretora para o gênero: os ductos secretores de *P. angulata* (Tabela 1).

Tais estruturas estão sendo identificadas como sítios de síntese de compostos hidrossolúveis - mucilagem. A presença de ductos mucilaginosos *em*

P. angulata também é um dado inédito para a família. Os ductos observados são formados quando a estrutura caulinar encontra-se em estádio meristemático, ao contrário dos nectários observados em *P. laureola*, que se apresentam em fase secretora quando o caule está completamente desenvolvido.

No quarto capítulo, um inventário morfológico foi realizado nas cinco espécies de *Polygala* ocorrentes na restinga e no cerrado do estado de São Paulo: *P. angulata* (cerrado), *P. cyparissias* (restinga), *P. laureola* (restinga), *P. paniculata* (restinga) e *P. violacea* (cerrado), evidenciando-se que a estrutura primária do sistema caulinar apresentou-se distintiva, enquanto que a estrutura secundária do caule e da raiz apresentou-se conservativa (Tabela 1).

P. cyparissias é a única espécie em que o sistema caulinar é constituído exclusivamente por estrutura primária. Em relação ao caule subterrâneo, somente *P. laureola* possui tal formação. Nas cinco espécies estudadas, a epiderme se mantem por todo o caule aéreo, tanto em estrutura primária quanto secundária, e a periderme ocorre apenas no sistema subterrâneo.

Dentre os caracteres distintivos, destaca-se o contorno do caule em corte transversal, o tipo de tricoma, a ocorrência (presença ou ausência) de elementos esclerenquimáticos e de estruturas secretoras (Tabela 1).

Os tricomas são não glandulares unicelulares com dois tipos de ápice: agudo e de ápice dilatado com um prolongamento lateral. O tipo agudo é observado em *P. laureola* (subg. *Ligustrina*) e *P. violacea* (subg. *Hebeclada*), enquanto que o tipo de ápice dilatado com um prolongamento lateral ocorre em *P. angulata* e *P. paniculata* (subg. *Polygala*). *P. cyparissias* apresenta indumento glabro. Elementos esclerenquimáticos perivasculares estão presentes no caule das cinco espécies e na estrutura secundária das raízes de *P. laureola* e *P. angulata*, ambas com porte subarbustivo.

Idioblastos epidérmicos e ductos mucilaginosos estão registrados para o caule de *P. angulata* e *P. cyparissias*. Nenhum tipo de estrutura secretora foi encontrado nas raízes das espécies estudadas (Tabela 1). Os idioblastos ocorrem em *P. angulata* e *P. cyparissias*, e os ductos apenas em *P. angulata*.

No quinto e último capítulo, dois padrões estruturais são observados nas folhas das espécies estudadas de restinga e de cerrado. De acordo com os dados obtidos foi possível verificar que *P. laureola*, *P. paniculata* (restinga) e *P. violacea* apresentam características mesomórficas, tais como folhas membranáceas, epiderme unisseriada com células de paredes sinuosas, estômatos no mesmo nível das demais células epidérmicas, mesofilo dorsiventral e ausência de elementos esclerificados (Tabela 1).

P. cyparissias (restinga) e *P. angulata* (cerrado) apresentam características xeromórficas. As folhas de *P. cyparissias* são semicarnosas, aciculares, com área foliar reduzida, indumento ausente e mesofilo homogêneo. *P. angulata* possui folhas coriáceas, com área foliar reduzida, células epidérmicas com paredes retas, indumento constituído por células papilosas e tricomas não glandulares unicelulares. Algumas destas características já foram mencionadas para espécies de outras famílias que ocorrem em duna (Andrade 1967), cerrado (Morretes & Ferri 1959, Morretes 1966) e campos rupestres (Handro 1966, Monteiro *et al.* 1985). Ao estudar espécies xeromórficas do leste da Patagônia, Pyykkö (1966) relatou tricomas unicelulares não glandulares e mesofilo compacto para as folhas de *Polygala darwiniana*, características estas similares às presentes em *P. angulata*. O xeromorfismo foliar observado em *P. angulata e P. cyparissias* pode estar associado a mais de um fator, como luminosidade, temperatura, disponibilidade hidríca e composição do solo (Morretes & Ferri 1959, Pyykkö 1966, Fahn & Cutler 1992). Segundo Levitt (1980), é difícil dissociar o stress salino do hídrico.

2	2	6
7	4	υ

		Restinaa			Cerrado	
		P. cyparissias	P. laureola	P. paniculata	P. angulata	P. violacea
	Estrutura primária			· · ·		
	zona pilífera	+	no	+	+	+
	epiderme unisseriada	+	no	+	+	+
	parênguima fundamental	+	no	+	+	+
	estruturas secretoras	_	no	-	-	_
	endoderme / periciclo	no	no	no	no	+
	Estrutura secundária					
raiz	periderme	+	+	+	+	+
	parênguima fundamental	+	+	+	+	+
	estruturas secretoras	-	-	-	-	-
	parênguima de reserva	-	-	-	+	-
	gemas	-	-	-	+	+
	elem, escl. perivascular	-	+	-	+	-
	-					
	Estrutura primária					
	contorno	sinuoso	circular	obovado	triangular	oblongo
	epiderme unisseriada	+	+	+	+	+
	tricoma	_	TAG	TAD	TAD	TAG
	estruturas secretoras	idioblasto	-	-	idioblasto/ducto	-
	clorênguima	+	-	-	+	-
	colênguima	-	-	+	-	-
	bainha parenguimática	+	-	+	-	-
	elem, escl. perivascular	+	-	-	-	-
	tipo de estelo	sifonostelo	eustelo	eustelo	eustelo	eustelo
caule	Estrutura secundária					
	contorno	-	circular	circular	triangular	circular
	epiderme (caule aéreo)	-	+	+	+	+
	periderme (caule	-	+	-	-	-
	subterrâneo)					
	clorênquima	-	-	+	+	+
	bainha parênquimática	-	+	+	+	+
	elem. escl. perivascular	-	+	+	+	+
	· · ·					
folha	consistência	semicarnosa	membranácea	membranácea	coriácea	membranácea
	redução da área foliar	+	-	-	+	-
	pecíolo	-	+	+	-	+
	contorno cls. epidérmicas	sinuoso	sinuoso	sinuoso	reto	sinuoso
	epiderme papilosa	-	-	-	+	-
	tricoma	-	TAG	TAD	TAD	TAG
	estômatos	anfiestomática	hipoestomática	anfiestomática	anfiestomática	anfiestomática
	estruturas secretoras	idioblasto	nectário	cavidade	-	-
	mesofilo	homogêneo	dorsiventral	dorsiventral	dorsiventral	dorsiventral
	idioblasto cristalífero	-	-	-	-	+
	idioblasto traqueoidal	-	-	-	-	+
	colênguima	-	+	-	+	-
	(nervura principal)					
	elementos	-	-	-	-	-
	esclerenguimáticos					

Tabela 1. Características morfológicas do eixo vegetativo das cinco espécies investigadas de Polygala L.

Legenda: + = presente; - = ausente; ... = estrutura não disponível; no= não observado; TAG= tricoma de ápice agudo; TAD= tricoma de ápice dilatado com um prolongamento lateral.

Em linhas gerais, os resultados alcançados nestes cinco capítulos demonstram a grande diversidade morfológica presente nas espécies estudadas de *Polygala*, com a descrição inédita de quatro diferentes tipos de estruturas secretoras para o gênero. Quando *Polygala* foi alvo de uma análise deste tipo, em que as características anatômicas de órgãos vegetativos foram descritas (Metcalfe & Chalk 1950), nenhuma espécie brasileira estava incluída, o que torna os dados apresentados ainda mais relevantes.

Ressalta-se o provável valor taxonômico das estruturas secretoras para *Polygala*. Os nectários estipulares de posição nodal, por exemplo, poderão auxiliar no reposicionamento do subgênero *Ligustrina*, corroborando as análises moleculares mencionadas por Forest (com. pess.). A relevância dos dados obtidos para *P. laureola* deve-se à presença do nectário e à sua origem estipular.

As outras estruturas secretoras observadas também poderão apresentar valor taxonômico, como as cavidades e os ductos, ambas intraespecíficas dentre os táxons estudados. Enquanto estas estruturas ocorrem em apenas uma das espécies, idioblastos secretores epidérmicos são encontrados em espécies do subgênero *Polygala*.

As estruturas secretoras já subsidiaram a taxonomia, com caracteres relevantes para delimitar gêneros e espécies de Polygalaceae (Marques 1979, Eriksen 1993, Marques 1996, Aguiar 2005, Eriksen & Persson 2007, Marques & Peixoto 2007, Aguiar *et al.* 2008). Dentre as estruturas secretoras que possuem valor taxonômico para *Polygala* estão as cavidades. A ocorrência e posição destas estruturas em órgãos vegetativos e reprodutivos são caracteres utilizados na delimitação de grupos subgenéricos e intraespecíficos do gênero (Marques 1979). Estas cavidades geralmente apresentam coloração

227

amarelada nos órgãos reprodutivos e foram denominadas como glândulas cróceas nos estudos taxonômicos (Marques 1979, Marques & Gomes 2002). No entanto, somente características morfológicas relacionadas à forma, tamanho e coloração das glândulas são utilizadas nos estudos do gênero, não havendo investigações anatômicas destas estruturas amplamente encontradas nas espécies do subg. *Polygala* (Chodat) Paiva (Marques 1979).

Ao comparar os dados apresentados nos dois últimos capítulos, observase que os caracteres distintivos estão presentes na estrutura primária do caule e nas folhas. Caracteres conservativos são observados na estrutura secundária do caule e da raiz das cinco espécies. Tanto os caracteres distintivos quanto os conservativos devem ser analisados em mais táxons, com o propósito de verificar a ocorrência de padrões em outras espécies brasileiras de *Polygala* e nos demais gêneros de Polygalaceae.

Atualmente, pesquisadores de diversas instituições mundiais realizam estudos moleculares com membros de Polygalaceae. Apesar da família não apresentar um número considerável de espécies, existe uma grande dificuldade em analisá-la de forma geral. Os trabalhos recentemente publicados apresentam análises parciais com poucos representantes de cada gênero, principalmente os predominantemente brasileiros (Persson 2001, Forest & Manning 2006, Forest *et al.* 2007). Os resultados destas pesquisas evidenciam que *Polygala* será desmembrado, não possuindo mais 12 subgêneros, alguns subgêneros serão elevados a gêneros e outros serão reposicionados. O estudo morfológico da família é de grande importância neste momento e todo o tipo de análise que auxilie no conhecimento do grupo poderá ser utilizado na circunscrição e no seu reposicionamento.

228

Perspectivas

Com o presente trabalho, iniciamos uma linha de estudo com o propósito de investigar a anatomia de espécies brasileiras de Polygalaceae, com ênfase nas estruturas secretoras. Novos dados foram acrescentados ao conhecimento morfológico do grupo e novas perguntas levantadas ao longo do estudo. Tais questionamentos demonstram a importância dos caracteres morfológicos não só para *Polygala*, mas para a família também. Fato este, já ressaltado em estudos taxonômicos e fitoquímicos.

Segue abaixo, algumas das possíveis abordagens relacionadas às espécies estudadas na tese:

- Analisar a ultra-estrutura do nectário estipular de *P. laureola* em várias fases de desenvolvimento;
- Verificar a origem dos nectários da inflorescência de P. laureola;
- Identificar as principais classes de compostos químicos presentes nas células epidérmicas de *P. cyparissias* e das cavidades em *P. paniculata* pela caracterização histoquímica do exsudato em material vivo;
- Identificar o tipo de formação dos ductos mucilaginosos.

Em seguida, listamos possíveis abordagens que englobam espécies e gêneros não descritos neste estudo e que foram surgindo paralelamente aos tópicos mencionados acima. Tais aspectos poderão contribuir para o conhecimento de Polygalaceae. Das 240 espécies de Polygalaceae (180 de *Polygala*) que ocorrem em território brasileiro, apenas cinco foram investigadas até o momento. Ressalta-se que nesta nova abordagem o número e a ocorrência das espécies ainda serão definidos.

- Realizar um inventário morfológico das estruturas secretoras presentes nos órgãos aéreos dos principais gêneros brasileiros da família: Diclidanthera; Monnina; Moutabea; Polygala; Securidaca;
- > A partir do inventário, aplicar testes histoquímicos nas estruturas secretoras selecionadas e assim, identificar as principais classes de compostos químicos presentes na família;
- Verificar a origem das glândulas nodais de outras espécies do subg. Ligustrina e dos gêneros Diclidanthera, Monnina, Moutabea e Securidaca, além de caracterizar o exsudato liberado.

O estudo anatômico de Polygalaceae está no início e com a continuidade deste trabalho nos próximos anos, novos dados serão acrescentados e auxiliarão na interpretação morfológica de Polygalaceae. Acredita-se que a descrição estrutural do grupo trará resultados relevantes na circunscrição da família com dados que podem auxiliar corroborando aos estudos filogenéticos ao lado dos dados moleculares. Além disso, no conhecimento das principais classes de compostos químicos sintetizados pelas estruturas secretoras, de ocorrência expressiva nas espécies de Polygalaceae. **Referências Bibliográficas** (Introdução geral e Considerações finais)

- AGUIAR, A.C.A. 2005. Estudos taxonômicos sobre o gênero *Polygala* subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) no Brasil. Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- AGUIAR, A.C.A. & ARANHA FILHO, J.L.M. 2008. A família Polygalaceae na planície litorânea de Picinguaba, Ubatuba, São Paulo, Brasil (aceito para publicação na Revista Brasileira de Biociências).
- AGUIAR, A.C.A. & MARQUES, M.C.M. 2001. Flora Fanerogâmica do Parque Nacional do Caparaó - Polygalalceae. Pabstia 12: 1-3.
- AGUIAR, A.C.A.; MARQUES, M.C.M. & YAMAMOTO, K. 2008. Taxonomia das espécies de *Polygala* L. subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) ocorrentes no Brasil. Revista Brasileira de Biociências 6: 91-109.
- ANDRADE, C.H.S; BRAZ FILHO, R.; GOTTLIEB, O.R. & SILVEIRA, E.R. 1977. The chemistry of Brazilian Polygalaceae.1. Xanthones from *Polygala spectabilis*. Lloydia 40: 344-346.
- ANDRADE, M.A.B.de 1967. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas das dunas do litoral do estado de São Paulo. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica 22: 3-170.
- APG-II (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 1-399.
- ASSIS, M.A. 1999. Florística e caracterização das comunidades vegetais da planície costeira de Picinguaba, Ubatuba - SP. Tese de doutorado. Programa de Biologia Vegetal. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- CAMPOS, R.O.P.; SANTOS, A.R.S.; VAZ, Z.R.; PINHEIRO, T.R.;
 PIZZOLATTI, M.G.; CECHINEL FILHO,V.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A.
 & CALIXTO, J.B. 1997. Antinociceptive properties of hidroalcoholic extract and preliminary study of xanthone isolated from *Polygala cyparissias* (Polygalaceae). Life Science 61: 1619-1630.
- CHUNG, I.W.; MOORE, N.A. & OH, W.K. 2002. Behavioural pharmacology of polygalasaponins indicatives potencial antipsychotic efficacy. Pharmacology Biochemistry and Behavior 71: 191-195.
- CORNER, J.J.; HARBORNE, J.B.; HUMPHRIES, S.G. & OLLIS, W.D. 1962. Plant polyphenols.7. The hydroxycinnamoyl esters of *Polygala senega* root. Phytochemistry 1: 73-77.
- DAROS, M.D.R.; MATOS, F.J.D.A. & PARENTE, J.P. 1996. A new triterpenoid saponin, bredemeyeroside B, from the roots of *Bredemeyera floribunda*. Planta Medica 62: 523-527.
- DESBENE, S.; HANQUET, B. & SHOYAMA, Y. 1999. Biologically active triterpene saponins from callus tissue of *Polygala amarella*. Journal of Natural Products 62: 923-926.
- DICKISON, W.C. 1973. Nodal and leaf anatomy of *Xantophyllum* (Polygalaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 67: 103-115.
- ERIKSEN, B. 1993. Floral anatomy and morphology in the Polygalaceae. Plants Systematics and Evolution 186: 17-32.
- ERIKSEN, B. & PERSSON, C. 2007. Polygalaceae. *In* The Families and Genera o Vascular Plants (K. Kubitzki, ed.). V. IX. Flowering Plants. Eudicots. Springer, Berlin.

FAHN, A. & CUTLER, D. 1992. Xerophytes. Gebreider Borntraeger, Berlin.

- FOREST, F. & MANNING, J.C. 2006. Evidence for inclusion of south African endemic *Nylandtia* in *Muraltia* (Polygalaceae). Systematic Botanic 31: 525-535.
- FOREST, F.; CHASE, M.W.; PERSSON, C.; CRANE, P.R. & HAWKINS, J.A. 2007. The role of biotic and abiotic factors in evolution of ant dispersal in the milkwort family (Polygalaceae). Evolution 61: 1675-1694.
- FRANCINO, D.M.T.; SANTANA-SANTOS, B.F.; SILVA, K.L.F.; THADEO, M.; MEIRA, R.M.S.A. & AZEVEDO, A.A. 2006. Anatomia foliar e caulinar de *Chamaecrista trichopoda* (Caesalpinioideae) e histoquímica do nectário extrafloral. Planta Daninha 24: 695-705.
- GIANNOTTI, E. & LEITÃO FILHO, H.F. 1992. Composição florística do cerrado da Estação Experimental de Itirapina (SP). In: R.R. Sharif. (ed.).
 Anais do 8° Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Campinas, pp. 21-25.
- HANDRO, W. 1966. Escleromorfismo foliar e nutrição mineral de *Gomphrena* prostata (Mart.). Anais da Academia Brasileira de Ciências 38: 225-242.
- HAMBURGER, M.; GUPTA, M. & HOTETTMANN, K. 1985. Coumarins from *Polygala paniculata*. Planta Medica 51: 215-216.
- HARBONE, J.B. & BAXTER, H. 1995. Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compunds from plants. Taylor & Francis, London.
- HOFFMANN, J.J.; WIEDHOPF, R.M. & COLE, J.R. 1977. Cytotoxic and tumor inhibitory agent from *Polygala macradena* Gray (Polygalaceae) dimethyldeoxypodophyllotoxin. Journal of pharmaceutical Sciences 66: 586-587.
- IKEYA, Y.; SUGAMA, K.; OKADA, M. & MITSUHASHI, H. 1991. 4 new phenolic glycosides from *Polygala tenuifolia*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 39: 2600-2605.

- JIANG, Y. & TU, P.F. 2003. Tunuifoliose Q, a new oligosaccharide ester from the root of *Polygala tenuifolia* Willd. Journal of Asian Natural Products Research 5: 279-283.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVES, P.F. & DONOGHUE,
 M.J. 2002. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. Sinauer
 Associates, Massachusetts.
- KAKO, M.; MIURA, T. & NISHIYAMA, Y. 1996. Hypoglycemic effect of the rhizomes of *Polygala senega* in norma and diabetic mice and its main component, the triterpenoid glycoside senegin-II. Planta Medica 62: 440-443.
- KRUGER, H. & PRETORIUS, W.E. 1997. Notes on the structure of the stigma of *Polygala virgata* var. *virgata* (Polygalaceae). South African Journal of Botany 63: 261-266.
- LEE, M.K. & KIM, H.S. 1996. Effects of the root of the *Polygala tenuifolia* on catecholamine biosyntesis in PC12 cells. Archives of Pharmacal Research 19: 74-76.
- LEVITT, J, 1980. Responses of plants to environmental stress. Stanford, California.
- LINNAEUS, C. 1749. Materia Medica. Liber 1, de plantis. Stockholmiae, Stocolm.
- LINNAEUS, C. 1750. Philosophia botânica. Stockholmiae, Stocolm.
- LINNAEUS, C. 1751. Amoenitales academicae. Stockholmiae, Stocolm.
- LÜDTKE, R. 2008. A família Polygalaceae na Região Sul do Brasil. Tese de doutorado, Universidade Federal Rural do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- LÜDTKE, R. & MIOTTO, S.T.S. 2004. O gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Biociências 2: 49-102.

- LÜDTKE, R. & MIOTTO, S.T.S. 2007. *Polygala riograndensis* (Polygalaceae), a new species from southerm Brazil. Novon 17: 40-42.
- MAK, N.K.; LUNG, H.L. & WONG, R.N.S. 2001. Expression of protein kinase C isoforms in euxanthone-induced differentiation of neuroblastoma cells. Planta Medica 67: 400-405.
- MANTOVANI, W. & MARTINS, F.R. 1993. Florística do cerrado na reserva biológica de Moji Guaçu, SP. Acta Botanica Brasilica 7: 33-60.
- MARQUES, M.C.M. 1979. Revisão das espécies do gênero *Polygala* L. (Polygalaceae) do Estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia 31: 69-339.
- MARQUES, M.C.M. 1988. Polígalas do Brasil III. Seção *Polygala* (Polygalaceae) no Brasil. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 29: 1-114.
- MARQUES, M.C.M. 1996. *Securidaca* L. (Polygalaceae) do Brasil. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 34:7-144.
- MARQUES, M.C.M. & AGUIAR, A.C.A. 2000. Flora Fanerogâmica (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga): 128 Polygalaceae 27: 159-164.
- MARQUES, M.C.M. & AGUIAR, A.C.A. 2001. Flora Fanerogâmica da Ilha do Cardoso - Polygalaceae 7: 83-91.
- MARQUES, M.C.M. & AGUIAR, A.C.A. 2007. *Polygala fontellana* Marques & Aguiar (Polygalaceae), uma nova espécie para o Brasil. Rodriguésia 58: 13-16.
- MARQUES, M.C.M. & GOMES, K. 2002. Polygalaceae. *In* Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. G, Wanderley, G. Shepherd & A.M. Giulietti (eds.). V.2, pp. 229-259.
- MARQUES, M.C.M. & PEIXOTO, A.L. 2007. Estudo taxonômico do gênero Polygala L. subgênero Ligustrina (Chodat) Paiva (Polygalaceae). Rodriguésia 58: 95-146.

- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. V.2, Claredon Press, Oxford.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. Anatomy of the dicotyledons. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. V.1, Clarendon Press, Oxford.
- MILBY, T.H. 1976. Studies in the floral anatomy of *Polygala*. American Journal of Botany 63: 1319-1326.
- MIYASE, T.; SAITOH, H.; SHIOKAWA, K. & UENO, A. 1995. Sex new presenegenin glycosides, reiniosides A-F, from *Polygala reinii* root. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 43: 466-472.
- MONTEIRO, W.R.; CASTRO, M. de M. & GIULIETTI, A.M. 1985. Aspects of leaf structure of some species of *Leiothrix* Ruhl. (Eriocaulaceae) from the Serra do Cipó (Minas Gerais, Brazil). Revista Brasileira de Botânica 8: 109-125.
- MORRETES, B.L. 1966. 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, Botânica 22: 291-312.
- MORRETES, B.L. & FERRI, M.G. 1959. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica 16: 5-140.
- MONZOU, A.P.; BULTEAU, L. & RAYMOND, G. 1999. The effects of *Securidaca longepedunculata* root extract on ionic currents and contraction of cultured rat skeletal muscle cells. Journal of Ethnopharmacology 65: 157-164.

- NAGAI, T.; SUZUKI, Y.; KIYOHARA, H.; SUSA, E.; KATO, T.; NAGAMINE, T.; HAGIWARA, Y.; TAMURA, S.; YABE, T.; AIZAWA, C. & YAMADA, H. 2001. Onjisaponins, from the root of *Polygala tenuifolia* Willd., as effective adjuvants for nasal influenza and diphtheria-pertussis-tetanus vaccines. Vaccine 19: 4824-4834.
- NOGUEIRA, F.L.P. 2004. Estudo biotecnológico e farmacológico de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- OBI, C.L.; POTGIETER, N. & RANDIMA, L.P. 2002. Antibacterial activities of five plants against some medically significant human bacteria. South African Journal of Science 98: 25-28.
- OLIVEIRA, M.D.F. & SILVEIRA, E.R. 2000. Pentaoxygenated, xantones and fatty acids from *Bredemeyera brevifolia*. Phytochemistry 55:847-851.
- PAIVA, J. 1998. Polygalarum Africanarum et Madagascariensium prodromus atque gerontogaei generis *Heterosamara* Kuntze, a genere *Polygala* L. segregati et a nobis denus recepti, Synopsis Monogr. Fontqueira 50: 1-347.
- PARK, C.H.; CHOI, S.H.; KOO, J.W.; SEO, J.H.; KIM, H.S.; JEONG, S.J. & SUH, Y.H. 2002. Novel cognitive improving and neuroprotective actives of *Polygala tenuifolia* Willd. Extract, BT-11. Journal of Neuroscience Research 70: 484-492.
- PEREIRA, B.M.R; DAROS, M.D.R.; PARENTE, J.P. & MATOS, F.J.D.A. 1996. Bredemeyeroside d, a noval triterpenoid saponin from *Bredemeyera floribunda:* A potent snake venom antidote activity on mice. Phytotherapy Research 10: 666-669.
- PERSSON, C. 2001. Phylogenetic relationships in Polygalaceae based on plastid DNA sequences from the trnL-F region. Taxon 50: 763-779.

- PIZZOLATTI, M.G.; BRANCO, A.; MONACHE, F.D. & CRISTIANO, R. 2002. Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia 12: 21-26.
- PIZZOLATTI, M.G.; PEREIRA, W.S. & MONACHE, F.D. 2004 . A new styryl-2pyrone derivative from *Polygala sabulosa* (Polygalaceae). Biochemical Systematics and Ecology 32: 603-606.
- PYYKKÖ, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. Annales Botanici Fennici 3: 453-622.
- SAITOH, H.; MIYASE, T. & UENO, A. 1993. Senegoses A-E, oligosaccharide multi-esters from *Polygala senega* var. *latifolia* Torr. et Gray. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 39: 2600-2605.
- SAKUMA, S. & SHOJI, J. 1981. Studies on the constituents of the root of *Polygala tenuifolia* Willd.1. Isolation of saponins and the structures of onjisaponin-g and onjosaponin-f. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 29: 2431-2441.
- SILVA, E.B.M. 2001. A família Polygalaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana.
- SILVEIRA, E.R.; FALCAO, M.J.C. & MENEZES, A. 1995. Pentaoxygenated xanthones from *Bredemeyera floribunda*. Phytochemistry 39: 1433-1436.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied Botany. Translated by L.A. Boodle & F.G. Fritisch, 2v., Claredon Press, Oxford.
- VERKERKE, W. 1984. Ovule and seed of *Xanthophyllum* (Polygalaceae). Blumea 29: 409-421.

- VERKERKE, W. 1985. Ovule and seed of Polygalaceae. Journal of the Arnold Arboretum 66: 353-394.
- VERKERKE, W. 1991. Fruits and seed of *Balgoya pacifica* (Polygalaceae) from New Caledonia. Bulletin du Museum National D'Historie Naturelle 13: 9-12.
- VERKERKE, W. & BOUMAN, F. 1980. Ovule ontogeny and its relation to seedcoat structure in some species of *Polygala* (Polygalaceae). Botanical Gazette 141: 277-282.
- YABE, T.; TUCHIDA, H.; KIYOHARA, H.; TAKEDA, T. & YAMADA, H. 2003. Indution of NGF systhesis in astrocystes by onjisaponins of *Polygala tenuifolia*, constituents of Kampo (Japonese herbal) medicine, Ninjin-Yoei-To. Phytomedicine 10: 106-114.
- YOSHIKAWA, M.; MURAKAMI, T.; UENO, T.; KADOYA, M.; MATSUDA, H..; YAMAHARA, J. & MURAKAMI, N. 1995. Bioactive saponins and glycosides.1. Senegae radix. (1): E-senegasaponins a and b Z-senegasaponins a and b, their inhibitory effect on alcohol absorptions and hypoglycemic activity. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 43: 466-472.
- ZHANG, D.M.; MIYASE T. & KUROYANAGI, M. 1996. Nine new triterpene saponins, polygalasaponins XXXII-XLI from roots of *Polygala fallax* Hemsl. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 44: 2092-2099.
- ZHANG, D.M.; MIYASE, T. & KUROYANAGI, M. 1998. Polygalasaponins XLII-XLVI from roots of *Polygala glomerata*. Phytochemistry 47: 459-466.