

DAYANA NASCIMENTO SANTOS DE FARIA

**Coléteres estipulares em *Casearia* Jacq. (Salicaceae):  
anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F224c  
2016 Faria, Dayana Nascimento Santos de, 1989-  
Coléteres estipulares em *Casearia* Jacq. (Salicaceae) :  
anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas / Dayana  
Nascimento Santos de Faria. – Viçosa, MG, 2016.  
ix, 33f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Renata Maria Strozi Alves Meira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.21-26.

1. *Casearia* - Anatomia. 2. *Casearia* - Taxonomia.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia  
Vegetal. Programa de Pós-graduação em Botânica. II. Título.

CDD 22. ed. 583.65

**DAYANA NASCIMENTO SANTOS DE FARIA**

**Coléteres estipulares em *Casearia* Jacq. (Salicaceae):  
anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**APROVADA:** 21 de março de 2016.

---

Aristéa Alves Azevedo

---

Tiago Augusto Rodrigues Pereira

---

Renata Maria Strozi Alves Meira  
(Orientadora)

Ao meu esposo Gilson, pelo companheirismo,  
pela paciência e por tornar meus dias mais felizes

**....dedico**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus Pai, filho (Jesus Cristo) e Espírito Santo, pela sua infinita misericórdia e o seu maravilhoso plano de salvação, sem os quais nenhuma realização terrena teria sentido uma vez que uma eternidade de castigo era o destino de todo homem. Pois “Todos pecaram e carecem da glória de Deus, sendo justificados gratuitamente, por sua graça, mediante a redenção que há em Cristo Jesus (Romanos 3:23-24). “ Pelo que também Deus o exaltou sobremaneira e lhe deu o nome que está acima de todo nome, para que ao nome de Jesus se dobre todo joelho, nos céus, na terra e debaixo da terra, e toda língua confesse que Jesus Cristo é Senhor, para glória de Deus Pai”(Filipenses 2: 9-11). Agradeço também pelo seu cuidado com a minha vida, me dando livramento a cada dia, por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho, por me dar saúde e força necessária para chegar até aqui. Por permitir o cumprimento deste desejo do meu coração, “ Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A ele, pois a glória eternamente. Amém!”(Romanos 11:36).

À minha orientadora professora Renata Maria Strozi Alves Meira pelas orientações, pela dedicação e paciência, pelo exemplo de profissional e companheirismo. Uma pessoa que já admirava pelo seu dinamismo, alegria e competência. E agora, depois de dois anos de convívio, não tenho palavras para descrever tamanha alegria por fazer parte da sua equipe e poder contar com sua valiosa colaboração. Sinto-me honrada e muito agradecida por sua ajuda.

À doutora Valéria pelos ensinamentos das técnicas de bancada, pelo auxílio em coleta de campo, pela amizade, por tirar minhas dúvidas, me fornecer literatura e pela parceria.

Aos membros da banca por concordarem em contribuir com este trabalho.

Aos professores da Pós Graduação em Botânica por todos os ensinamentos e dedicação, especialmente a professora Aristéa Alves Azevedo, por ser um exemplo de docente a ser seguido, pelas aulas maravilhosas, ricas em conhecimento e didática e pelas críticas, sempre construtivas.

Aos curadores do herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC) e do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB) por permitir a retirada de amostras herborizadas e pelo envio de material identificado, respectivamente.

Ao especialista Ronaldo Marquete pela identificação das espécies, sem a qual seria impossível prosseguir o trabalho e pela parceria.

Aos meus pais Joaquim e Cleuza, pela educação, pelo carinho e pela dedicação a me fazer bem, pelo apoio, conselho, amor, pela companhia e pelo cuidado nesta trajetória. Aos meus irmãos Sídney e Giliard as suas esposas e filhos, pela amizade, apoio e consideração.

Ao meu esposo Gilson, por ser meu companheiro nas alegrias e nas tristezas, pela sua compreensão, paciência, dedicação, amizade, carinho e amor. Por não ter medido esforços em me ajudar nas buscas e nas coletas de *Casearia decandra*, por ouvir meus desabafos, por me ajudar nos fins de semana no laboratório, por cada dia que teve que levantar mais cedo para me levar ao ponto de ônibus, enfim por ser um esposo que obedece as escrituras provando seu amor por mim a cada dia.

Às amigas “irmãs”: Isabel por me acompanhar nas “maratonas de bancada” de noite e nos fins de semana, pelas dicas, pela amizade e pelo consolo quando os testes histoquímicos eram confusos; Katiúscia pela amizade e pelos inumeráveis favores como empréstimo de material, expedições em busca das plantas e ensinamentos de confecção de pranchas e uso de software de micromorfometria, pela sua paciência e preocupação comigo; Luana pelo seu bom dia e abraço de todas as manhãs, pela amizade, pelo apoio emocional, pela ajuda na coleta de campo em Carbonita e pelos cortes em micrótomo de mesa; Marinalva pelo convívio, conselhos e paciência; Juliana pela convivência e alegria.

À Dya pela paciência em tirar minhas dúvidas e pelas sugestões; a Andrea, a Eliza, a Lays, a Samara e ao Ítalo pelos conselhos, críticas, dicas e amizade.

À Ana Paula pela companhia no congresso em Santos, pela amizade e ao Carlos Eduardo por suas contribuições.

Aos colegas da taxonomia e ecologia pelo companheirismo, principalmente a Alaísma, pela amizade, por me acolher em sua casa quando precisei, por se preocupar comigo, Obrigada!

Às técnicas Aurora Sato e Patrícia Fonseca pelo profissionalismo, pelos favores e amizade.

Ao estudante Bic júnior Thalysson, e aos estagiários voluntários Mariana e José Donizete pelo auxílio prestado na rotina do laboratório.

Aos meus irmãos em Cristo Jesus, que oraram por mim nos momentos difíceis e me ajudaram a ter fé, especialmente aos integrantes do ministério de louvor Primícias da Adoração e ao pastor Danilo, pelas orações, por sua dedicação e ensinamentos.

À secretaria de Pós Graduação em botânica, pelo apoio nas questões burocráticas.

À CAPES pela bolsa de mestrado.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV, pelo apoio na realização da microscopia eletrônica de varredura.

À Universidade Federal de Viçosa - UFV e ao seu programa de Pós Graduação em Botânica, pela oportunidade.

**Obrigada!**

## BIOGRAFIA

Dayana Nascimento Santos de Faria, filha de Joaquim Vieira dos Santos e Cleuza Aparecida do Nascimento Santos, nascida em Guiricema, Minas Gerais em 18 de novembro de 1989.

Ingressou na Universidade Estadual de Minas Gerais (UEMG), Campus Ubá, em 2008. Concluiu o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas em 2012.

Foi bolsista de Iniciação Científica por dois anos atuando nas áreas de Etnobotânica e Anatomia Vegetal (editais PIBIC/UEMG/FAPEMIG 01/2009 e PIBIT/UEMG/CNPQ 05/2010, respectivamente).

Foi aprovada no concurso da Secretaria do Estado de Educação de Minas Gerais (edital SEPLAG/SEE N°01/2011) e lecionou as disciplinas Ciências e Biologia de abril/2013 a fevereiro/2014 na rede de Ensino Básico, lotada na Escola Estadual Álvaro Giesta.

Iniciou o mestrado em Botânica em março de 2014, pelo Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. Concluindo o trabalho em 2016 com a defesa da dissertação intitulada “Coléteres estipulares em *Casearia* Jacq. (Salicaceae): anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas”.

## SUMÁRIO

|   | <b>Pág.</b> |
|---|-------------|
| RESUMO.....   | viii        |
| ABSTRACT.....   | ix          |
| ARTIGO: “Coléteres estipulares em <i>Casearia</i> Jacq. (Salicaceae): anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas”..... | 1           |
| RESUMO.....   | 2           |
| INTRODUÇÃO.....   | 4           |
| MATERIAIS E MÉTODOS.....  | 6           |
| RESULTADOS.....   | 10          |
| DISCUSSÃO.....  | 13          |
| AGRADECIMENTOS.....   | 20          |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....   | 21          |
| APÊNDICE.....   | 27          |
| TABELA E FIGURAS.....   | 28          |

## RESUMO

**FARIA**, Dayana Nascimento Santos de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2016. **Coléteres estipulares em *Casearia* Jacq. (Salicaceae): anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas.** Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira.

Em *Casearia* Jacq., glândulas estipulares são importantes para taxonomia, mas não são estrutural e funcionalmente descritas. *Casearia* destaca-se como um dos maiores gêneros de Salicaceae, suas espécies ocorrem em habitats diversos e algumas delas são medicinais. Os objetivos do presente trabalho foram esclarecer o tipo de glândula presente nas estípulas em *Casearia*, caracterizando-as anatomicamente, e verificar se ocorrem variações entre as glândulas de plantas provenientes do cerrado e da floresta. Foram selecionadas *C. decandra* Jacq., espécie típica de floresta, *C. rufescens* Cambess., que é endêmica do cerrado, e *C. sylvestris* Sw., que habita ambas as formações. Amostras de meristemas apicais e estípulas foram coletadas em campo ou obtidas em material herborizado, sendo processadas conforme metodologia usual para estudos anatômicos. As glândulas foram observadas no ápice, bordo e base das estípulas de *C. decandra*; no ápice e base de *C. rufescens* e *C. sylvestris*. São constituídas por um eixo central parenquimático multicelular avascularizado e por epiderme secretora uniestratificada em paliçada recoberta por cutícula fina, não sendo notadas diferenças anatômicas entre as espécies. Os testes histoquímicos detectaram polissacarídeos totais, pectinas/mucilagem e proteínas no citoplasma e na secreção acumulada no espaço subcuticular, bem como na que foi eliminada para o meio externo. Não foram notadas diferenças na natureza da secreção das glândulas estipulares conforme o ambiente de ocorrência da espécie, mas tais estruturas foram maiores nas espécies de floresta quando comparadas com as de cerrado. A estrutura anatômica, a atividade precoce e a natureza mucilaginosa da secreção permitem concluir que as glândulas estipulares das três espécies de *Casearia* são coléteres do tipo padrão, dado inédito para o gênero. Considerando a função atribuída aos coléteres de proteger os meristemas vegetativos e reprodutivos, os resultados obtidos são promissores, pois suscitam a investigação sobre a ocorrência e diversidade de coléteres estipulares no gênero *Casearia*, bem como a utilização taxonômica deste caráter.

## ABSTRACT

**FARIA**, Dayana Nascimento Santos de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March of 2016. **Stipular colleters in *Casearia* Jacq. (Salicaceae): anatomy and taxonomic and ecological considerations.** Adviser: Renata Maria Strozi Alves Meira.

In *Casearia* Jacq., stipular glands are important for taxonomy. However, these structures were not structurally and functionally described. *Casearia* stands out as one of the largest genera of Salicaceae, with species occurring in different habitats and some of them are used for medicinal purposes. The aims of the present study were clarify the gland types present in the stipules of three species of *Casearia* and verify the morphoanatomical variations between the glands of savanna and forest plants. The following species were selected: *C. decandra* Jacq., typical forest species, *C. rufescens* Cambess., which is endemic to the savanna, and *C. sylvestris* Sw., which occurs in both vegetation. Meristems samples and apical stipules were collected in the field or obtained from herbarium material. These samples were processed according to the standard methodology for anatomical studies. The glands were observed at the apex, margin and base of the stipules of *C. decandra*; only at the apex and base of both *C. rufescens* and *C. sylvestris* stipules. They consist of a non-vascular and multicellular parenchymal central axis, which is recovered by a one-single layer of secretory epidermis organized in a palisade with a thin cuticle. No anatomical differences among species were noticed. The histochemical tests detected total polysaccharides, pectins/mucilage and proteins in the cytoplasm, as well in the secretion accumulated in the subcuticular space and outside of epidermis. The histochemical results were the same for the secretion produced by stipule glands of species occurring in the different environment. However, the stipule glands of forest species are bigger than of the savanna species. The anatomical structure, early activity and mucilaginous nature of secretion allow concluding that the stipule glands of the three studied species of *Casearia* are standard type of colleters. This is the first register for the genus. Considering the role assigned to colleters to protect the vegetative and reproductive meristems, the results are promising since raise research on the occurrence and diversity of stipule colleters in *Casearia*, as well about the useful of this character for the taxonomic approaches.

## **Coléteres estipulares em *Casearia* Jacq. (Salicaceae): anatomia e considerações taxonômicas e ecológicas**

Dayana Nascimento Santos de Faria<sup>1</sup> Valéria Ferreira Fernandes<sup>1</sup>, Ronaldo Marquete<sup>2</sup>, Renata Maria Strozi Alves Meira<sup>1</sup>.

1 Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, Laboratório de Anatomia Vegetal, Viçosa, MG, Brasil. rmeira@ufv.br

2 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Av. República do Chile 500, 70 andar, CEP.: 20031 170, Rio de Janeiro, RJ, Brasil e Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rua Pacheco Leão, 915, CEP.: 22 460 – 030, Rio de Janeiro, Brasil.

**Palavras-chave:** anatomia, *C. decandra*, *C. rufescens*, *C. sylvestris*, coléter padrão, mucilagem

Documento formatado conforme as normas do periódico *International Journal of Plant Sciences*

## RESUMO

*Premissas da pesquisa.* Em *Casearia* Jacq. glândulas estipulares são importantes para taxonomia, embora não sejam estrutural e funcionalmente descritas. *Casearia* destaca-se como um dos maiores gêneros de Salicaceae, suas espécies ocorrem em habitats diversos e algumas delas são medicinais. Os objetivos do presente trabalho foram esclarecer a identidade das glândulas estipulares externas, caracterizando-as anatomicamente, e compararas glândulas provenientes de plantas de cerrado e com as de floresta.

*Metodologia.* Foram selecionadas *C. decandra*, espécie típica de floresta, *C. rufescens* que é endêmica do Cerrado e *C. sylvestris* que habita ambas as formações. Amostras de meristemas apicais e estípulas foram coletadas em campo ou obtidas em material herborizado, sendo processadas conforme metodologia usual para estudos anatômicos.

*Resultados relevantes.* As glândulas foram observadas no ápice, bordo e base das estípulas de *C. decandra*; no ápice e base de *C. rufescens* e *C. sylvestris*. São constituídas por epiderme secretora uniestratificada em paliçada recoberta por cutícula fina e por um eixo central parenquimático multicelular avascularizado, não sendo notadas diferenças anatômicas entre as glândulas das espécies estudadas. Os testes histoquímicos detectaram polissacarídeos totais, pectinas/mucilagem e proteínas no citoplasma e na secreção acumulada no espaço subcuticular, bem como na que foi eliminada para o meio externo. Não foram notadas diferenças na natureza da secreção das glândulas estipulares conforme o ambiente de ocorrência da espécie, mas tais estruturas foram maiores nas espécies de floresta quando comparadas com as de cerrado.

*Conclusões.* A estrutura anatômica, a atividade precoce e a natureza mucilaginosa da secreção permitem concluir que as glândulas estipulares das três

espécies de *Casearia* são coléteres do tipo padrão, dado inédito para o gênero. Considerando a função atribuída aos coléteres de proteger os meristemas, os resultados obtidos são promissores, pois suscitam a investigação sobre a ocorrência e diversidade de coléteres estipulares no gênero *Casearia*, bem como a utilização taxonômica deste caráter.

## INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Casearia* Jacq. são árvores, arbustos ou subarbustos comuns em diversas formações vegetais brasileiras (Lorenzi 2009, Marquete 2010). São empregadas na arborização urbana e fornecem madeira de boa qualidade útil à construção civil (Marchiori 1997, Botrel *et al.* 2006, Lorenzi 2009). Além disso, as espécies de *Casearia* são amplamente utilizadas na medicina popular (Corrêa 1984, Rodrigues e Carvalho 2001, Souza e Felfili 2006, Vendruscolo e Mentz 2006, Ferreira *et al.* 2011). Muitos estudos fitoquímicos (Morais *et al.* 1997, Beutler *et al.* 2000, Stefanello *et al.* 2010, Carvalho *et al.* 2009) têm demonstrado a presença de óleos essenciais e outros comprovado a atividade farmacológica desses compostos (Schoenfelder *et al.* 2008, Flausino Jr *et al.* 2009, Silva *et al.* 2009, Salvador *et al.* 2011). Destaca-se, portanto, a necessidade da identificação correta das espécies para seu uso. Em *Casearia*, tal identificação é considerada difícil por apresentar muitas similaridades entre algumas espécies, variações morfológicas (plasticidade fenotípica) e por ser baseada, principalmente, em caracteres florais que são minúsculos (Torres e Yamamoto 1986, Alford 2003 e 2005, Samarakoon 2015). Como exemplo da dificuldade de distinção, podemos citar as espécies medicinais *C. decandra* e *C. sylvestris*. Estas espécies, embora apresentem ramos e folhas muito parecidos, podem ser reconhecidas pela morfologia das estípulas. Em *C. sylvestris* as estípulas são menores, triangulares a arredondadas e não apresentam glândulas na margem, enquanto em *C. decandra* elas são maiores, subuladas e com glândulas marginais (Marquete 2010).

As estípulas em *Casearia* têm despontado como uma ferramenta útil na delimitação das espécies, ajudando a resolver diversos impasses (Marquete 2010, Samarakoon 2015). Elas exibem variações no tamanho, na morfologia e na presença ou ausência de glândulas (Sleumer 1980, Torres e Yamamoto 1986, Torres e Ramos 2007, Marquete 2010). A posição destas glândulas também foi enfatizada como um caráter de importância taxonômica, podendo ocorrer no ápice, na base, na margem e/ou na superfície das estípulas (Marquete e Vaz 2007, Torres e Ramos 2007, Marquete 2010). Tais glândulas receberam as seguintes denominações: glândulas alongadas, cilíndricas, claviformes, fusiformes, obovadas e emergências (Marquete e Vaz 2007, Marquete 2010). Para apenas cinco espécies foi mencionada a ocorrência de coléteres nas estípulas (Marquete 2010, Breteler 2008), sem, contudo qualquer justificativa ou imagem que comprove ou confirme tal denominação. Fica evidente que os termos

utilizados nas descrições morfológicas tiveram o intuito de destacar a ocorrência de estruturas que são morfológicamente semelhantes a estruturas secretoras, sem qualquer comprometimento em caracterizá-las. Neste contexto, o termo glândula é apropriado, pois existem diferentes tipos de estruturas secretoras que de acordo com o composto produzido desempenham funções distintas na planta. Assim as descrições anatômicas e histoquímicas são de fundamental importância para esclarecer quais os tipos de glândulas que ocorrem nas estípulas de *Casearia*.

O gênero *Casearia* compreende cerca de 200 espécies tropicais (Sleumer 1980, Samarakoon 2015). Taxonomicamente *Casearia* tem uma história complexa e controversa, especialmente quanto ao seu posicionamento em nível de família. Com base em estudos filogenéticos, *Casearia* foi transferido de Flacourtiaceae para Salicaceae (Chase *et al.* 2002, APG II 2003, APG III 2009). Entretanto, Alford (2005) verificou que Salicaceae (APG III) é um grupo polifilético e propôs a revalidação da família Samydaceae e a inserção de *Casearia* nela. Além disso, *Casearia* não forma um grupo monofilético (Alford 2005, Samarakoon 2015), pois outros pequenos gêneros ex-flacourtiáceos aparecem dispersos no mesmo ramo do cladograma, demonstrando que a classificação infragenérica ainda não está esclarecida (Samarakoon 2015). Deste modo, informações morfoanatômicas suplementares, que auxiliam na delimitação das espécies, como a presença e distribuição de glândulas nas estípulas são importantes e podem subsidiar futuros estudos taxonômicos e/ou filogenéticos sobre as afinidades em Salicaceae e/ou Samydaceae e esclarecer controvérsias a respeito da caracterização de estruturas secretoras como, por exemplo, as “glândulas de resina” presentes nas estípulas de *Populus* e *Salix*, gêneros salicáceos (Curtis e Lersten 1974, 1978, 1980) as quais foram interpretadas como coléteres por Thomas (1991).

A anatomia tem sido útil à taxonomia de *Casearia*, em especial desvendando a identidade de estruturas secretoras foliares que despontam como importantes marcadores morfológicos. As pontuações e traços translúcidos da lâmina foliar, frequentemente citados nas descrições taxonômicas, foram correlacionadas respectivamente com cavidades e ductos secretores de óleo-resina (Thadeo *et al.* 2009, Thadeo *et al.* 2014, Fernandes 2016). Enquanto as glândulas associadas aos dentes teóides das margens foliares de 42 espécies de *Casearia* foram caracterizadas como coléteres (Fernandes *et al.* 2016).

Nas estípulas o tipo de estrutura secretora (coléter, nectário), a posição (base, margem ou ápice) assim como o arranjo têm sido utilizados com sucesso como caracteres adicionais para o estudo de taxonomia e filogenia (Klein *et al.* 2004, Sheue *et*

al. 2005, 2013, Lopes-Matos *et al.* 2015, Filgueira *et al.* 2016). Estudos comparativos, no entanto, demonstram que os parâmetros quantitativos, tais como tamanho e quantidade de tais estruturas, e qualitativos, como natureza da secreção, podem variar de acordo com as condições do ambiente colonizado pelas plantas (Donato e Morretes 2007, Sheue *et al.* 2013, Tresmondi *et al.* 2015), contribuindo com a interpretação sobre biologia da secreção. Assim, o levantamento dos tipos de glândulas externas presentes nas estípulas de *Casearia* em uma abordagem comparativa dessas glândulas entre espécies de habitats distintos (cerrado/ floresta) pode averiguar quais parâmetros são constantes e independem das condições ambientais e que portanto podem ser úteis em estudos taxonômicos. *C. decandra* Jacq., *C. rufescens* Cambess. e *C. sylvestris* SW. foram selecionadas porque *C. decandra* é comum em florestas, *C. rufescens* é endêmica do cerrado, enquanto *C. sylvestris* possui populações tanto na floresta quanto no cerrado (Marquete 2010). Nestas duas formações vegetais os padrões de luminosidade são distintos. Na floresta a densidade de árvores e o dossel proporcionam um microclima caracteristicamente úmido e os feixes de luz são difusos. No cerrado a vegetação exibe um menor porte com distribuição esparsa de árvores de pequeno porte que recebem luz direta (Coutinho 2002, Camargo 2002, Marquete e Vaz 2007).

Neste trabalho pretendemos responder as seguintes perguntas: que tipo de glândula ocorre nas estípulas de *C. decandra* Jacq., *C. rufescens* Cambess. e *C. sylvestris* SW? Existem diferenças morfo-anatômicas entre as glândulas das três espécies? E entre as populações ou espécies de cerrado e/ou floresta? Qual a natureza química da secreção produzida? As glândulas das estípulas seguem o mesmo padrão morfo-anatômico das glândulas foliares?

Os objetivos do presente trabalho foram caracterizar morfológica, anatômica e histoquimicamente as glândulas externas das estípulas de *C. decandra*, *C. rufescens* e *C. sylvestris*, e verificar a viabilidade do uso delas na taxonomia por meio de estudo comparativo entre indivíduos provenientes de floresta e do cerrado.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As coletas foram conduzidas de junho a setembro de 2015. Foram coletados ramos jovens (contendo meristema apical e estípulas) de três indivíduos de: *C. decandra* (20° 47'52.1" S 42° 52' 18.6"WO) e *C. sylvestris* (20° 47'52,3"S 42° 52' 19.0"WO) ocorrentes em uma floresta estacional semidecidual (Viçosa, MG); *C. sylvestris* (19°

20°S 44° 25'WO) coletados em Paraopeba - MG (cerrado *sensu stricto*) e *C. rufescens* (17°05'40,2" S, 43°0,2'28,9" WO) em cerrado *sensu stricto* (Carbonita, MG). Algumas amostras de *C. decandra* e *C. sylvestris* foram obtidas em exsiccatas depositadas no herbário VIC (Apêndice).

### **Microscopia de Luz**

Para caracterização anatômica, foram utilizadas amostras herborizadas de *C. decandra* e *C. sylvestris*, as quais foram reidratadas por meio do aquecimento em água destilada por 10 minutos e do repouso de 12 horas imersas na mesma água em temperatura ambiente. Posteriormente as amostras foram submetidas a uma solução a 2% de KOH por 2 horas, lavadas em água destilada, desidratadas em série etanólica e armazenadas em etanol 70% (Smith e Smith 1942).

As amostras de *C. decandra* Jacq., *C. rufescens* Cambess. e *C. sylvestris* SW. coletadas em campo foram fixadas em FAA (formalina, ácido acético e etanol 50% 1:1:18 por volume), por 48 horas (Johansen 1940) e no laboratório foram submetidas à vácuo em dessecador. Após a desidratação, foram estocadas em etanol 70%, e utilizadas para a caracterização anatômica e para realização de testes histoquímicos. Para detecção de compostos fenólicos partes das amostras foram fixadas em Sulfato Ferroso em Formalina - SFF (Johansen 1940) e para detecção de lipídeos em Formalina Neutra Tamponada - FNT (Lillie 1965), ambas mantidas por 48 horas em dessecador a vácuo. Após a fixação, essas amostras foram lavadas com água destilada, desidratadas em série etanólica e estocadas em etanol 70%.

Estípulas do 1º ao 3º nó, meristemas apicais e fragmentos de caule contendo estípulas e meristema laterais (herborizados e/ou fixados) foram incluídos em resina sintética (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha). Estas amostras foram seccionadas nos planos transversal, longitudinal e paradérmico, utilizando um

micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2265, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA), e navalhas de vidro. Cortes com 5µm de espessura foram corados com azul de toluidina pH 4,7 em tampão acetato (O'Brien e McCully 1981) e as lâminas montadas com resina sintética (Permount, Fisher Scientific, NJ, USA) e analisadas para a caracterização anatômica.

As amostras fixadas em SFF foram desidratadas em série butílica terciária (80, 85, 90, 95, 100I e 100II%), infiltradas e emblocadas em parafina histológica (Histosec Merck, Darmstadt, Germany). Secções longitudinais e transversais com 7µm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo (Spencer 820 Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha) e aderidas a lâminas previamente tratadas com adesivo de Haupt (Haupt 1930 *apud* Kraus e Arduin 1997). Após a desparafinização com xilol, as lâminas foram montadas com resina sintética e analisadas para a verificação de compostos fenólicos.

Foram utilizados cortes obtidos de amostras emblocadas em resina sintética para evidenciar polissacarídeos totais com o ácido periódico e reagente de Schiff – PAS (McManus 1948) e pectinas/mucilagem com vermelho de rutênio (Johansen 1940). Cortes obtidos de amostras fixadas em FAA e cortados em um micrótomo de mesa (LPC, Rolembergand Bhering Trade and Import LTDA, Belo Horizonte, Brasil) foram submetidos ao ácido tânico-cloreto férrico para detecção de pectinas/mucilagem (Pizzolato e Lillie 1973). Cortes das amostras fixadas em FNT obtidos no micrótomo de mesa foram submetidos ao Sudão vermelho escarlata (Pearse 1980) para detecção de lipídeos totais e ao reagente de Nadi (David e Carde 1964) para óleos essenciais e óleo resinas. Os controles foram conduzidos conforme indicação do teste. Alguns cortes sem uso de reagente (branco) foram analisados para verificar a cor natural do exsudado.

Para análise da morfologia e vascularização das glândulas externas, as estípulas foram diafanizadas utilizando a metodologia proposta por Vasco *et al.* (2014) em que as

estípulas reidratadas ou fixadas estocadas em álcool etílico 70% foram reidratadas em série etanólica, transferidas para uma solução de NaOH 5% em estufa à 50°C por 12h, depois de atingirem a temperatura ambiente foram lavadas com água destilada, desidratadas e coradas com fucsina básica em etanol 50% por cerca de 4 horas e montadas com gelatina glicerinada (Haupt 1930 *apud* Kraus e Arduin 1997).

As análises e a obtenção das imagens foram realizadas em microscópio de luz (Olympus AX70TRF, Tóquio, Japão) com sistema U-Photo, com câmara digital acoplada (AxioCamHRc, Carl Zeiss, Gottingen, Alemanha).

Com a finalidade de comparar o comprimento das glândulas externas da base estipular foram fotografadas de secções longitudinais, 15 glândulas que apresentavam estrutura diferenciada de três indivíduos (5 glândulas por indivíduo) de *C. decandra* e *C. rufescens* e em *C. sylvestris* foram registradas 15 glândulas da população da floresta e 15 glândulas da população do cerrado obtidas de três indivíduos de cada população (5 glândulas por indivíduo). Foram mensurados: comprimento do pedúnculo (região compreendida entre a porção secretora e a superfície da estípula), o comprimento da região secretora (que corresponde à região entre a extremidade apical e a inserção com o pedúnculo) e a largura da porção secretora na região mais dilatada da porção secretora. Para realizar as medidas foi utilizado o software Imagetool versão 3.0. (UTHSCSA 2002).

### **Microscopia eletrônica de varredura - MEV**

Estípulas obtidas conforme descrito para as análises ao microscópio de luz foram fixadas em glutaraldeído 2,5 % em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,2 por 4 h. Após desidratadas em série etanólica, as amostras foram levadas à secagem até o ponto crítico (CPD 050, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein), montadas em stubs com fita dupla

face e recobertas com uma camada de ouro, utilizando o aparelho sputter coater (SCD 050, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein). A análise e a captura de imagens foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura com câmara digital acoplada (modelo LEO 1430 VP, Zeiss, Cambridge, UK) do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

## RESULTADOS

As estípulas de *Casearia decandra*, *C. rufescens* e *C. sylvestris* ocorrem aos pares junto à base das folhas jovens (Fig. 1A) protegendo as gemas laterais (Fig. 1A-C, E-G) e o meristema apical caulinar (Fig. 1D). As estípulas são membranáceas em todas as espécies, mas diferem quanto ao formato uma vez que são lineares em *C. decandra* (Fig. 1A, G) medindo em média 7x1,7mm; linear-lanceoladas em *C. rufescens* (Fig. 1B) com 3x0,8 mm. Em *C. sylvestris*, em ambas as populações (floresta e cerrado) as estípulas são subovadas (Fig. 1C) medindo aproximadamente 1x1 mm. Na região meristemática as estípulas são esverdeadas (Fig. 1A-C), mas logo no primeiro nó visível elas apresentam coloração amarronzada (Fig. 1B-C) com exceção de *C. decandra* que possui estípulas esverdeadas persistentes por um período maior (Fig. 1A). Entretanto, com o desenvolvimento da folha, as estípulas senescem e caem (Fig.1B) nas três espécies.

No caso de *C. decandra* foi possível verificar que durante o inverno ocorrem estípulas coriáceas, sem glândulas externas, com base mais larga e comprimento mais curto (Fig. 1E-F) que aquelas características da espécie (Fig. 1G). O par destas estípulas encerra o meristema apical e as gemas laterais que ficam totalmente protegidos durante o período seco e frio do inverno. *C. decandra* perde as folhas na primavera, período que antecede a floração e a brotação de novos ramos. Com o início das chuvas as estípulas modificadas (Fig. 1E-F) se abrem e deixam emergir um novo ramo formado pelo

meristema protegido por novas estípulas com formato, consistência e glândulas características (Fig. 1 G).

Na face adaxial das estípulas das três espécies estudadas foram observadas glândulas externas que variaram quanto à posição. Elas estão presentes no ápice (Fig. 1B, 2A, E) e na base (Fig. 2C, F-H) de todas elas e somente em *C. decandra* ocorre também na margem (Fig. 1H, 2C). Em campo não foi evidente exsudação de secreção nas estípulas, embora nas ampliações nota-se uma secreção de aspecto pegajoso.

Anatomicamente as glândulas externas são formadas por epiderme secretora com células arranjadas em uma paliçada uniestratificada (Fig. 3A-G), as quais possuem paredes finas e pectocelulósicas, citoplasma denso, núcleo volumoso e cutícula fina (Fig. 3B). A epiderme secretora se dispõe concentricamente em torno de um eixo parenquimático multicelular avascularizado, formado por células de paredes finas, longas e vacuolizadas (fig. 3A-B), podendo apresentar drusas (Fig. 3A, 4F; Tabela 1) ou idioblastos fenólicos (Fig. 3C). Esse eixo central, muitas vezes, se estende verticalmente para além da porção recoberta por células secretoras (porção secretora ou cabeça) formando um pedúnculo (não secretor). Em raros casos foi observada uma bifurcação no terço superior da região secretora (Fig. 3D).

Glândulas com pedúnculos curtos (Fig. 3A, D, F) ou ausentes (Fig. 3C) foram observadas em espécimes das três espécies estudadas. Em *C. decandra* também foi comum a ocorrência de glândulas com pedúnculos longos (Fig. 2C, 3G), cujo comprimento era igual ou maior que o comprimento da região secretora.

Embora anatomicamente semelhantes, foram notadas diferenças quanto às dimensões das glândulas externas da base das estípulas (Tabela 1). Em *C. decandra* o comprimento das glândulas variou de 101 a 2.339  $\mu\text{m}$  enquanto na largura a variação foi de 71 a 369  $\mu\text{m}$ . Já, em *C. sylvestris* proveniente de floresta o comprimento foi de 289-1106  $\mu\text{m}$  e a largura de 224-619  $\mu\text{m}$ , enquanto nas plantas do cerrado o comprimento foi

de 378-1082 e a largura de 125-227 $\mu$ m. Em *C. rufescens* os coléteres apresentaram comprimento de 190-540  $\mu$ m e a largura de 172-351  $\mu$ m. Embora não tenha sido detectado um padrão característico de tamanho que pudesse ser relacionado a vegetação de ocorrência das espécies, em *C. rufescens* não foram detectados coléteres tão grandes quanto aqueles observados em *C. decandra* e *C. sylvestris*. Adicionalmente, notou-se a presença de drusas somente em *C. decandra* e nos espécimes de *C. sylvestris* provenientes da floresta.

Quanto a forma das glândulas foi considerada a aparência externa da porção secretora. Em *C. rufescens* as glândulas exibem um formato esférico (Fig. 2F), com o comprimento da porção secretora aproximadamente igual à sua largura; em *C. sylvestris* (população do cerrado) a porção secretora é de duas até 6 vezes mais longa que larga, conferindo um formato cilíndrico à estrutura (Fig. 2G); já em *C. sylvestris* (população florestal) (Fig. 2H, I; Tabela 1) e em *C. decandra* a porção secretora é, em sua maioria, duas vezes mais longa que larga (Fig. 2C) apresentando um formato oval.

As glândulas são precoces (Fig.1B, 3F) em todas as espécies, uma vez que no ápice meristemático existem estruturas totalmente diferenciadas secretando e são assincronicamente formadas, pois na base de uma mesma estípula foram observadas glândulas em desenvolvimento e totalmente expandidas (Fig. 2G, I). Após a fase secretora as glândulas entram em senescência, sendo comum a presença de secreção em torno delas (Fig.3E). A fase senescente se caracteriza pelo acúmulo de compostos fenólicos e pela degradação do conteúdo celular, sendo visualizadas as células colapsadas. Esse processo se inicia nas células da epiderme secretora em paliçada e em seguida das células do parênquima central, no sentido do ápice para base. A zona de abscisão é evidenciada por células fortemente coradas na inserção da porção secretora (Fig. 3H-I), a qual pode ser eliminada em estádios mais avançados de senescência (Fig. 3I).

Os testes histoquímicos detectaram polissacarídeos (Fig.4A-D), pectinas/mucilagem (Fig.4E, F) e proteínas (Fig.4G, H) na secreção e no conteúdo das células secretoras da epiderme em paliçada. Também foram evidenciados grãos de amido nas células secretoras das glândulas de *C. rufescens* (Fig. 4 C) e *C. sylvestris* (Fig. 4D). Compostos fenólicos foram evidenciados no eixo central das glândulas de *C. rufescens* (Fig. 3C, 4J) assim como distribuída por toda a parte aérea desta espécie (Fig. 4I). Além disso, foram registrados em espécimes de *C. sylvestris* proveniente de habitat florestal (Fig. 3D), bem como nas glândulas senescentes de todas as espécies. A secreção é acumulada no espaço subcuticular que se forma pela distensão da cutícula (Fig.4B, F), entretanto, não foram notados rompimentos nem poros na cutícula.

## DISCUSSÃO

A estrutura anatômica, a localização, atividade precoce e a natureza mucilaginosa da secreção permitem classificar as glândulas inseridas no ápice, na base, e na margem das estípulas das três espécies estudadas como coléteres do tipo padrão, seguindo a proposta de Lersten (1974) e Thomas (1991). Coléteres são estruturas secretoras multicelulares que secretam mucilagem, compostos lipofílicos, ou uma mistura deles e são localizados externamente na face adaxial de órgãos laminares de angiospermas (Thomas 1991, Mayer *et al.* 2011, Cardoso-Gustavson *et al.* 2014, Lopes-Matos *et al.* 2015).

A presença de coléteres estipulares já havia sido mencionada em descrições taxonômicas das espécies: *C. mestrensis* Sleumer, *C. resinifera* Spruce ex Eichler e *C. ulmifolia* Vahl ex Vent (Marquete 2010) e para *C. barteri* Mast. e *C. prismatocarpa* Mast. (Breteler 2008). Entretanto, a citação de coléteres nestas espécies não é justificada, pois não existem informações morfoanatômicas ou ecológicas que respaldem a denominação utilizada. Assim, o presente trabalho é pioneiro, pois descreve

pela primeira vez coléteres nas estípulas de três espécies de *Casearia*. Além de ser o primeiro registro da presença de coléteres nas estípulas, deve-se ressaltar que somente havia referência sobre a presença de glândulas na margem e ápice das estípulas de *C. decandra*, sendo as demais evidenciadas neste trabalho.

A falta de informações ou informações incompletas sobre a presença de coléteres nas estípulas de espécies de *Casearia* pode ser devido ao fato destas estruturas serem efêmeras, ao seu tamanho reduzido (poucos milímetros) em algumas espécies e até mesmo à falta de observações acuradas em amostras não herborizadas. Assim fica evidente a necessidade de estudos anatômicos que são essenciais para verificar se a presença de coléteres nas estípulas de *Casearia* é comum ou mesmo universal, o que pode representar mais um caráter de valor taxonômico para o grupo, como já verificado para os coléteres foliares (Fernandes *et al.* 2016).

A distribuição, arranjo e número de coléteres estipulares têm contribuído com a taxonomia e a filogenia de diversas famílias tais como Apocynaceae (Schwarz e Furlan 2002, Simões *et al.* 2006), Rhizophoraceae (Sheue *et al.* 2005, 2013) e Rubiaceae (Klein *et al.* 2004, Lopes-Matos *et al.* 2015).

Os coléteres estipulares de *C. decandra* Jacq., *C. rufescens* Cambess. e *C. sylvestris* SW. são avascularizados e do tipo padrão, anatomicamente semelhantes aos coléteres das margens foliares de 42 espécies de *Casearia*. (Fernandes *et al.* 2016). Entretanto, além de ocorrer na margem, coléteres também podem ser encontrados no ápice e na base das estípulas das três espécies estudadas.

A presença de coléteres no ápice, bordo e base das estípulas em *Casearia decandra* que difere de *C. rufescens* e *C. sylvestris* que não apresentam coléteres marginais pode ser relacionada à caducifolia de *C. decandra*. Essa espécie perde as folhas antes da floração, simultaneamente com a brotação dos novos ramos. Deste

modo, durante a quebra de dormência da gema a secreção dos coléteres tem função de garantir lubrificação e proteção da estípula. Na fase seguinte, a persistência da atividade secretora garante proteção dos meristemas e primórdios foliares. Tal explicação é apoiada pela hipótese de Paiva (2009) que estudou coléteres de *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae), uma espécie florestal com folhas caducas entre o inverno e a primavera e relacionou a ocorrência, distribuição e secreção dos coléteres com a proteção das folhas jovens que se desenvolvem neste período transitório adverso.

Estípulas modificadas foram observadas somente em *C. decandra* elas são morfológicamente semelhantes às estípulas modificadas registradas em *Populus* e *Salix* (Curtis e Lersten 1980). Nestes dois gêneros de Salicaceae tais estípulas cobrem totalmente as gemas durante o inverno e são mais largas e coriáceas do que as características das espécies, fato também comum ao observado em *C. decandra*. No entanto, nas estípulas modificadas de *Populus* e *Salix* estruturas secretoras foram registradas e denominadas “glândulas de resina”. De forma que em *Populus* elas secretam abundantemente neste período (Curtis e Lersten 1974) enquanto em *Salix lucida* não. (Curtis e Lersten 1980).

Alguns autores associam a secreção dos coléteres estipulares com a dormência das gemas laterais (Willian *et al.* 1982; Appezzato-da-Glória e Estelita 2000, Mayer *et al.* 2013), o que se difere em *Casearia* cujas estípulas não apresentam glândulas no período de dormência.

A epiderme secretora dos coléteres estipulares das três espécies estudadas é recoberta por cutícula fina, característica distinta da cutícula espessa observada nas “glândulas de resina”, interpretadas como coléteres por Thomas (1991) nas estípulas de *Populus* e *Salix* (Curtis e Lersten 1974, 1978, 1980), gêneros da família Salicaceae.

Drusas foram frequentemente observadas no eixo central parenquimático de coléteres estipulares de *C. decandra* e nos de *C. sylvestris* (floresta). Nos coléteres da margem foliar de *Casearia*, drusas foram evidenciadas somente em *C. rupestris* (Fernandes *et al.* 2016) e nas glândulas de resina de *Populus* elas estão ausentes, mas são características em *Salix* (Curtis e Lersten 1980). Na ordem Malpighiales, a presença de drusas e outros cristais de oxalato de cálcio é bem documentada e têm valor taxonômico nos coléteres das famílias Euphorbiaceae (Vitarelli *et al.* 2015), Salicaceae (Curtis e Lersten 1980), Rhizophoraceae (Sheue *et al.* 2005, 2013).

Carlquist (1969) propôs que a vascularização dos coléteres estaria relacionada com o tamanho deles. Nossos dados são contrários a esta hipótese uma vez que os coléteres estipulares estudados não são vascularizados, contudo variaram em tamanho de 190µm de comprimento e 172 µm de largura a 2.336 µm de comprimento e 369 µm de largura, semelhante ao relatado em outros trabalhos (Apezzato-da-Glória e Estelita 2000, Dalvi *et al.* 2014, Tresmondi *et al.* 2015).

Coléteres curto-pedunculados são os mais comuns nas estípulas das três espécies de *Casearia* estudadas, tendo sido citado para representantes de Apocynaceae (Subramanian *et al.* 1990, Rio *et al.* 2002), Caryocaraceae (Paiva e Machado 2006b), Euphorbiaceae (Vitarelli *et al.* 2015) Gentianaceae (Dalvi *et al.* 2014) Leguminosae (Coutinho *et al.* 2015) Rhizophoraceae (Sheue *et al.* 2012) e Rubiaceae (Thomas 1991, Klein *et al.* 2004, Tullii *et al.* 2013, Tresmondi *et al.* 2015). Coléteres sésseis são menos relatados (González 1998, Sheue *et al.* 2012, Silva *et al.* 2012, Dalvi *et al.* 2014, Fernandes *et al.* 2016) enquanto os pedúnculos longos podem ser difíceis de serem comparados pela falta de um parâmetro que leve em conta medidas de proporção e não números absolutos. Sheue *et al.* (2012) consideraram os pedúnculos longos quando estes atingiam comprimento maior ou igual a 100µm, o que limita a comparação. Outros autores mencionam a variação no tamanho sem especificar (Dalvi *et al.* 2014). Para

*Casearia* consideramos como longo o pedúnculo que foi maior ou igual ao comprimento da porção secretora, de modo que entre os coléteres curtos foram registrados pedúnculos de até 297  $\mu\text{m}$ , mas que não se equivalem ao comprimento da porção secretora. Essa definição foi útil neste trabalho e pode ser aplicável a outros estudos de coléteres a fim de obtermos um padrão a este respeito.

Não existe consenso quanto às variações de tamanho (comprimento médio) dos coléteres encontrada em diferentes espécies de um mesmo gênero ou entre gêneros. Para diferentes gêneros de Rubiaceae não foram encontradas diferenças quanto ao tamanho dos coléteres quando comparados os gêneros da fitofisionomia florestal e savânica do cerrado (Tresmondi *et al.* 2015), bem como não foram notadas diferenças entre espécies de *Simira* (Rubiaceae) que ocorrem em um mesmo ambiente (Klein *et al.* 2004). Já em Rhyzophoraceae o comprimento total dos coléteres foi maior nas espécies do mangue que nas de floresta (Sheue *et al.* 2013). Os autores atribuíram essa diferença à maior exposição a condições de estresse hídrico que as espécies de mangue estão submetidas. Estes resultados são, portanto contrários ao maior comprimento dos coléteres das espécies florestais de *Casearia* registrados no presente trabalho. Em outra abordagem, Lersten (1974) correlacionou as variações de tamanho dos coléteres estipulares de *Psychotria* (Rubiaceae) com áreas geográficas, o que tem sido refutado pelos dados dos trabalhos subsequentes, inclusive os obtidos para *Casearia*.

A secreção dos coléteres estipulares de *Casearia* tem natureza hidrofílica e higroscópica, sendo constituída por polissacarídeos de alto peso molecular, mucilagem e proteínas. Tal composição de exsudado é típica dos coléteres (Thomas 1991). A secreção mucilagínosa promove a lubrificação dos primórdios foliares e protege da desidratação tanto o meristema apical quanto as gemas laterais graças às propriedades de seus constituintes (Fahn 1990, Thomas 1991, Evert 2013; Mayer *et al.* 2013).

Grãos de amido foram observados nas células da epiderme secretora de *C. rufescens* e *C. sylvestris*. A presença de grãos de amido é atribuída a uma demanda energética, e pode ser relacionada na manutenção dos precursores para a atividade secretora dos coléteres (Thomas 1991, Paiva 2009, Machado *et al.* 2012, Tullii *et al.* 2013).

Proteínas têm sido encontradas na secreção de coléteres (Thomas 1991, Klein *et al.* 2004, Coelho *et al.* 2013, Tulli *et al.* 2013, Lopes-Matos *et al.* 2015, Coutinho *et al.* 2015) e têm importância taxonômica como demonstrado em *Ilex* (Aquifoliaceae) onde as espécies foram organizadas em dois grupos (Gonzáles e Tarragó 2009). A principal hipótese da função da fração protéica do exsudado de coléteres é a defesa contra microorganismos, principalmente contra o desenvolvimento de fungos (Klein *et al.* 2004, Miguel *et al.* 2006, Paiva e Machado 2006b, Paiva 2009).

A presença de polissacarídeos, mucilagem e proteínas e ausência de lipídios e terpenos foram constantes na secreção dos coléteres estipulares das três espécies de *Casearia*, independente do habitat (cerrado ou floresta). Compostos lipídicos também não foram detectados na secreção dos coléteres dos ápices dos dentes marginais de lâminas foliares de *Casearia* (Fernandes *et al.* 2016). De forma semelhante os coléteres de espécies de um mesmo gênero de Rubiaceae em habitats diferentes exibiram homogeneidade na secreção (Vitarelli e Santos 2009, Tresmondi *et al.* 2015). No entanto, o estudo que comparou a secreção dos coléteres de diferentes gêneros e espécies de Rubiaceae ocorrentes na fitofisionomia florestal e savânica do cerrado demonstrou existir correspondência entre a natureza lipofílica da secreção com as espécies da fitofisionomia savânica e a natureza hidrofílica com a da florestal (Tresmondi *et al.* 2015). Esses autores atribuíram essa diferença a condições de luminosidade das duas fitofisionomias (Tresmondi *et al.* 2015).

Compostos fenólicos são frequentemente citados para coléteres, mas não são encontrados na secreção (Apezato-da-Glória e Estelita 2000, Coelho *et al.* 2013), concordando com os dados obtidos no presente trabalho. A correlação entre senescência e acúmulo de compostos fenólicos foi evidenciada em alguns trabalhos (Paiva 2009, Paiva 2012, Mercadante-Simões e Paiva 2013) assim como visto em *C. decandra* e *C. sylvestris*. No entanto, *C. rufescens*, espécie endêmica do cerrado, apresentou o eixo central parenquimático constituído por células isodiamétricas ou alongadas com compostos fenólicos desde sua formação, em contínuo com os idioblastos fenólicos distribuídos abaixo da epiderme da estípula. Esses idioblastos fenólicos não se restringem à estípula ou ao coléter, mas são abundantes em toda parte aérea da planta e podem constituir uma estratégia de defesa da planta à radiação intensa (Taiz e Zeiger 2004) e à herbivoria (Camargo 2002). Barreiro e Machado (2007) também assinalaram a presença característica de compostos fenólicos no eixo central dos coléteres em *Alibertia sessilis* (Rubiaceae), outra espécie endêmica do cerrado.

A formação de espaços subcuticulares, onde a secreção é armazenada antes de ser eliminada em *Casearia*, tem sido relacionados à dissociação da lamela média entre as células da epiderme secretora (Apezato-da-Glória e Estelita 2000) e à pressão exercida pelo aumento do vacúolo central (Paiva e Machado 2006a) e do acúmulo de secreção (Tullii *et al.* 2013). Para elucidar o mecanismo de eliminação da secreção dos coléteres estipulares de *Casearia* estudos ultraestruturais, são necessários.

A descrição anatômica de coléteres do tipo padrão nas estípulas de *Casearia* Jacq. é inédita. Não foram notadas diferenças na natureza da secreção nos coléteres conforme o ambiente de ocorrência da espécie, mas o tamanho foi maior nas espécies de floresta quando comparados com as de cerrado, o que torna tal caráter inválido à taxonomia. Dada a função atribuída aos coléteres de proteger os meristemas e órgãos em desenvolvimento, os resultados obtidos são promissores, pois suscitam a

investigação sobre a ocorrência e diversidade de coléteres estipulares no gênero *Casearia*.

As perspectivas de estudos futuros são de cunho sistemático, uma vez que quase a totalidade das espécies do gênero *Casearia* possuem estípulas e é admissível a presença de coléteres nelas. Suscitam ainda investigações sobre a presença de coléteres nas estípulas dos outros gêneros da família Salicaceae e também Samydaceae. A variedade morfológica exibida pelo gênero pode indicar a existência de padrões de distribuição, arranjo ou formato dos coléteres estipulares que possam ser relacionados à sua filogenia ou à história evolutiva do gênero, uma vez que foi verificada a invariabilidade destes caracteres nas espécies estudadas

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, FAPEMIG pelo apoio financeiro; a CAPES pela bolsa de mestrado concedida a D. N. S. Faria e ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa concedida a R. M. S. A. Meira; ao curador do herbário VIC por permitir a retirada de amostras herborizadas; ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV e as servidoras do Departamento de Biologia Vegetal, Aurora Sato e Patrícia Fonseca, pelo apoio técnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alford MH 2003 Claves para los géneros de Flacourtiaceae de Perú y del NuevoMundo. *Arnaldoa* 10: 19-38.
- Alford MH 2005 Systematic studies in Flacourtiaceae. Ph.D. Dissertation. Cornell University, Ithaca.
- APG II 2003 An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. (The Angiosperm Phylogeny Group. Bremer B, Bremer K, Chase MW, Reveal JL, Soltes DE, Soltes PS, Stevens PF). *Bot. J. Linn. Soc* 141: 399- 436.
- APG III 2009 An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc*: 105–121.
- Apezzato-da-Gloria B, MEM Estelita 2000 Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). *Rev. Bras. Bot.* 23:113-120.
- Barreiro DP, SR Machado 2007 Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie não nodulada de Rubiaceae. *Rev. Bras. Bot.* 30:387–399.
- Beutler JA, KL McCall, HK Herald, DL Herald, GR Pettit, T Johnson, RH Shoemaker, MR Boyd 2000 Novel cytotoxic diterpenes from *Casearia arborea*. *J. Nat. Prod.* 63:657-61.
- Botrel RT, LA Rodrigues, LJ Gomes, DAde Carvalho, MAL Fontes 2006 Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 20: 143-156.
- Breteler FJ 2008 Synopsis of *Casearia* Jacq.(Samydeae: Salicaceae) in west and central Africa with a description of a new species from eastern Congo (Kinshasa). *Kew Bulletin* 63: 101-112.
- Camargo APde 2002 O potencial agrícola do cerrado. In Klein AL (Ed) Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois. Editora Unesp, São Paulo.
- Cardoso-Gustavson P, LM Campbell, SCMazzoni-Viveiros, Fde BARROS 2014 Floral colleters in Pleurothallidinae (Epidendroideae: Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 101: 587–597.
- Carlquist S 1969 Toward acceptable evolutionary interpretations of floral anatomy. *Phytomorphol.* 19:332-362
- Carvalho ES, AG Santos, AJ Cavalheiro 2009 Identificação de diterpenos clerodânicos em diferentes órgãos de *Casearia sylvestris* Swartz. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 30:277-284.
- Chase MW, Zmarzty S, Lledo MD, Wurdac KJ, Swensen SM, Fay MF 2002 When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based onplastidrbcl DNA sequences. *Kew Bull.* 57: 141-181.
- Coelho VPdeM, JPV Leite, LG Fietto, MC Ventrella 2013 Colleters in *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae): development,ultrastructure and chemical composition of the secretion. *Flora* 208: 579– 590.
- Corrêa MP 1984 Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas vol.3. Instituto de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro.

- Coutinho LM 2002 O bioma do cerrado. In Klein AL (Ed) Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois. Editora Unesp, São Paulo.
- Coutinho ÍAC, DMT Francino, RMSA Meira 2015 New records of collectors in *Chamaecrista* (Leguminosae, Caesalpinioideae S.L.): structural diversity, secretion, functional role, and taxonomic importance. *Int. J. Plant Sci.* 176:72–85.
- Curtis JD, RN Lersten 1974 Morphology, seasonal variation, and function of resin glands on buds and leaves of *Populus deltoides* (Salicaceae). *Am. J. Bot.* 61:835-845.
- Curtis JD, RN Lersten 1978 Heterophylly in *Populus grandidentata* (Salicaceae) with emphasis on resin glands and extrafloral nectaries. *Am. J. Bot.* 65:1003-1010.
- Curtis JD, RN Lersten 1980 Morphology and anatomy of resin glands in *Salix lucida* (Salicaceae). *Am. J. Bot.* 67:1289–1296.
- Dalvi VC, LS Cardinelli, RMSA Meira, AA Azevedo 2014 Foliar collectors in *Macrocarpaea obtusifolia* (Gentianaceae): anatomy, ontogeny, and secretion. *Botany* 92:59–67.
- David R, JP Carde 1964 Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpéniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *C. R. Acad. Sci. Paris* 258:1338–1340.
- Donato AM, BL de Morretes 2007 Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. *Braz J. Pharmacogn.* 17:426-443.
- Evert RF 2013 Anatomia das Plantas de Esau. Trad. Carmen Regina Marcati. Blücher, São Paulo.
- Fahn A 1990 Plant anatomy. 4th ed. Pergamon, Oxford.
- Flausino Jr. O, BM Abissi, GM Vieira Jr., AG dos Santos, DH da Silva, A Cavalheiro, V da S Bolzani 2009 Protease inhibition activity of extracts from Salicaceae species from Brazilian Cerrado and Atlantic Rain Forest and of an enriched fraction of clerodane diterpenes (casearins) *Rev. Bras. Farmacogn.* 19: 755-758.
- Fernandes VF 2016 Estruturas secretoras foliares em *Casearia* Jacq.: uma abordagem anatômica, ultraestrutural e taxonômica. Tese, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- Fernandes VF, Thadeo M, Dalvi VC, Marquete R, Meira, RMSA 2016 A new interpretation of the theoid teeth of *Casearia* Jacq. (Salicaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 1-10.
- Ferreira PMP, LV Costa-Lotufó, MO Moraes, FWA Barros, AMA Martins, AJ Cavalheiro, VS Bolzani, AG Santos, C Pessoa 2011. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. *An. Acad. Bras. Cienc.* 83 1373-1384.
- Filgueira JPPS, TYS Kikuchi, MR Coelho-Ferreira 2016 Morphology, ontogeny and structure of the stipular nectarines in *Caamembeca spectabilis* (Polygalaceae) *Acta Amaz.* 46: 127-132.
- González AM 1998 Collectors in *Turnera* and *Piriqueta* (Turneraceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 128: 215–228.
- González AM, JR Tarragó 2009 Anatomical structure and secretion compounds of collectors in nine *Ilex* species (Aquifoliaceae) from southern South America. *Bot. J. Linn. Soc.* 160:197–210.

- Johansen DA 1940 Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- Klein DS, VM Gomes, SJ Silva-Neto, M Cunha 2004 The structure of colleter in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Ann. Bot.* 94:733–740.
- Kraus JE, M Arduin 1997 Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Edur, Rio de Janeiro.
- Lersten NR 1974 Morphology and distribution of colleter and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). *Am. J. Bot.* 61:973–981.
- Lillie RD 1965 Histopathologic technic and practical histochemistry. 3rd ed. McGraw-Hill, New York.
- Lopes-Mattos KLB, SAP Otuki, AA Azevedo, ZV Pereira, RMSA Meira 2015 Colleters in 10 species belonging to three tribes of Rubiaceae: morphoanatomical diversity and potential as useful characters for taxonomy. *Botany* 93:425-434.
- Lorenzi H 2009 Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, vol. 2, 3 ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Machado SR, DP Barreiro, JF Rocha, TM Rodrigues 2012 Dendroid colleter on vegetative and reproductive apices in *Alibertia sessilis* (Rubiaceae) differ in ultrastructure and secretion. *Flora* 207:868– 877.
- Marchiori JNC 1997 Dendrologia das angiospermas das magnoliáceas as flacourtiáceas. Editora UFSM, Santa Maria.
- Marquete R, ASF VAZ 2007 O gênero *Casearia* no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 58: 705-738.
- Marquete R 2010 O gênero *Casearia* Jacq. no Brasil. Tese, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Mayer JLS, P Cardoso-Gustavson, B Appezzato-da-Glória 2011 Colleters in monocots: new record for Orchidaceae. *Flora* 206:185–190.
- Mayer JLS, SM Carmello-Guerreiro, P Mazzafera 2013 A functional role for the colleter of coffee flowers. *AoB Plants* 5:1–13.
- McManus JFA 1948 Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technol.* 23: 99–108.
- Mercadante-Simões MO, ÉAS Paiva 2013 Leaf colleter in *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae): Ecological, morphological and structural aspects. *C. R. Biol.* 336:400–406.
- Miguel EC, VM Gomes, MA Oliveira, M Cunha 2006 Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): ultrastructure, secretion protein composition, and antifungal activity. *Plant Biol* 8:715–722.
- Morais SM, MIL Machado, SMF Machado, VA Facundo, JSLT Militao, AA Ribeiro 1997 Essential oil of *Casearia grandiflora* Camb. *J. Essent. Oil Res.* 9: 697-698.

- O'Brien TP, ME McCully 1981 The study of plant structure principles and selected methods. Termarcarphi, Melbourne.
- Paiva ÉAS 2009 Occurrence, structure and functional aspects of the colleters of *Copaifera langsdorffii* Desf.(Fabaceae, Caesalpinioideae).C. R. Biol 332:1078–1084.
- Paiva ÉAS 2012 Colleters in *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae): structure, secretion and evidences for young leaf protection. J. Torrey Bot. Soc. 139:1–8.
- Paiva ÉAS, SR Machado 2006a Colleters in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): ontogenesis, ultrastructure and secretion. Braz. J. Biol. 66:301–308.
- Paiva ÉAS, SR Machado 2006b Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) colleters. Rev. Biol. Trop. 54:943–950
- Pearse AGE 1980 Histochemistry theoretical and applied. 4th ed.Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Pizzolato P, RD Lillie 1973 Mayer's tannic acid–ferric chloride stain for mucins. J. Histochem. Cytochem. 21:56–64.
- Rio MCS, MM Castro, LS Kinoshita 2002 Distribuição e caracterização anatômica dos coléteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae) Rev. Bras. Bot.25:339-349.
- Rodrigues VEG, DA Carvalho 2001 Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto rio grande - Minas Gerais. Ciênc. Agrotec.25:102-123.
- Salvador MJ, JEde Carvalho, A Wisniewski-Jr, CAL Kassuya, EP Santos, D Riva, MEA Stefanello 2011 Chemical composition and cytotoxic activity of the essential oil from the leaves of *Casearia lasiophylla*. Rev. Bras. Farmacogn. 21:864-868.
- Samarakoon T 2015 Phylogenetic relationships of Samydaceae and taxonomic revision of the species of *Casearia* in south-central Asia. PhD Diss. The University of Southern Mississippi, Hattiesburg, MS.
- Schoenfelder T, C TPich, R Geremias, S Ávila, EN Daminelli, RC Pedrosa, J Bettiol 2008 Antihyperlipidemic effect of *Casearia sylvestris* methanolic extract. Fitoterapia 79: 465–467.
- Schwarz EA, A Furlan 2002 Coléteres foliares de *Oxypetalum* R. Br. (Asclepiadoideae, Apocynaceae) — Aspectos ultraestruturais e anatômicos úteis à taxonomia das espécies do Paraná (Brasil). Acta Biol. Par.31: 79-97.
- Sheue C-R, JWH Yong, Y- P Yang 2005 The *Bruguiera* (Rhizophoraceae) species in the mangroves of singapore, especially on the new record and the rediscovery. Taiwaniana 50: 251-260.
- Sheue C-R, Y-J Chen, Y-P Yang 2012 Stipules and colleters of the mangrove Rhizophoraceae: morphology, structure and comparative significance. Bot. Stud. 53:243–254.
- Sheue C-R, P Chesson, Y-J Chen, S-Y Wu, Y-H Wu, JWH Yong, T-Y Guu, C-L Lim, RMA Randrianasolo, MH Razanajatovo, Y-P Yang 2013 Comparative systematic

- study of colleters and stipules of Rhizophoraceae with implications for adaptation to challenging environments. *Bot. J. Linn. Soc* 172: 449–464.
- Silva SLda, JdaS Char, T Yano 2009 Chemotherapeutic potential of two gallic acid derivative compounds from leaves of *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae). *Eur. J. Pharmacol.* 608: 76–83
- Silva CJ, LCA Barbosa, AE Marques, MC Baracat-Pereira, AL Pinheiro, RMSA Meira 2012 Anatomical characterization of the foliar colleters in Myrtoideae (Myrtaceae). *Aust. J. Bot.* 60: 707–717.
- Simões AO, MM Castro, LS Kinoshita 2006 Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. *Bot. J. Linn. Soc.* 152:387–398.
- Sleumer HO 1980 Flacourtiaceae. *Flora Neotropica* 22:1-499.
- Smith FH, EC Smith 1942 Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *Am. J. Bot.* 29:464–471.
- Souza CD, JM Felfili 2006 Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Act. Bot. Bras.* 20: 135-142.
- Stefanello MEA 2010 Essential oil composition of *Casearia decandra* Jacq. *J.Essent.Oil Res.* 22:157-158.
- Subramanian RB, V Murugan, JSS Mohan, JA Inamdar 1990 Optical microscopic studies on the structure and secretion of resin glands in some Apocynaceae. *Proc. Indian Acad. Sci. Plant. Sci.* 99: 423-429.
- Taiz L, E Zeiger 2004 *Fisiologia Vegetal* 3 ed. Artmed, Porto Alegre.
- Thadeo M, Meira RMSA, Azevedo AA, Araújo JM 2009 Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras da folha de *Casearia decandra* Jacq. (Salicaceae). *Rev. Bras. Bot.* 32: 329-338.
- Thadeo M, Azevedo AA, Meira RMSA 2014 Foliar anatomy of neotropical Salicaceae: potentially useful characters for taxonomy. *Pl. Syst. Evol.* 300: 2073-2089.
- Thomas V 1991 Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Ann. Bot.* 68:287–305.
- Torres RB, E Ramos 2007 Flacourtiaceae. *In* Wanderley MGL, GJ Shepherd, TS Melhem, AM Giullietti *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo*. 1 ed. Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, São Paulo.
- Torres RB, K Yamamoto 1986 Taxonomia das espécies de *Casearia* Jacq. (Flacourtiaceae) do estado de São Paulo. *Rev. Bras. Bot.* 9: 239-258.
- Tresmondi F, A Nogueira, E Guimarães, SR Machado 2015 Morphology, secretion composition, and ecological aspects of stipular colleters in Rubiaceae species from tropical forest and savanna. *Sci Nat* 102: 73.
- Tullii CF, EC Miguel, NB Lima, KVS Fernandes, VM Gomes, Mda Cunha 2013 Characterization of stipular colleters of *Alseis pickelii*. *Botany* 91: 403–413.

- UTHSCSA image tool: image processing and analyses program: version 3.0. San Antonio: University of Texas, 2002. Disponível em: <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>>. Acesso em outubro de 2015.
- Vasco A, M Thadeo, M Conover, Dc Daly 2014 Preparation of samples for leaf architecture studies, a method for mounting cleared leaves. APPS 2: 1400038
- Vendruscolo GS, LA Mentz 2006 Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. Act. Bot. Bras.20: 367-382.
- Vitarelli NC, M Santos 2009 Anatomia de estípulas e coléteres de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). Acta Bot. Bras. 23: 923-928.
- Vitarelli NC, R Riina, MBR Caruzo, I Cordeiro, J Fuerstes-Aguilar, RMSA Meira 2015 Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): diversity, anatomy, and evolutionary significance. Am. J. Bot. 102:1 – 15.
- Williams RF, Metcalf RA, Gust LW 1982 The genesis of form in oleander (*Nerium oleander* L.). Aust. J. bot.30: 677–687.

*Apêndice.* Espécimes estudados de *Casearia* com informações sobre o tipo de formação vegetal, local de coleta, número de registro no herbário e o número de coletor. Sigla do herbário: VIC = Herbário da Universidade Federal de Viçosa. Espécimes coletados em campo e fixados conforme especificados na metodologia são indicados por um (\*)

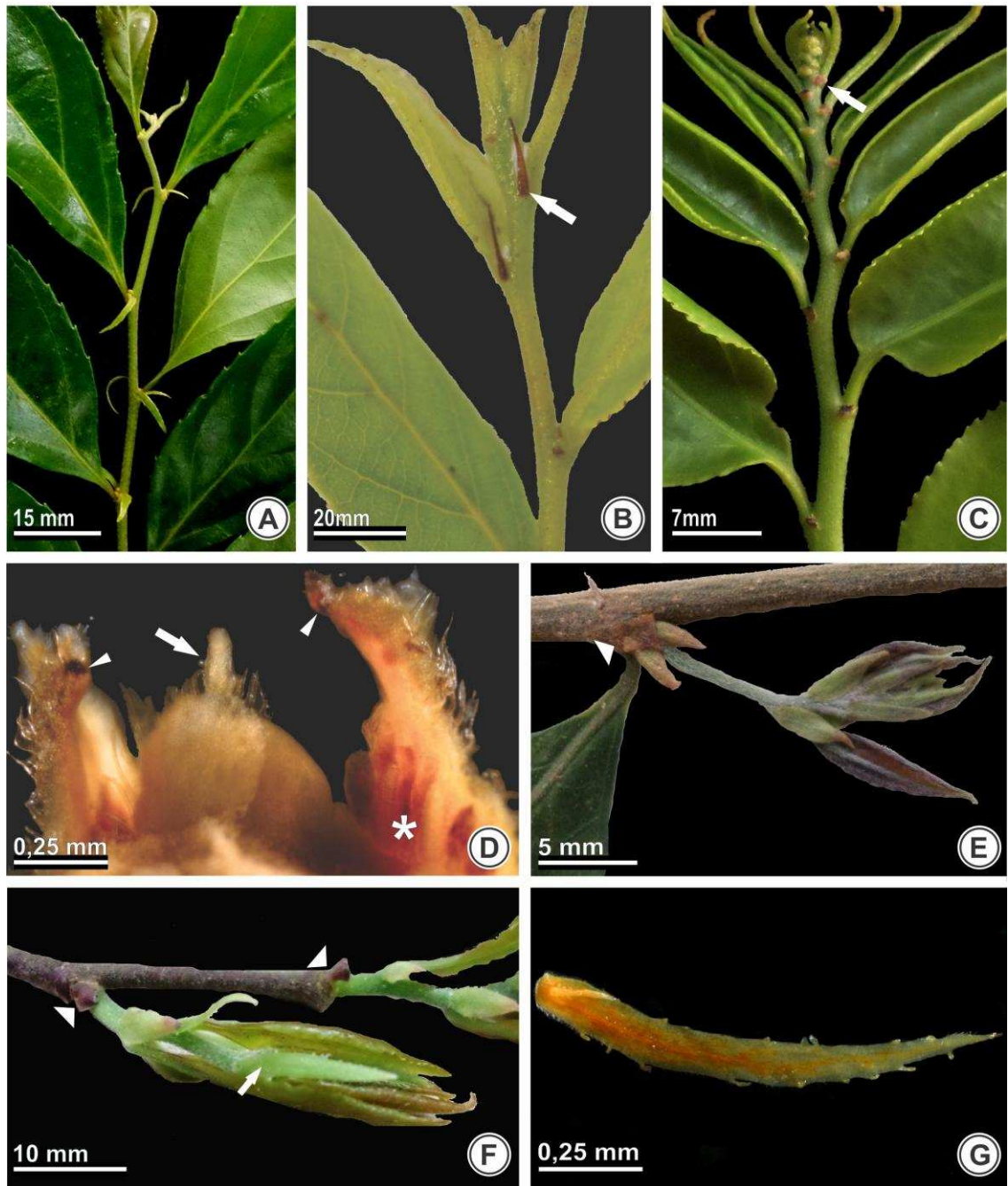
|  | <i>C. decandra</i> Jacq.    |   |   |  |   |  | <i>C. rufescens</i> Cambess.   | <i>C. sylvestris</i> SW.  |  |
|--|-----------------------------|---|---|--|---|--|--|---|--|
| Tipo de Vegetação                          | Floresta                    |   |   |  |   |  | Cerrado  | Cerrado   | Floresta   |
| Hábito                                     | Árvore                      |   |   |  |   |  | Subarbusto   | Arbusto   | Árvore   |
| Coordenadas geográficas ou local de coleta | 23° 04'30"S<br>45° 56'15"WO | Brasil, MG, Viçosa, UFV, Mata da Biologia, JB-1 na trilha do Sauá | Brasil, MG, Viçosa, Bairro Paraíso, Sítio Ypê | Brasil, MG, Viçosa, Distrito São José do Triunfo, Sítio Cascalho | Brasil, MG, UFV, Dendrologia                | 20°47'52.1"S<br>42° 52'18.6"WO                                     | 17°05'40,2"S<br>43°0,2'28,9"WO   | 19° 20'S<br>44°20"WO  | 20°47'52,3"S<br>42°52'19.0"WO  |
| Herbário (número de coletor)               | VIC 11195 (Silva 1571)      | VIC 18865 (Ferreira-Júnior s.n); VIC 30833 (Ferreira-Júnior 01)   | VIC 29721 (Lopes 262)                         | VIC 31123 (Carmo s.n)  | VIC 31124 (Silva 01); VIC 45067 (Faria s.n) | VIC 45163 (Faria s.n)*; VIC 45367 (Faria s.n)*; 45368 (Faria s.n)* | VIC 45061 (Faria e Pereira s.n)*; VIC 45062 (Faria e Pereira s.n)*; VIC 45063 (Faria e Pereira s.n)* | VIC 38831 (Neri e Santos s.n); VIC 44868 (Fernandes e Pereira s.n)*; VIC 44869 (Fernandes e Pereira s.n)* | VIC 45064 (Faria, Meira e Fernandes s.n)*; VIC 45065 (Faria, Meira e Fernandes s.n)* VIC 45066 (Faria, Meira e Fernandes s.n)* |

# **TABELA E FIGURAS**

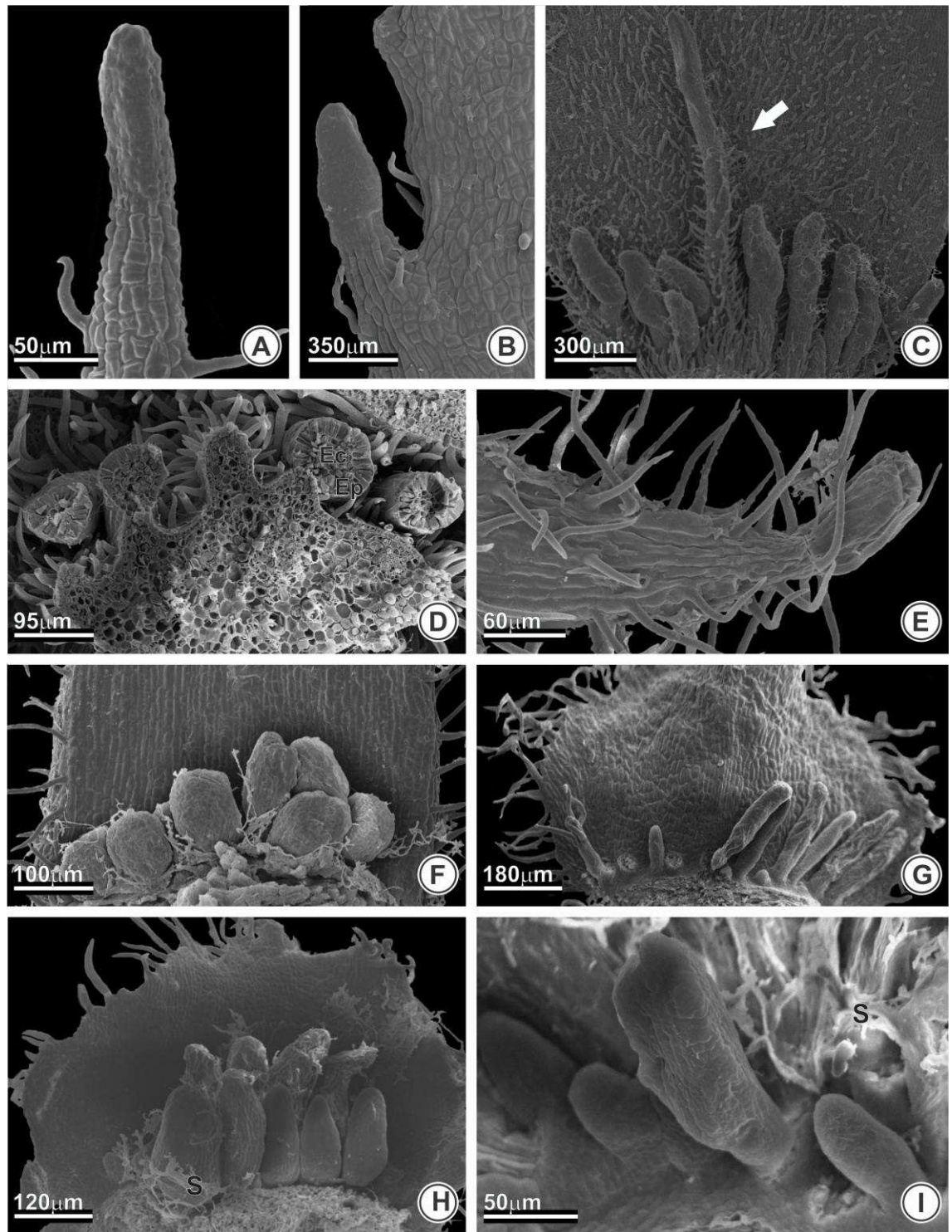
**Tabela 1.** Comparação da morfologia e das dimensões das estípulas; comprimento e largura das glândulas inteiras e o comprimento do pedúnculo; e da presença de cristais dentre as glândulas da base estipular de *C. rufescens*, *C. sylvestris* e *C. decandra* em relação ao hábitat das três espécies.

|   | <b>Cerrado</b>                  |                             | <b>Floresta</b>             |                             |
|---|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|   | <i>C. rufescens</i><br>Cambess. | <i>C. sylvestris</i><br>Sw. | <i>C. sylvestris</i><br>Sw. | <i>C. decandra</i><br>Jacq. |
| <b>Formato da estípula</b>                                      | Linear-lanceolada               | Subovada                    | Subovada                    | Linear                      |
| <b>Comprimento da estípula</b>                                  | 2-5 mm                          | 0,5-1 mm                    | 0,5-1mm                     | 5-9mm                       |
| <b>Largura da estípula</b>                                      | 0,5-1mm                         | 0,5-1mm                     | 0,5-1mm                     | 1-2mm                       |
| <b>Comprimento glândulas + (média) <math>\mu\text{m}</math></b> | 190-540 (396)                   | 378-1082 (573)              | 289-1106 (705)              | 101-2336 (847)              |
| <b>Largura glândulas + (média) <math>\mu\text{m}</math></b>     | 172-351 (254)                   | 125-227 (171)               | 224-619 (337)               | 71-445 (220)                |
| <b>Comprimento aproximado do pedúnculo</b>                      | 0 até 140 $\mu\text{m}$         | 0 até 200 $\mu\text{m}$     | 0 até 250 $\mu\text{m}$     | 0 até 900 $\mu\text{m}$     |
| <b>Drusas</b>   | -                               | -                           | +                           | +                           |

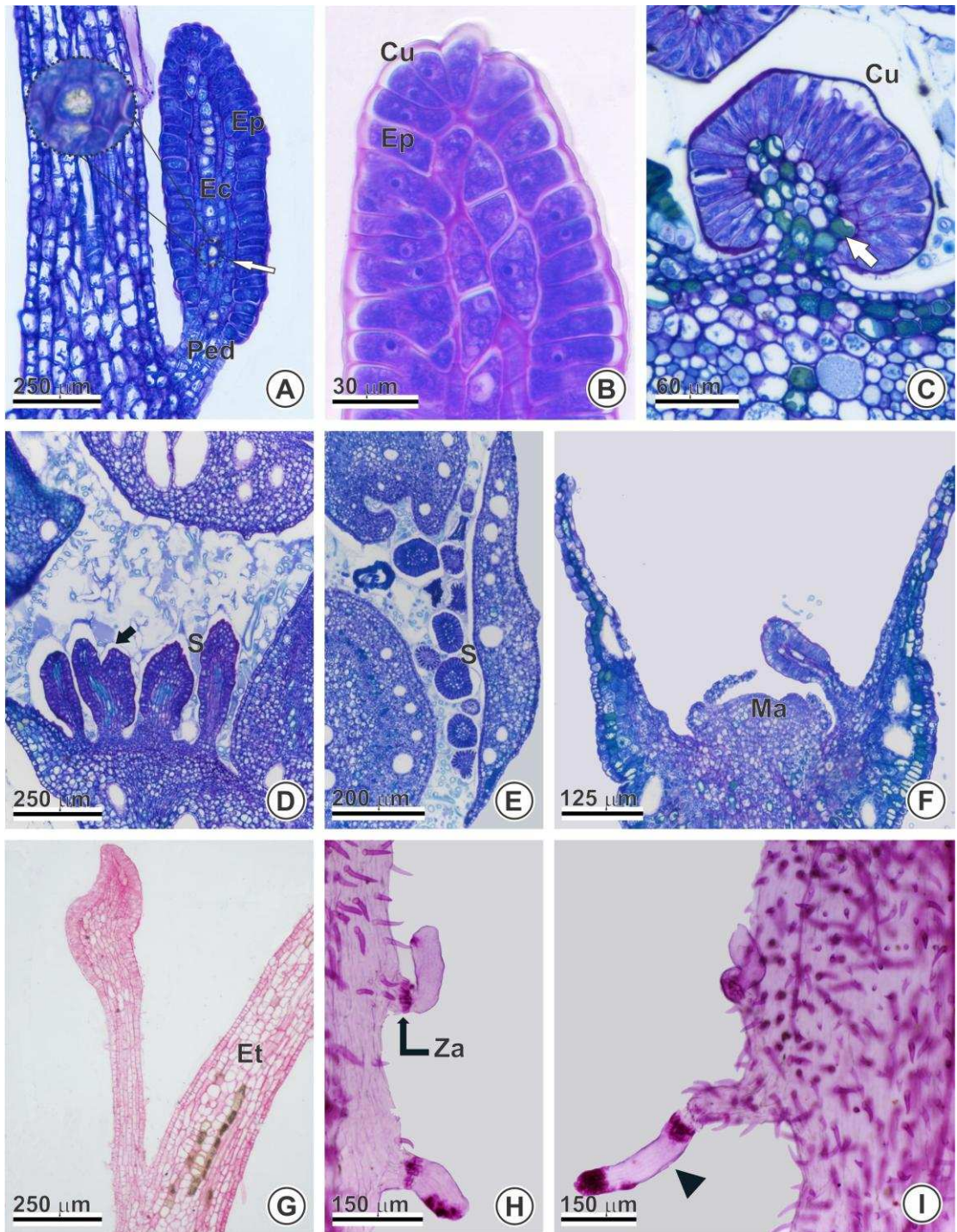
**Notas:** CxL = comprimento versus largura; + = presente, - = ausente.



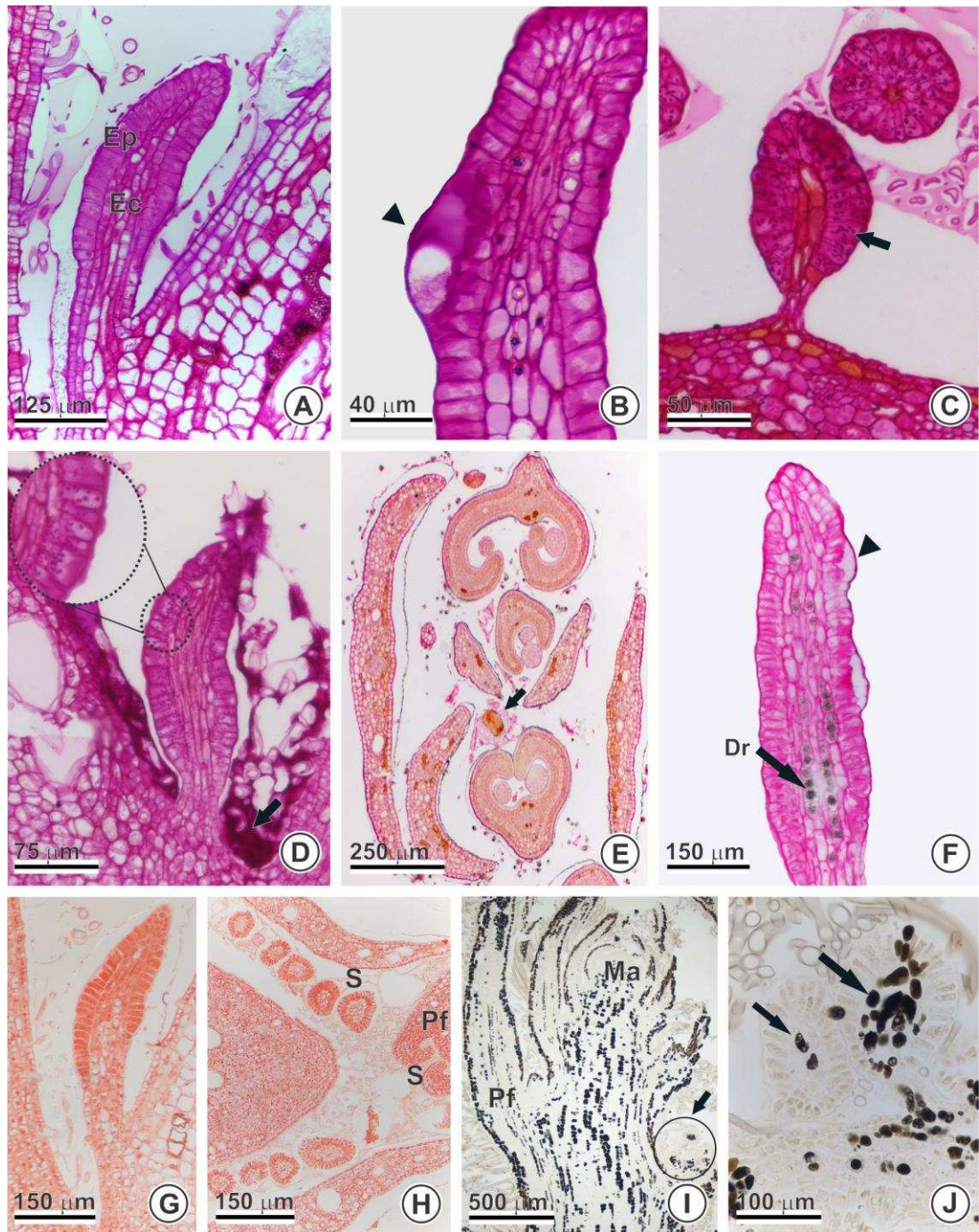
**Fig. 1** Visão geral das estípulas de *Casearia decandra* (A, E-G), *C. rufescens*(B) e *C. sylvestris* (C e D). A-C: Ramos vegetativos evidenciando as estípulas. Note a coloração amarronzada das estípulas senescentes (seta); D: Estípulas cobrindo o meristema apical, evidenciando a glândula no ápice da estípula (seta), note a coloração mais escura na glândula do ápice da estípula mais velha (cabeça de seta) e glândulas na base (\*); F, G: Estípulas modificadas na base do ramo (cabeça de seta). Note o ramo recém formado pela ativação da gema durante a primavera e a presença de estípulas com formato, espessura e glândulas típicas (seta); H: Glândulas na base, margem e ápice da estípula.



**Fig. 2** Distribuição e morfologia das glândulas estípulares das espécies *Casearia decandra* (A-D), *C. rufescens* (E, F) e *C. sylvestris* (G-I) em MEV. A-C: glândulas do ápice, margem e base da estípula, respectivamente. Note glândula com pedúnculo longo (seta); D: secção transversal da base da estípula evidenciando o arranjo estrutural das glândulas, compostas por um eixo central parenquimático multicelular (Ec) recoberto por epiderme secretora unisseriada em paliçada (Ep); E, F: glândulas do ápice e base da estípula, respectivamente; G: Glândulas da base da estípula *C. sylvestris* (cerrado); H, I: Glândulas da base da estípula de *C. sylvestris* (floresta). Note secreção extravasada (S).



**Fig. 3** Anatomia das glândulas estipulares de *C. decandra* (A, B, G-I), *C. rufescens* (C) e *C. sylvestris* (D-F); secções longitudinais (A-D, F, G), secção transversal (E) e material diafanizado (H, I). A: Glândula formada por um eixo central parenquimático avascularizado (Ec), epiderme secretora em paliçada (Ep) e por uma porção não secretora denominada pedúnculo (Ped). Note no detalhe as drusas (seta); B: detalhe da porção secretora evidenciando as células da epiderme (Ep) recobertas por cutícula fina (Cu) e com núcleo conspícuo, nucléolo evidente e citoplasma denso; C: glândula séssil com as células do eixo central contendo compostos fenólicos (seta). Note a cutícula distendida (Cu). D, E: glândulas de plantas da floresta evidenciando a secreção extravasada (S). Note a glândula bifurcada (seta); F: glândula em planta de cerrado cobrindo o meristema apical (Ma); G: glândula com pedúnculo longo na base da estípula (Et); H, I: glândulas marginais avascularizadas, note a zona de abscisão (Za) indicada pela seta e a queda da porção secretora (cabeça de seta).



**Fig. 4** Resultados dos testes histoquímicos das glândulas estípulares de *Casearia decandra* (A, B, F-H), *C. rufescens* (C, I, J) e *C. sylvestris* (D); seções longitudinais (A-D, F, G, I, J) e transversais (E, H). A-D, polissacarídeos totais evidenciados pelo ácido periódico e reagente de Schiff (PAS); A, B: glândulas com epiderme secretora fortemente corada, note a secreção extravasada e acumulada no espaço subcuticular (cabeça de seta); C: grãos de amido nas células da epiderme secretora (seta), notar a secreção no exterior. D: glândulas de plantas da floresta com epiderme secretora corada intensamente e contendo grãos de amido em detalhe, note a secreção (seta) em torno das glândulas; E, F: pectinas/mucilagem detectadas pelo Vermelho de Rutênio, note secreção extravasada (seta) e acumulada no espaço subcuticular (cabeça de seta) e drusas (Dr); G,H: Detecção de proteínas usando Ponceau de Xilidina evidenciando as células epidérmicas fortemente coradas, note a secreção extravasada (S) cobrindo um primórdio foliar (Pf); I,J: compostos fenólicos detectados pelo Sulfato ferroso em formalina (SFF); J: note a grande quantidade de idioblastos fenólicos no meristema apical (Ma), primórdio foliar (Pf), na estípula e nas glândulas (círculo); J: compostos fenólicos no eixo central parenquimático das glândulas (setas).