

PRISCILA DE CASTRO RUFINO

**IMPORTÂNCIA TAXONÔMICA E ECOLÓGICA DOS OSMÓFOROS EM
Chamaecrista MOENCH (LEGUMINOSAE)**

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*.

Orientadora: Renata Maria Strozi Alves
Meira

Coorientador: Ítalo Antônio Cotta Coutinho

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

R926i
2022 Rufino, Priscila de Castro, 1994-
Importância taxonômica e ecológica dos osmóforos em
Chamaecrista Moench (Leguminosae) / Priscila de Castro Rufino. -
Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (35 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Renata Maria Strozi Alves Meira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Vegetal, 2022.

Referências bibliográficas: f. 22-29.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.244>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Chamaecrista* - Anatomia. 2. *Chamaecrista* - Floração.
3. Histoquímica. 4. Osmóforos. I. Meira, Renata Maria Strozi Alves,
1964-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Botânica. III. Título.

CDD 22. ed. 583.749

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

PRISCILA DE CASTRO RUFINO

**IMPORTÂNCIA TAXONÔMICA E ECOLÓGICA DOS OSMÓFOROS EM
Chamaecrista MOENCH (LEGUMINOSAE)**

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: 31 de março de 2022.

Assentimento:


Priscila de Castro Rufino
Autora


Renata Maria Strozi Alves Meira
Orientadora

Dedico aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais, Maria Rita e Sebastião pelo amor incondicional, pelos ensinamentos, pelo apoio, incentivo e por acreditar em meu potencial.

A Deus por ser minha força e determinação.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Biologia Vegetal, ao Programa de Pós-graduação em Botânica e ao laboratório de Anatomia Vegetal pela infraestrutura disponibilizada para realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Renata pela orientação, pelos ensinamentos e pela confiança depositada em mim.

Ao professor Ítalo pela coorientação,

À Analu por ser uma amigona, por todos os ensinamentos, pela paciência e por ter sido meu braço direito em vários momentos.

Às técnicas do laboratório Aurora e Rosana por sempre estarem dispostas em me ajudar em tudo que precisei.

A todos pelos momentos de descontração no café e nas comemorações.

A todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista.

Muito obrigada!

RESUMO

RUFINO, Priscila de Castro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2022.
A impotância taxonômica e ecológica dos osmóforos em *Chamaecrista Moench* (Leguminosae). Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira.
Coorientador: Ítalo Antônio Cotta Coutinho.

Apoucouita é uma das seções de *Chamaecrista* Moench (Leguminosae) que, diferencia das outras seções, é caracterizada por reunir espécies de porte arbóreo que ocorrem em florestas tropicais. Adicionalmente, nas anotações das fichas de exsicatas das espécies desta seção, é comum o registro sobre a presença de um odor adocicado perceptível ao olfato humano que é exalado pelas flores. Tricomas secretores, coléteres, nectários, cavidades, canais, idioblastos e osmóforos já foram reportados para representantes de Leguminosae, mas carecem de estudos anatômicos sobre estruturas secretoras florais na seção *Apoucouita*. Objetivando contribuir com informações sobre estruturas secretoras florais em Leguminosae, este trabalho descreveu anatomicamente e histoquimicamente a região responsável pela produção e liberação de odor nas flores de uma espécie da seção *Apoucouita*, *Chamaecrista ensiformis* var *ensiformis* (Vellozo). Espécies pertencentes às outras seções do gênero também foram avaliadas comparativamente. As amostras foram obtidas em coletas de campo e posteriormente processadas conforme metodologias usuais para avaliar a caracterização estrutural das glândulas, bem como a natureza química da secreção produzida. As análises anatômicas juntamente com os resultados dos testes histoquímicos permitiram identificar a epiderme da antera como a região responsável pela produção e liberação do aroma em *C. ensiformis* var *ensiformis* (Vellozo). Nas demais espécies avaliadas não foram reconhecidas regiões secretoras anatomicamente equivalentes. Os dados obtidos contribuíram efetivamente para a inferência da presença de osmóforos somente para a espécie da seção *Apoucouita*.

Palavras-chave: Anatomia. Antera. Histoquímica. Osmóforos.

ABSTRACT

RUFINO, Priscila de Castro, M.Sc., Federal Universidade Federal de Viçosa, March 2022. **The taxonomic and ecological importance of osmophores in Chamaecrista Moench (Leguminosae).** Adviser: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-adviser: Ítalo Antônio Cotta Coutinho.

Apoucouita is one of the sections of *Chamaecrista Moench* (Leguminosae) which, unlike the other sections, is characterized by bringing together species of arboreal size that occur in tropical forests. Additionally, in the notes on the records of exsiccates of the species in this section, it is common to record the presence of a sweet odor perceptible to the human sense of smell that is exhaled by the flowers. Secretory trichomes, colleters, nectaries, cavities, channels, idioblasts and osmophores have already been reported for representatives of Leguminosae, but anatomical studies on floral secretory structures are lacking in the Apoucouita section. Aiming to contribute with information about floral secretory structures in Leguminosae, this work described anatomically and histochemically the region responsible for the production and release of odor in the flowers of a species from the Apoucouita section, *Chamaecrista ensiformis* var *ensiformis* (Vellozo). Species belonging to the other sections of the genus were also comparatively evaluated. The samples were obtained in field collections and later processed according to usual methodologies to evaluate the structural characterization of the glands, as well as the chemical nature of the secretion produced. The anatomical analyzes together with the results of the histochemical tests allowed to identify the anther epidermis as the region responsible for the production and release of the aroma in *C. ensiformis* var *ensiformis* (Vellozo). In the other species evaluated, no anatomically equivalent secretory regions were recognized. The data obtained contributed effectively to the inference of the presence of osmophores only for the species in the Apoucouita section.

Keywords: Anatomy. Anther. Histochemistry. Osmophores.

ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

O presente trabalho encontra-se organizado sob a forma de artigo científico, como disposto nas normas de redação de dissertação da Universidade Federal de Viçosa. A ser enviado ao periódico *Acta Botanica Brasilica*.

Rufino, P. C., Meira, R. M. S. A. & Coutinho, I. A. C.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3. RESULTADOS.....	15
3.1. Análises histoquímicas	16
4. DISCUSSÃO	17
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS.....	22
7.FIGURAS.....	30

1. INTRODUÇÃO

Chamaecrista (L.) Moench pertence à família Leguminosae, subfamília Caesalpinioideae, tribo Cassieae, subtribo Cassiinae (Irwin e Barneby 1982, Azani et al. 2017). Compreende cerca de 330 espécies organizadas em quatro seções (*Apoucouita* (Bentham) Irwin & Barneby, *Absus* (Colladon) Irwin & Barneby, *Baseophyllum* e *Chamaecrista* (Moench)) com base em análises filogenéticas que incluem dados moleculares e morfológicos (Souza, A. O. et al., 2021). As espécies desse gênero são caracterizadas por apresentarem hábitos tipicamente arbustivos e subarbustivos ocorrendo em afloramentos rochosos, em áreas abertas e ensolaradas, há também um grupo de espécies lenhosas que principalmente nas florestas Amazônicas e Mata Atlântica brasileira, reunido na seção *Apoucouita* (Irwin & Barneby, 1982; Lewis 2005; Conceição et al. 2009; Rando et al. 2013).

As estruturas secretoras têm sido consideradas caracteres de importância significativa para classificações taxonômicas para a subfamília Caesalpinioideae s.l. (Irwin & Barneby 1978, 1982; Lersten e Curtis 1993, 1994, 1996; Rudall et al. 1994; Conceição et al. 2008, 2009; Coutinho et al. 2013). Lersten e Curtis 1993, 1994, 1996 sugerem que os idioblastos foliares são de ocorrência limitada em Caesalpinioideae, seu padrão de distribuição combinado com a identificação de seu conteúdo pode ser útil para determinar entidades taxonômicas naturais dentro dessa subfamília. A posição dos idioblastos é um caráter útil para discriminar as oito espécies da subseção. *Baseophyllum* (Coutinho, I. A. C. et al, 2013). A seção *Apoucouita* apresenta diferentes tipos morfológicos de nectários extraflorais (ENFs) para alguns táxons e tem a anatomia e secreção são semelhantes (Coutinho, I. A. C. et al, 2015). A diversidade estrutural de coléter fornece uma importante fonte de novos dados que podem ajudar a esclarecer à taxonomia e filogenia de *Chamaecrista*, na seção *Apoucouita* a presença deles na margem das sépalas são considerados sinapomorfia (Coutinho, I. A. C. et al, 2015).

A secreção produzida pelas estruturas secretoras pode atuar na atração e/ ou recompensa aos polinizadores, assim como em repelir animais em mecanismos de defesa (Fahn, 1979). No caso de atração de polinizadores, diferentes tipos de estruturas florais, como nectários produzindo néctar, osmóforos produzindo aromas e elaióforos produzindo resinas, são responsáveis pela síntese de compostos envolvidos com a polinização da espécie (Vogel 1990; Nilson 1992; Endress 1994;

Teixeira & Machado 2007; Mansano & Teixeira 2008; Marquias et al. 2009; Teixeira & Rocha 2009).

Os osmóforos ocorrem predominantemente em órgãos florais e o odor produzido pode ou não estar intimamente ligado a estratégias de atração de polinizadores (Fahn, 1979; Vogel, 1990; Pansarin, L. M. et al. 2009). O aroma produzido pelos osmóforos são misturas complexas de substâncias lipofílicas, as quais podem ser voláteis (Knudsen et al. 2006, Poser & Mentz 2007). Os osmóforos podem ter epiderme com células ordinárias ou papilosas ou glandular (Ascensão et al. 2005) são classificados quanto à distribuição, podendo ocorrer de forma difusa em uma única estrutura da flor ou em toda a flor e forma restrita em uma região específica de uma estrutura (Vogel 1990).

Em Leguminosae já foi descrita a ocorrência de osmóforos em algumas espécies, como em pétalas de *Exostyles godoyensis* (Soares-Silva & Manzano) e *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze (Mansano & Teixeira 2008, Silva et al. 2011), osmóforos mesofílicos ocorrem em *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg, *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw., *Inga edulis* Mart. e *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. e em *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud., *Hymenaea courbaril* L., *Platycyamus regnellii* Benth., *Poincianella pluviosa* (DC.) L. P. Queiroz com distribuição difusa (Marinho et al. 2012), glândulas nas anteras de espécies da tribo Mimoseae e estruturas presentes na pétalas de *Duparquetia orchidacea* (Baill), as quais podem atuar como osmóforos (Luckow & Grimes 1997, Pires & Freitas 2008, Prenner & Klitgaard 2008).

Leguminosae apresenta dois tipos de polinização por animais, a zoofílica diurna (Cruden & Hermann-Parker 1979, Balestieri & Machado 1998, Falcão & Clament 2000, Bonacina et al. 2008) e a zoofílica noturna (Hopkins 1984, Gibbs et al. 1999, Sazima et al. 1999, Hopkins et al. 2000, Ramírez 2004, Vogel et al. 2005, Moré et al. 2006, Munin et al. 2008). Os polinizadores relatados para a família são himenópteros (Martins & Batalha 2007, Bonacina et al. 2008, Lau et al. 2009), lepidópteros (Cruden & Hermann-Parker 1979, Lau et al. 2009, Cocucci et al. 1992) e mamíferos chiropteros (Gibbs et al. 1999). Então, essa diversidade de polinizadores sugere a presença de estruturas secretoras especializadas nessas interações ecológicas.

Chamaecrista ensiformis var. *ensiformis* apresenta um odor adocicado podendo ser sentido pelo olfato humano, tal característica está listada em fichas de

exsicatas e durante as coletas no campo Ítalo Antônio Cotta Coutinho confirmou que após a antese completa ocorre a exalação de cheiro o que atrai o polinizador possibilitando fecundação das flores.

A ocorrência de estruturas produtoras de aroma ocorre em representantes de diferentes linhagens de Leguminosae, porém não foram encontradas citações para representantes da tribo Cassiieae. Devido à complexidade de estruturas secretoras envolvidas com a síntese e liberação de odores, estudos de tais glândulas são relevantes. Assim, este trabalho teve como objetivos identificar e descrever a estrutura responsável pela produção, exalação e natureza química da fragância floral e compreender a importância taxonômica e ecológica dela nas diferentes seções do gênero *Chamaecrista* Moench.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Chamaecrista ensiformis var. *ensiformis* (Vellozo) é uma espécie arbórea (Fig. 1A), com filotaxia alterna dística, nectários extraflorais nas raques e inflorescências amarelas (Fig. 1B e C).

Flores de todos os estádios de desenvolvimento foram aspiradas para verificar a presença de aromas detectáveis ao olfato humano. Foram selecionados seis estádios de desenvolvimento floral para a avaliação. Estádio 1: botões florais que estavam fechados, apresentando as sépalas seladas e esverdeadas, gineceu incluso (Fig. 1D) e sem cheiro; estágio 2: flores com pétalas abertas e sépalas esverdeadas, gineceu verde e reto, anteras esverdeadas e justapostas e sem cheiro (Fig. 1E); estágio 3: flores com pétalas e sépalas amarelas, gineceu verde e reto, anteras amarelas e mais próximas (Fig. 1F) e cheiro ausente; estágio 5: flores abertas, pétalas amarelo ouro, sépalas amareladas, gineceu variando de amarelado a esverdeado e curvo no ápice, anteras amarelo ouro e distantes entre si (Fig. 1G) e sem cheiro: No estágio 6 às flores completamente abertas, pétalas amarelo ouro, sépalas esverdeadas e amareladas, gineceu amarelado no ápice curvo e ovário esverdeado, anteras amarelo ouro e distantes entre si, tecas com poros abertos e presença de cheiro (Fig. 1H).

Nas expedições em campo, flores inteiras em diferentes estádios de desenvolvimento foram mergulhadas em um recipiente contendo Sudan IV (Pearse, 1972) para evidenciar lipídios e NADI para oleorresina (David & Carde, 1964). As anteras reagiram ao Sudan Black B e ao Nadi, evidenciando-se como estrutura sintetizadora desses compostos como podemos ver na figura. 2B e C e a coloração natural visualizada na figura 2A. Essas informações registradas em campo serviram de base para a coleta das outras espécies e para as análises anatômicas que foram realizadas posteriormente. Sempre que observado visitante floral nas coletas em campo foi efetuado o registro utilizando-se uma câmara do aparelho telefônico iphone XR.

Para caracterização anatômica das anteras, foram utilizadas amostras do estágio 3 e 6 de desenvolvimento. Flores de uma espécie representativa das quatro seções de *Chamaecrista* Moench, foram amostradas, sendo elas *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* (H.S. Irwin) H. S. Irwin & Barneby da seção *Apoucouita*, *C. hispidula* (Vahl) H.S.Irwin & Barneby da seção *Absus*, *C. desvauxii* var. *graminea*

H.S.Irwin & Barneby da seção *Chamaecrista* e *C. debilis* (Vogel) da seção *Baseophyllum*. O material testemunho de todas as coletas foi depositado no Herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa (Tabela 2).

Para o estudo anatômico, as amostras coletadas em campo foram fixadas em FNT (formalina neutra tamponada) e armazenadas em etanol 70% (Jensen, 1962). Com base nos resultados evidenciados pelos testes em campo para detecção de lipídios e óleo/resina. Para caracterização anatômica, as flores foram dissecadas no laboratório para a retirada das anteras, que foram desidratadas em série etílicas e incluídas em resina metacrilato (Historesin Leica Microsystems Nussloch GmbH, Heidelberg, Germany). Seções transversais e longitudinais, com 5µm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). Os cortes foram corados com azul de toluidina pH 4,7 (O' BRIEN et al. 1964, modificado) para caracterização anatômica. Partes das seções foram submetida aos testes listados na tabela 2 para detecção de polissacarídeos neutros, amido, lipídeos, compostos fenólicos e terpenóides. As lâminas permanentes foram montadas em resina sintética Permout (Permout, Fisher Scientific, New Jersey, USA).

Parte das amostras fixadas em FNT (formalina tamponada) foi seccionada transversalmente e longitudinalmente com auxílio do micrótomo de mesa (Modelo LPC Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil). Os cortes foram submetidos aos testes histoquímicos para detecção de lipídeos, terpenos e compostos fenólicos conforme listados na Tabela 3, sendo as lâminas montadas em água ou em gelatina glicerizada imediatamente observadas e as imagens registradas.

As observações e a documentação fotográfica foram realizadas utilizando um microscópio de luz (AX70TRF, Olympus Optical, Japão) equipado com sistema de captura de imagens (AxCam, Zeiss, Alemanha), no laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa - MG.

Tabela 2 - Lista das espécies que foram amostradas, com os respectivos vouchers.

ESPÉCIES – <i>Chamaecrista</i> Moench	VOUCHERS (Col. e herbário VIC*)	
<i>C. ensiformis</i> var <i>ensiformis</i> (Sect. <i>Apoucouita</i>)	Coutinho, I.A.C. et al.	VIC 36982
<i>C. desvauxii</i> var <i>gramínea</i> (Sect. <i>Chamaecrista</i>)	Coutinho, I.A.C. et al.	VIC35690
<i>C. hispidula</i> (Sect. <i>Absus</i>)	Coutinho, I.A.C	VIC 35832
<i>C. debilis</i> (Sect. <i>Baseophyllum</i>)	Coutinho, I.A.C et al.	VIC 35833

*Herbário VIC – Herbário da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG.

Tabela 3 - Testes histoquímicos

Grupo Metabólico	Reagente	Referências
Lipídeos	Sudan Black B	Pearse, 1972
	Sudan IV	Pearse, 1972
Terpenóides	NADI	David & Carde, 1964
Compostos fenólicos	Cloreto férrico III	Johansen, 1940
Polissacarídeos neutros	PAS (Periodic acid Schiff)	O' Brien and McCully 1981
Amido	Lugol	Johansen, 1940

3. RESULTADOS

As flores coletadas em campo, desde o início da antese, no estágio 3 de desenvolvimento (Fig. 2A), reagiram ao sudan IV (Fig. 2B) e ao reagente de NADI (FIG. 2C), evidenciando as anteras como o órgão secretores de compostos lipídicos e terpênicos, respectivamente.

Durante as coletas em campo, foi verificado que as flores de *C. ensiformis* var. *ensiformis* tinham cheiro adocicado perceptível ao olfato humano. O odor foi notado quando as flores estavam em antese no estágio 6 de desenvolvimento, embora compostos lipídicos e terpênicos tenham sido evidenciados a partir do estágio 3 (Fig. 2).

Quanto à caracterização estrutural, foram notadas diferenças anatômicas na epiderme e na região subepidérmica (hipoderme) da antera das quatro espécies analisadas (Fig. 3 e Fig. 4). Em *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis*, representante da secção *Apoucouita*, as células epidérmicas possuem paredes finas, citoplasma denso, núcleo evidente, são mais altas que largas, formando uma paliçada (Fig. 3 A e Fig. 4 A). Nesta espécie, abaixo da epiderme, ocorre uma a duas camadas de células volumosas, que se constituíam em uma hipoderme (Fig. 3 A e Fig. 4 A). As camadas mais internas que delimitam o saco embrionário são formadas por células menores e achatadas (Fig. 4 A). Nas demais espécies avaliadas, as células epidérmicas são cubóides e não foram notadas diferenças entre as camadas internas que delimitam o saco embrionário e a hipoderme (Fig. 3 B - D e Fig. 4 B - D), como em *C. hispidulla* da secção *Absus* (Fig. 3 B e Fig. 4 B), em *C. desvauxii* var. *graminea* da secção *Chamaecrista* (Fig. 3 C e Fig. 4 C) e em *C. debilis* da secção *Baseophyllum* (Fig. 3 D e Fig. 4 D). Nestas espécies, as células abaixo da epiderme são menores, pouco volumosas e células das camadas mais internas que estão em contato com o saco embrionário apresentam citoplasma colapsado (Fig. 3 B – D e Fig. 4 B - D).

C. ensiformis var. *ensiformis* também difere das demais espécies por ter tricomas tectores dispersos em toda a epiderme da antera. Esses tricomas são unicelulares, com extremidade arredondada, citoplasma denso e parede fina (Fig 5. A).

3.1. Análises histoquímicas

Os resultados dos testes aplicados nas diferentes espécies estudadas estão listados na tabela 3. Os polissacarídeos foram visualizados como pequenos grânulos (Fig. 6A) presentes na epiderme e hipoderme de *C. ensiformis var. ensiformis*, *C. hispidula*, *C. desvauxii var. desvauxii* e somente na região subepidérmica de *C. debilis* (Vogel) (Tabela 3).

Compostos fenólicos foram observados no citoplasma das células epidérmicas, (Fig. 6B) e nos tricomas de *C. ensiformis var. ensiformis*. As demais espécies estudadas apresentaram a epiderme e na hipoderme positivo para compostos fenólicos (tabela 3).

Chamaecrista ensiformis var. ensiformis foi a única espécie que testou positivo aos testes de Sudan black B para compostos lipídicos (Fig. 6C) e ao Nadi para terpênicos e oleoresinas (Fig. 6). Pequenas gotas de composto lipídico (Fig. 6 C) foram visualizadas na epiderme e na hipoderme e dos diferentes estádios da antese, porém a reação foi mais evidente no estágio 6 (Fig. 6 C). Observou-se gotículas de compostos terpênicos na epiderme e hipoderme com coloração azul e violeta (Fig. 6 D-F) e um conteúdo de coloração violeta extravasado (Fig. 6F). No corte que não foi submetido ao reagente (branco), nota-se a coloração alaranjada típica de compostos fenólicos apenas nas células da epiderme e nas camadas internas da antera (Fig. 6G).

Tabela 3 – Testes histoquímicos

TESTES HISTOQUÍMICOS - Antera								
	Cloreto Férrico III		PAS		Sudan Black B		NADI	
ESPÉCIES	Epiderme	Hipoderme	Epiderme	Hipoderme	Epiderme	Hipoderme	Epiderme	Hipoderme
<i>C. ensiformis var. ensiformis</i>	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>C. hispidula</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>C. desvauxii var. graminea</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>C. debilis</i>	+	+	-	+	-	-	-	-

4. DISCUSSÃO

Os resultados anatômicos (epiderme em paliçada, células da epiderme e hipoderme com citoplasma denso, paredes delgadas, núcleo proeminente) e histoquímicos (detecção de óleos-resina e lipídeos) permitem reconhecer a superfície da antera como a região que corresponde ao osmóforo de *C. ensiformis* var. *ensiformis*. Pois, essas características observadas estão de acordo com o que Vogel (1990), que considera como caracteres de células com alta atividade metabólica, características essas que são típicas de estruturas secretoras. Como também observados em espécies do gênero *Bulbophyllum* de Orchidaceae e em espécies de Areceae, famílias que possuem maioria dos estudos já realizados sobre osmóforos (Teixeira et al., 2014; Gonçalves – Souza et al., 2017; Paiva, E. A. S. et al., 2019).

Chamaecrista ensiformis var. *ensiformis* foi a única espécie que apresentou anteras que sintetizam compostos lipídicos e terpênicos, sendo essa estrutura identificado como responsável pela secreção do odor adocicado perceptível ao olfato humano relatado para a espécie. Esta estrutura pode ser classificada como osmóforo do tipo difuso, segundo Vogel (1990) ocorre em toda extensão da epiderme da antera. Esse dado amplia o conhecimento sobre a presença de estruturas de odor na família Fabaceae. O perianto foi apontado como o principal local responsável pela produção de odor em Leguminosae, podendo os osmóforos ter localização difusa ou restrita (Marinho 2011). Foi sugerido que as glândulas de cheiro provavelmente são restritas em espécies com polinização zoofílica (Marinho et al. 2012). Mas nem toda espécie zoofílica de Leguminosae apresenta glândula de cheiro, como verificado no presente trabalho que evidenciou osmóforos apenas na linhagem de *Chamaecrista* Moench que tem predominantemente o hábito arbóreo e que ocorrem em ambiente florestal.

A detecção de óleo essencial na secreção produzida pelos osmóforos de *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* é mais um registro sobre a natureza terpênica da secreção das glândulas de cheiro em Leguminosae que são polinizadas por abelhas, borboletas e mariposas, sendo Apidae a família mais responsável pela visitação em *C. debilis*. (Knudsen & Tollsten 1993; Dudareva & Pichersky 2006; Nascimento & Del - Claro, 2007). Durante as coletas em campo, foram observadas abelhas visitando as flores de *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis*, típicas de

anteras poricidas, afirmando o que Buchmann & Hurley 1978 já havia observado em *C. debilis* e Loparta, 2005 afirmou que Cassinae apresenta essa característica para maioria de suas espécies. Tais anteras liberam os grãos de pólen através de poros terminais pela ação da vibração realizada pelas abelhas (Thorp e Estes, 1975; Fenster 1995). *C. ensiformis* var. *ensiformis* não apresenta nectário floral, mas possuem nectários extraflorais nos pecíolos e raquis e são responsáveis por atrair formigas que atuam na proteção da planta impedindo ação de insetos herbívoros (Kelly, 1986; Coutinho & Meira, 2015). Entretanto, *C. ensiformis* var. *ensiformis* produz grãos de pólen em abundância o que garante a atração dos agentes polinizadores. Campbell et al, 2018 afirma que a presença de pólen em grande quantidade atraem diferentes espécies de abelhas polinizadoras. Os osmóforos juntamente com néctar são considerados os grandes responsáveis por manter a relação planta – polinizador (Melo, M. C. et al. 2010) e o odor é responsável pela atração de polinizadores a longa distância (Pector et al. 1996). Podemos sugerir que em *C. ensiformis* var. *ensiformis* a presença de osmóforos nas anteras tem essa função de atrair polinizadores a longa distância, pois as inflorescências não ficam totalmente expostas nas copas das árvores, o que a diferem das espécies das outras seções do gênero.

Na região subepidérmica de *C. ensiformis* var. *ensiformis* a primeira camada de célula se diferencia em relação às demais camadas, são células cubóides, volumosas, com citoplasma conteúdo denso, paredes finas características essas conferem uma região possível secretora reafirmando caracteres considerados presentes em células com grande atividade metabólica (Vogel 1990). Já as demais camadas de células são todas iguais, são cubóides, aproximadamente isodiamétricas, possuem citoplasma denso, paredes finas, volumosas, formando assim uma região subepidérmica heterogênea. Entretanto, as espécies pertencentes às outras seções possuem a região subepidérmica mais homogênea quanto ao formato das células. Podemos inferir que as células que compõem a camada diferenciada da região subepidérmica de *C. ensiformis* var. *ensiformis* pode está intimamente ligada à síntese de aroma, pois ela tem características visuais de células metabolicamente ativas. A hipoderme parece não participar da nutrição das células das mães de micrósporos. Entretanto, precisamos de análises mais detalhadas para averiguar qual o envolvimento da hipoderme com o processo secretor do odor adocicado.

A presença de amido nos tecidos subjacentes à região secretora é uma característica comum nos osmóforos, o amido é utilizado como fonte de carbono, energia para produção de substâncias voláteis (Vogel 1990). Entretanto, a região identificada como região osmogênica na espécie *C. ensiformis var ensiformis* não apresenta essa característica, o que foi comprovado a partir do teste com o reagente lugol (Johansen, 1940). A presença de polissacarídeos foi confirmada pelo teste de PAS nas células epidérmicas e subepidérmicas de *C. ensiformis var ensiformis* e é um indício que possa ser fonte de energia para metabolização dos compostos voláteis, com base na informação que polissacarídeos podem ser usados como fonte de carbono para síntese desses compostos (Vogel 1990), ainda que, as espécies *C. desvauxii var gramínea* e *C. hispidulla* também tiveram o mesmo resultado ao teste de PAS e *C. debilis* somente a hipoderme testou positivo. Podemos propor que o polissacarídeo encontrados nas quatro espécies estudadas podem ser usados como energia tanto para produção de odor na espécie de *Apoucouita*, como também usado para nutrição e de energia para as células mães de micrósporos e para os grãos de pólen em si.

Os compostos fenólicos ocorrem nas Leguminosae e estão frequentemente relacionados à defesa das plantas (Haslam 2007; Judd et al 2009). Em todas as espécies estudadas foi identificada na epiderme da antera e na região subepidérmica ocorrência de compostos fenólicos. No entanto, em Apocynaceae conforme observado por e discutido por Vogel 1983 a liberação de proteínas e fenóis pode conferir odor fétido, Portanto, (Marinho et al, 2012) propõe a possibilidade dessa característica ser a responsável pela fragrância em *Bauhinia rufa*, *Hymenaea courbaril*, *Caesalpinia pulcherrima* e *Inga edulis*. Contudo, *C. ensiformis var. ensiformis* exala fragrância adocicada, ou seja, os compostos fenólicos não estão diretamente relacionados ao odor produzido por essa espécie, mas pode está envolvido na proteção contra infecções por patógenos e / ou ataques de herbívoros. Pois, os compostos fenólicos atuam como substâncias antibacterianas, fungitóxicas e antiviróticas (Lo & Nicholson, 2008) e podem está associado a mecanismos bioquímicos e estruturais de resistência em plantas (Nicholson & Hammerschmidt, 1992; Nicholson, 1995).

Lipídeos são encontrados em osmóforos de muitas espécies de orquídeas e são considerados elementos para produção da fragrância (Swanson et al. 1980; Pridgeon, Stern 1983; Curry et al. 1998). Nas anteras de *C. ensiformis var.*

ensiformis (Vellozo) conteúdo lipídico foi detectado pelo Sudan Black B nas células epidérmicas e na hipoderme da antera e ausente nas demais espécies estudadas. Portanto, sugerimos que as gotas de lipídeos dispersas no citoplasma das células epidérmicas e hipodérmicas da antera de *C. ensiformis var. ensiformis* visualizadas através de análises em microscopia de luz podem estar intimamente relacionadas a produção de odor. Pridgeon & Stern (1983), afirma que no período da antese à pós-antese, gotículas de lipídeos estão presentes no citoplasma e vacúolos das células podem ser contraparte da fragrância sintetizada. Supõe-se que terpenos se acumulam em forma de gotículas no citoplasma ou em plastídeos (Kisser 1958; Schnepf 1969 a). Essa substância lipofílica pode ser precursora dos óleos essenciais e oleoresinas presentes em *C. ensiformis var. ensiformis* no período de pré-antese e durante a antese, pois tais substâncias podem por difusão serem exaladas. Schnepf (1969a) e Vogel (1966) afirmam que gotículas de terpenos na forma de mono ou paucimolecular conseguem passar pelo plasmalema e pela parede celular e volatilizar em temperaturas adequadas. Devido ao fato não sido identificado em *C. ensiformis var. ensiformis* amido de reserva podemos inferir que o composto lipídico também pode atuar como fonte de reserva energética juntamente com os polissacarídeos neutros que foram identificado, conforme Pridgeon & Stern (1983) afirma que os ácidos graxos e amidos podem ser utilizados como fonte de energia para formação de anéis na síntese de amina e terpenos insaturados que volatilizam.

Os terpenos são o grupo mais comum de substâncias químicas na composição dos aromas florais (Simons 2007). Além dos compostos terpênicos, compostos benzenóides, alifáticos, fenilpropanóides, nitrogenados e enxofre podem ser exalados (Dudareva & Picchersky 2006; Knudsen et al., 2006). Os óleos essenciais, resinas, mucilagens, polissacarídeos, sais minerais e substâncias lipofílicas foram observadas em células epidérmicas secretoras (Buvat 1989). A região epidérmica e hipodérmica coradas de azul afirmando a presença da mistura de óleos essenciais mais oleoresinas coradas de violeta na subepiderme e região próxima ao conectivo da antera de *C. ensiformis var. ensiformis* nos permite propor que essas substâncias lipofílicas são de fato o que distingue a espécie de Apoucouita das outras seções.

Quanto ao modo de liberação da fragrância pelas flores de *C. ensiformis var. ensiformis*, podemos considerar que é necessário a realização de estudos mais detalhados, sugerimos exalação seja por difusão por através da cutícula, porque não

visualizamos nenhum poro ao longo da mesma como já foi observados em espécies dos gêneros *Restripella* e *Restrepia* pertencentes a Orchidaceae (Pridgeon & Stern 1983). Contudo, já é descrito para espécies de *Stanhopea* que a cutícula não impede a exalação do odor por difusão e sem causar ruptura da cutícula (Stern et al. 1987; Davies et al. 2003) e também em algumas espécies de *Scaphosepalum* ambos gêneros de Orchidaceae (Pridgeon & Stern 1985). Além disso, os compostos voláteis possuem baixo peso molecular (Du dareva & Pichersky 2006), o que permite se difundirem pelas microfibrilas da parede celular. Portanto, o uso da microscopia eletrônica de transmissão seria importante para que possamos ter certeza sobre o mecanismo utilizado por esse organismo.

As análises realizadas trouxeram informações importantes para taxonomia do gênero *Chamaecrista* (Moench). A seção *Apoucouita* difere das demais seções por exemplo, por ter hábito arbóreo, coléteres, nectários extraflorais dentre outras características. A presença de osmóforos nas anteras da espécie estudada reafirma que a presença de estruturas secretoras como um carácter taxonômico significativo para as classificações taxonômicas da subfamília Caesalpinioideae, pois corroboram a diferenciação e identificação de espécies.

5. CONCLUSÃO

A presença de osmóforo nas anteras de *C. ensiformis var ensiformis* (Vellozo), é relevante do ponto de vista taxonômico e ecológico para seção *Apoucouita*, pois é mais um dos caracteres que a diferencia das demais seções do gênero. O nosso estudo trouxe uma nova descoberta para o gênero, pois ainda não havia sido descrita a ocorrência de glândulas de cheiro para tal.

6. REFERÊNCIAS

- Azani, N. et al. 2017 A new subfamily classification of the leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, v. 66, n. 1, p. 44–77.
- Balestieri F.C.L.M., Machado V.L.L. 1998. Entomofauna visitante de sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth) (Leguminosae) durante o seu período de floração. *Revista Brasileira de Entomologia* 41: 547–554.
- Bonacina A.K.B., Netto J.C., Junior V.V.A. 2008. Relações entre abelhas (*Hymenoptera, Apoidea*) na exploração de recursos naturais em uma área de Cerrado em Dourados (MS). *Revista Brasileira de Agroecologia* 3: 71–74.
- Buchmann, S.L. & Hurley, J.P. 1978. Um modelo biofísico para polinização por zumbido em angiospermas. *J. Theor. Biol.* 72: 639-657.
- Buvat R. 1989, In : « Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants, Springer Verlag, Berlin », 482.
- Campbell, J. H. et al. 2018. Bee Contribution to Partridge Pea (*Chamaecrista fasciculata*) Pollination in Florida. *The american midland naturalist*.179:86–93
- Cocucci A.A., Galetto L., Sersic A. 1992 El síndrome floral de *Caesalpinia gilliesii* (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Darwiniana* 31: 111–135.
- Conceição, A.S., L.P. Queiroz, S.M. Lambert, A.C.S. Pereira, Borba, E.L. 2008. Biosystematics of *Chamaecrista* sect. *Absus* subsect. *Baseophyllum* (Leguminosae Caesalpinioideae) based on allozyme and morphometric analyses. *Plant Systematics and Evolution* 270: 183–207.

- Conceição, A.S., L.P. Queiroz, G.P. Lewis, M.J.G. de Andrade, P.R.M. de Almeida, A.S.Schnadelbach, C. van den Berg. 2009. Phylogeny of *Chamaecrista* Moench (Leguminosae-Caesalpinioideae) based on nuclear and chloroplast DNA regions. *Taxon* 58: 1168–1180.
- Coutinho, Í.A.C., D.M.T. Francino, Meira R.M.S.A. 2013. Leaf anatomical studies of *Chamaecrista* subsect. *Baseophyllum* (Leguminosae, Caesalpinioideae): new evidence for the up-ranking of the varieties to the species level. *Plant Systematics and Evolution* 299: 1709–1720.
- Coutinho I.A.C., Francino D.M.T., Meira R.M.S.A. 2015. New records of colleters in *Chamaecrista* (Leguminosae, Caesalpinioideae S.L.): structural diversity, secretion, functional role, and taxonomic importance. *International Journal of Plant Sciences* 176: 72-85.
- Curry, K. J. 1987. Initiation of terpenoid synthesis in osmophores of *Stanhopea anfracta* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 74: 1332-1338.
- Cruden, R.W., Hermann-Parker S.M. 1979. Butterfly pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with observation of psychophilous syndrome. *Journal of Ecology* 67: 155–168.
- David R, Carde JP. 1964. Coloration différentiel des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris. Série D* 258: 1338–1340.
- Davies KL, Turner MP, Gregg A. (2003) Lipoidal secreções labelares em *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 91, 439-446.
- De Souza, A. O.; Lewis, G. P.; Da Silva, M. J. A new infrageneric classification of the pantropical genus *Chamaecrista* (Fabaceae: Caesalpinioideae) based on a comprehensive molecular phylogenetic analysis and morphology . *Botanical Journal of the Linnean Society*, p. 1–46, 2021.
- Dudareva N., Pichersky E. 2006. *Biology of Floral Scent*. Boca Raton: Taylor & Francis Group.

- Endress P.K. 1994. Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers, 1st edn. Cambridge University Press, Cambridge.
- Falcão M.A., Clement C.R. 2000. Fenologia e produtividade do ingá-cipó (*Inga edulis*) na Amazônia Central. Acta Amazonica 30: 173–180.
- Fahn, A. 1979. Secretory Tissues in Plants. Academic Press, London.
- Fenster, C. B. 1995. Flores espelhadas e seu efeito na taxa de cruzamento em *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). Sou. J. Bot., 82:46-50.
- Fisher, D.B. 1968. Protein staining of ribbonedepon sections for light microscopy. Histochemie 16: 92-96.
- Gibbs P.E., Oliveira P.E., Bianchi M.B. 1999 Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae – Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. International Journal of Plant Sciences 160: 72–78.
- Gonçalves-Souza P, et al. 2017. Desvendando os osmóforos de *Philodendron adamantinum* (Araceae) como meio para entender as interações com polinizadores. Ann Bot 119:533–543.
- Haslam E. 2007. Vegetable tannins – lessons of a phytochemical lifetime. Phytochemistry, 68, 2713–2721.
- Hopkins H.C. 1984. Floral biology and pollination ecology of the Neotropical species of *Parkia*. Journal of Ecology 72: 1–23.
- Hopkins M.J.G., Hopkins H.C.F., Sothers C.A. 2000. Nocturnal pollination of *Parkia velutina* by Megalopta bees in Amazonia and its possible significance in the evolution of chiropterophily. Journal of Tropical Ecology 16: 733–746.
- Irwin HS, Rogers DJ (1967) Monographic studies in *Cassia* (Leguminosae: Caesalpinioideae). II. Taximetric study of sections *Apoucouita*. Mem New York Bot Gard 16:71-118.
- Irwin HS, Barneby RC. 1978. Monographic studies in *Cassia* (Leguminosae: Caesalpinioideae). IV. Supplementary notes on section *Apoucouita* Benth. Brittonia 29: 277-290.
- Irwin, H.S Barneby R.C. 1982. The American Cassiinae: A synoptical revision of Leguminosae tribe Cassieae subtribe Cassiinae in the New World. Memoirs of the New York Botanical Garden 35: 1–918.

- Jesen, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco: W.H. Freeman and Company. 408 p.
- Johansen DA, 'Plant microtechnique.' McGraw-Hill Books: New York, 1940.
- Joshua W. Campbell, John H. Irvin e James D. Ellis. 2018. Contribuição das abelhas para a polinização da ervilha perdiz (*Chamaecrista fasciculata*) na Flórida. *The American Midland Naturalist*, 179(1):86-93.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F., Donoghue M.J. 2009. *Plants systematics: A Phylogenetic Approach*, 3rd edition. Sinauer Associates, MA, USA.
- Karnovsky, M.J.A. 1965. Formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: p. 137-138.
- Kirk Jr P.W. 1970. Neutral red as a lipid fluorochrome. *Stain Technology* 45: 1-4.
- Kisser, J. G. 1958. Die Ausscheidung von atherischen Olen und Harzen. *In* W. Ruhland [ed.], *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, pp. 91-131, Bd. 10. SpringerVerlag, Berlin.
- Knudsen J.T., Eriksson R., Gershenzon J., Ståhl B. 2006. Diversity and distribution of floral scent. *The Botanical Review* 72: 1-120.
- Knudsen J.T., Tollsten L. 1993. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 113, 263–284.
- Laporta, C. 2005. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Senna corymbosa enantióstilo* (Caesalpinaceae). *Rev. Biol. Tropa* 53: 49-61.
- Lau C.P.Y., Saunders R.M.K., Ramsden L. 2009. Floral biology, breeding systems and population genetic structure of three climbing *Bauhinia* species (Leguminosae: Caesalpinioideae) in Hong Kong, China. *Journal of Tropical Ecology* 25: 147–159.
- Lersten, N. R. Curtis, J. D. 1993. Subepidermal Idioblasts in Leaflets of *Caesalpinia pulcherrima* and *Parkinsonia aculeata* (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, v. 120, n. 3, p. 319.
- Lewis, G. 2005. Tribe Cassieae. *In* G. Lewis, B. Schrire, B. Mackinder, and M. Lock [eds.], *Legumes of the World*, 111–161. Royal Botanic Gardens, Kew.

- Lo, C. S. C & Nicholson, R. L. 2008. Phenolic compounds and their importance in plant disease. In *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions*, p. 285-303. FEALQ: Sao Paulo.
- Luckow M., Grimes J. 1997. A survey of anther glands in the mimosoid legume tribes Parkieae and Mimoseae. *American Journal of Botany* 84: 285–297.
- Martins, F. K., Batalha, M. A. 2007. Vertical and Horizontal Distribution of Pollination Systems in Cerrado Fragments of Central Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Vol.50, n. 3 : pp.503-514.
- Mansano V.F., Teixeira S.P. 2008. Floral anatomy of the Lecointea clade (Leguminosae, Papilionoideae, Swartzieae sensu lato). *Plant Systematics and Evolution* 273: 201–209.
- Marinho, C. R. et al. 2012. Scent glands in legume flowers. *Plant Biology* , German Botanical Society and The Royal Botanical Society of the Netherlands. 16: 215 - 226.
- Marquiafavel F.S., Ferreira M.D.S.Teixeira S.P. 2009. Novel reports of glands in Neotropical species of *Indigo fera* L. (Leguminosae, Papilionoideae). *Flora* 204: 189–197.
- Melo, M. C; Borba, E. L; Paiva, E.A.S. 2010. Morphological and histological characterization of the osmophores and nectaries of four species of *Acianthera* (Orchidaceae: Pleurothallidinae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 286, p. 141-151.
- Moré M., Sérsic A.N., Cocucci A.A. 2006. Specialized use of pollen vectors by *Caesalpinia gilliesii*, a legume species with brush-type flowers. *Biological Journal of the Linnaean Society* 88: 579–592.
- Munin R.L., Teixeira R.C., Sigrist M.R. 2008. Esfingofilia e sistema de reprodução de *Bauhinia curvula* Benth. (Leguminosae: Caesalpinioideae) em cerrado no Centro-Oeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica* 31: 15–25.
- Nascimento, E. A. do, Del-Claro, K. 2007. Visitantes florais de *Chamaecrista debilis* (Vogel) Irwin & Barneby (Fabaceae - Caesalpinioideae) no Cerrado da Estação Ecológica. *Entomologia Neotropical* 36(4):619-624.

- Nicholson, R. L. Events in resistance expression in maize and sorghum: Molecular and biochemical perspectives. *Summa Phytopathologica*. v.21, p.95-99, 1995.
- Nicholson, R. L.; Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopatology*. v.30, p.369-389.
- Nilsson L.A. 1992. Orchid Pollination Biology. *Trends in Ecology and Evolution* 7: 255–259.
- O'Brien T.P, Feder N, McCully M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 367-373.
- Paiva, E. S.; Dötterl, S. ; De-Paula, O. C.; Schlindwein, C. ; Souto, L. S. ; Vitarelli, N. C. ; Da Silva, C. I. ; Mateus, S. ; Alves-do-Santos, I. ; Oliveira, D. M. T. 2019. Osmophores of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): a particular structure of the androecium that releases an unusual scent. *Protoplasma*, v. 256, p. 971-981.
- Pansarin, L.M. et al. 2009. Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 159, 408–415.
- Pires J.P.A., Freitas L. 2008. Reproductive biology of two tree species of Leguminosae in a Montane Rain Forest in southeastern Brazil. *Flora* 203: 491–498.
- Poser G.L., Mentz L.A. 2007. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: Simões C.M.O., Schenkel E.P., Gosmann G., Mello J.C.P., Mentz L.A., Petrovick P.R. (Eds.), *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 6th ed. Porto Alegre: Editora UFRGS/ Florianópolis: Editora da UFSC. Pp. 75–89.
- Prenner G., Klitgaard B.B. 2008. Towards unlocking the deep nodes of Leguminosae: floral development and morphology of the enigmatic Duparquetia orchidacea (Leguminosae, Caesalpinioideae). *American Journal of Botany* 95: 1349–1365.
- Pridgeon A.M., Stern W.L. 1983. Ultrastructure of osmophores in (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 70: 1233–1243
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996. The natural history of pollination. Orgeon: Timber Press
- Rando, J.G., B. Loeuille, Pirani J.R. 2013. Taxonomic novelties in *Chamaecrista* (Leguminosae: Caesalpinioideae) from Brazil. *Phytotaxa* 97: 17–25.

- Ramírez N. 2004. Ecology of pollination in a tropical Venezuelan savanna. *Plant Ecology* 173: 171–189.
- Rudall, P. J.; Myers, G.; Lewis, G. P. 1994. Floral secretory structures in *Caesalpinia* sensu lato and related genera. *Advances in Legume Systematics* 6, v. 6, n. January, p. 41–52.
- Sazima M., Buzato S., Sazima I. 1999. Bat-pollinated flower assemblages and bat visitors at two Atlantic Forest sites in Brazil. *Annals of Botany* 83: 705–712.
- Schnepf, E. 1969. Gland cells. In A. W. Robards [ed.], *Dynamic aspects of plant ultrastructure*, 331–357. McGraw-Hill, New York.
- Silva L.A., Guimarães E., Rossi M.N., Maimoni-Rodella R.C.S. 2011. Biologia da reprodução de *Mimosa bimucronata*– uma espécie ruderal. *Planta Daninha* 29: 1011– 1021.
- Souza, A. O. et al. 2021. A new infrageneric classification of the pantropical genus *Chamaecrista* (Fabaceae: Caesalpinioideae) based on a comprehensive molecular phylogenetic analysis and morphology. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **XX**, 1–46.
- Stern, W. L. & Pridgeon, A. M. 1983. Ultrastructure of osmophores in *restrepia* (orchidaceae). *American Journal of Botany*. 70(8): 1233-1243.
- Stern, W. L., Curry, K. J., Pridgeon, A. M. (1987). Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 74(9), 1323-1331.
- Swanson, E. S., w. P. Cunningham, and r. T. Holman. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. Reginae* (orchidaceae). *American Journal of Botany*. 67: 784-789.
- Teixeira S.P., Machado S.R. 2007. Glandular dots of *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae): distribution, structure and ultrastructure. *Journal of the Torrey Botanical Society* 134: 135–143.
- Teixeira S.P., Rocha J.F. 2009. Oil glands in the Neotropical genus *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). *Revista Brasileira de Botânica* 32: 57–64.

- Thorp, R. W. & Estes, J.R. 1975. Comportamento intrafloral de abelhas em flores de *Cassia fasciculata*. J. Kans. Entomol. Soc., 48:175-184.
- Vogel S., Lopes A.V., Machado I.C. 2005. Bat pollination in the NE Brazilian endemic *Mimosa lewisii* Barneby: an unusual case and first report for the genus. Taxon 54: 693 – 700.
- Vogel S. 1990. The Role of Scent Glands in Pollination, 1st edn. Smithsonian Institution, Washington, D.C, USA.

7. FIGURAS

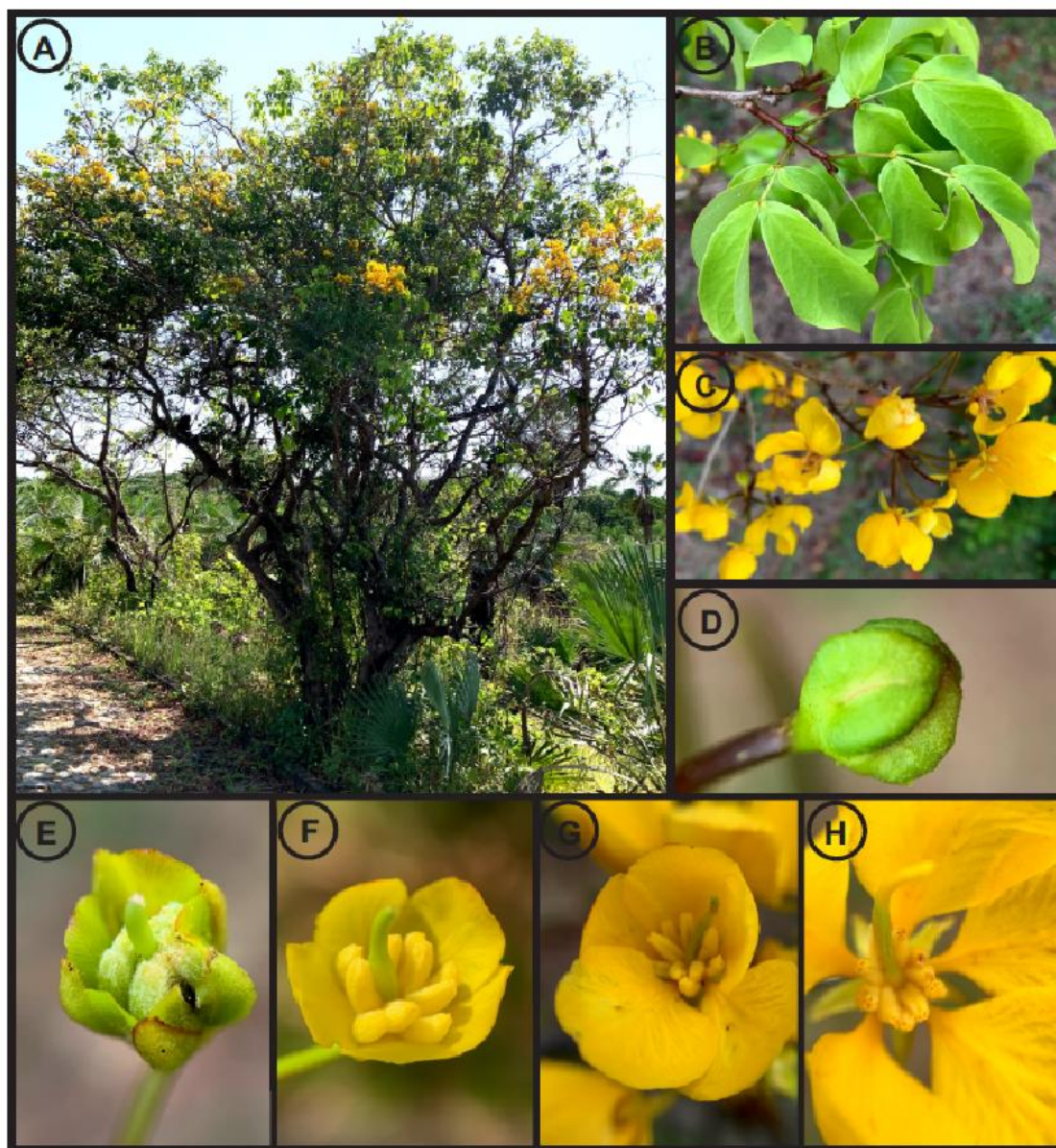


Figura 1. Detalhes de um indivíduo de *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* observado em campo. A- Indivíduo adulto evidenciando o porte arbóreo da espécie, B- Folhas- filotaxia alternada, C- Inflorescência, D- Botão floral no estágio 1, note as sépalas esverdeadas encerrando as pétalas, gineceu e androceu, sem cheiro perceptível, E- Flores em Estádio 2 quando o botão começa a abrir, as pétalas e sépalas são esverdeadas, gineceu verde e reto, anteras esverdeadas e justapostas e sem cheiro perceptível, F- Flores em Estádio 3 quando começam a abrir, pétalas e sépalas são amareladas, gineceu verde e reto, anteras amarelas e sem cheiro perceptível), G- Flores em Estádio 5 iniciando a antese, pétalas amarelo ouro, sépalas amareladas, gineceu variando de amarelado a esverdeado e curvo no ápice, anteras amarelo ouro e distantes entre si e sem cheiro perceptível), H- Flores em antese (estádio 6), completamente abertas, pétalas amarelo ouro, sépalas esverdeadas e amareladas, gineceu amarelado no ápice curvo e ovário esverdeado, anteras amarelo ouro e distantes entre si, tecas com poros abertos e presença de cheiro.

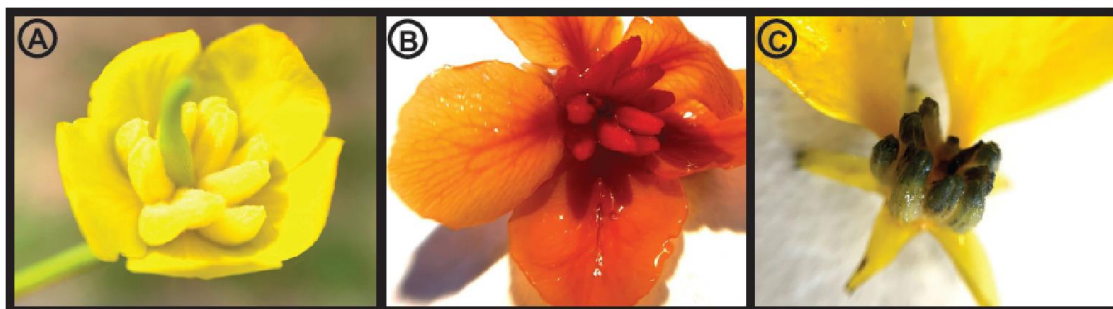


Figura 2. Detalhe das flores de *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* (estádio 3) coletadas em campo e submetidas a reagentes para detecção de compostos lipídicos. A- flor em coloração natural não submetida aos reagentes, B- flor mergulhada em um frasco contendo e Sudan Red IV, reagente que detecta lipídeos pela coloração vermelho intenso, C- flor mergulhada em um frasco contendo o reagente de NADI que detecta óleo-resina pela coloração azul. Note a reação intensa aos reagentes na região das anteras.

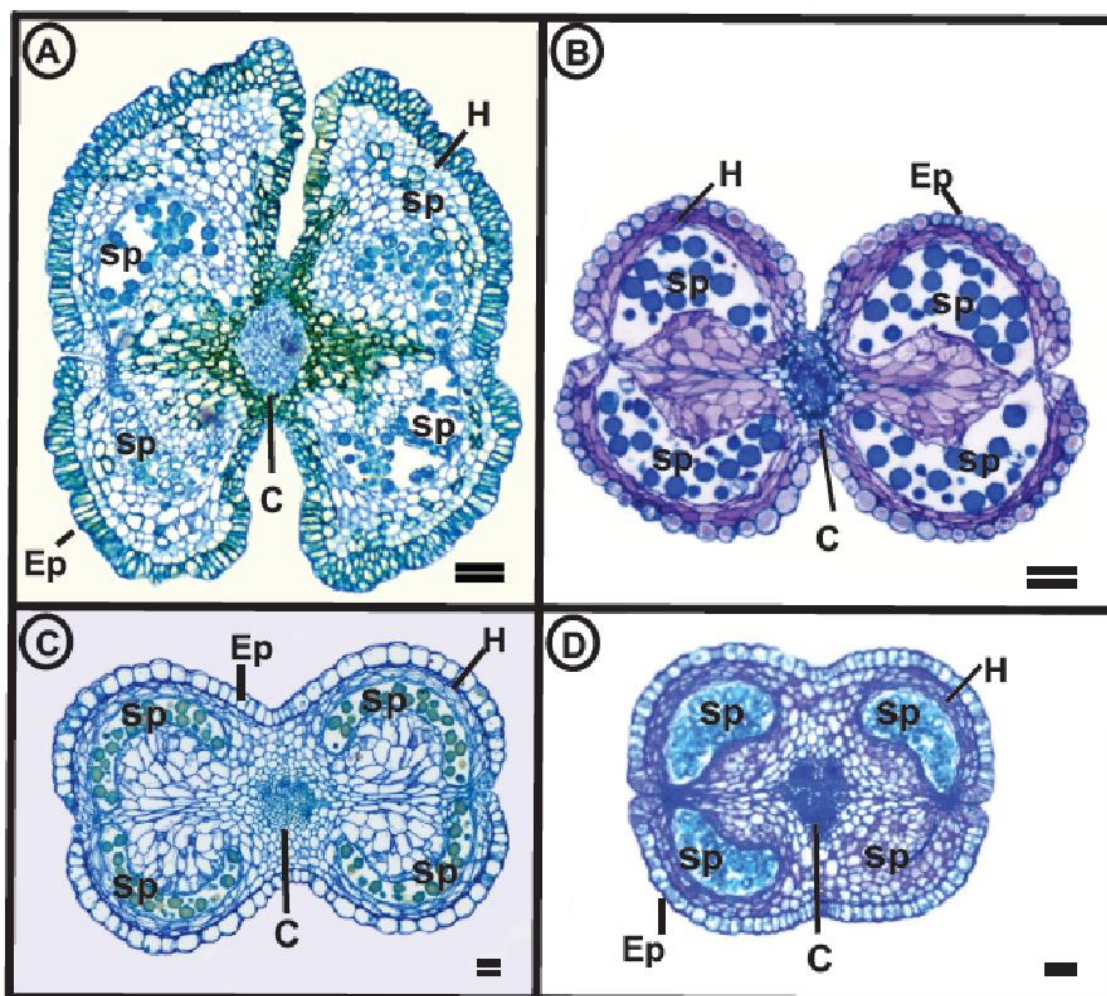


Figura 3. Detalhe da antera visualizadas em cortes transversais corados com azul de toluidina em pH ácido. A- Corte transversal da antera de *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* da sec. Apoucouita mostrando os sacos polínicos com os grãos de pólen e o conectivo. B- Corte transversal de *C. hispidulla* da sec. Absus mostrando os sacos polínicos com os grãos de pólen e o conectivo. C- Corte transversal da antera de *C. desvauxii* var. *graminea* sec. Chamaecrista mostrando os sacos polínicos com grãos de pólen e D- Corte transversal da antera *C. debilis* da sec. Baseophyllum mostrando os sacos polínicos e os grãos de pólen. Abreviações: Ep= Epiderme, H= Hipoderme, Sp= Saco polínico e C= Conectivo. Barras: 50 μ m.

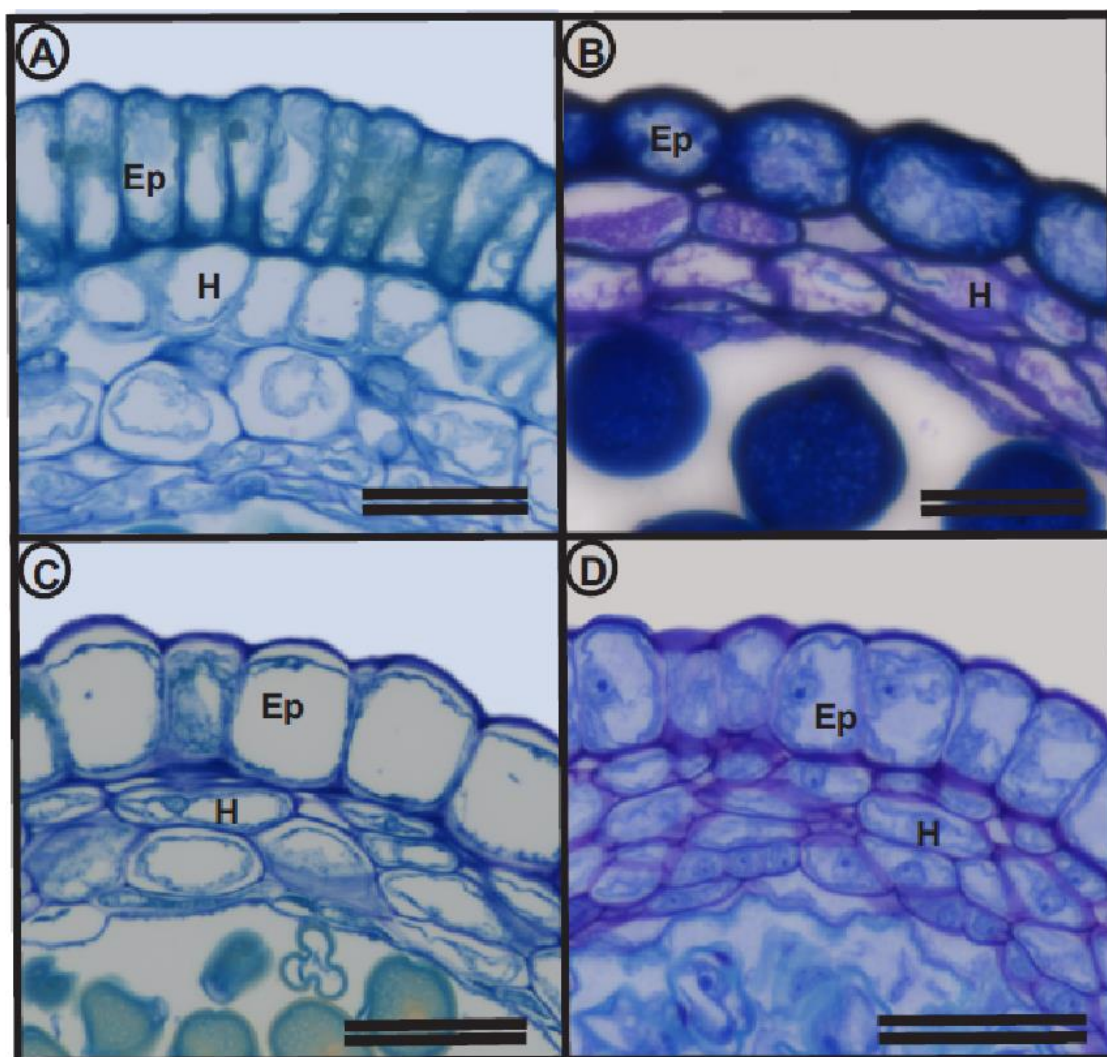


Figura 4. Detalhe da antera visualizadas em cortes transversais corados com azul de toluidina em pH ácido. A- Corte transversal da antera de *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* epiderme paliçada, com células de citoplasma denso e hipoderme formada por células volumosas que diferem das camadas mais internas cujas células encontram-se achatadas e colapsadas em *Chamaecrista ensiformis* var. *ensiformis* da sect. Apoucouita, B,D-F - As células da epiderme apresentam formato cubóide, citoplasma vacuolizado; a células da hipoderme não são volumosas e mantém contato direto com o saco polínico em *C. hispidula* da sect. Absus (B), em *C. desvauxii* var. *graminea* da sect. Chamaecrista (E) e em *C. debilis* da sect. Baseophyllum (F). Abreviações: Ep= epiderme, H= hipoderme, Sp= Saco polínico, C= conectivo. Barras: 50 µm.

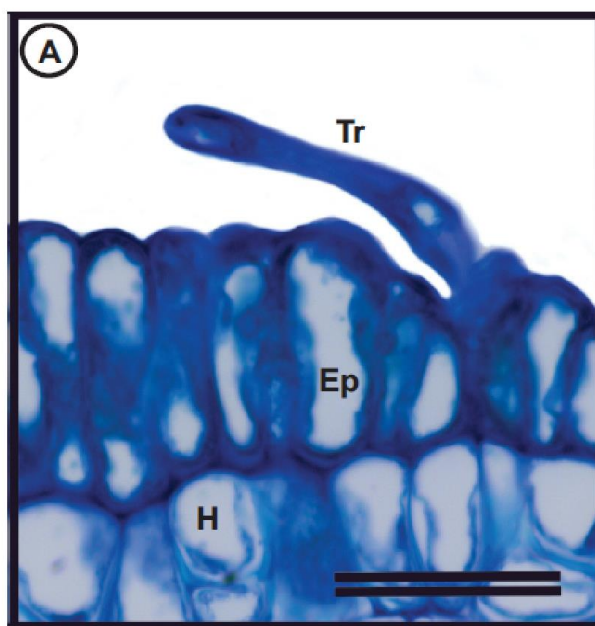


Figura 5. Descrição da eantera de *C. ensiformis* var. *ensiformis* visualizada em corte corado com azul de toluidina. A- Epiderme paliçada, células com citoplasma denso e tricoma tector unicelular com citoplasma denso. Abreviações: Ep= epiderme, H= hipoderme, Tr=tricoma. Barras: 50μm

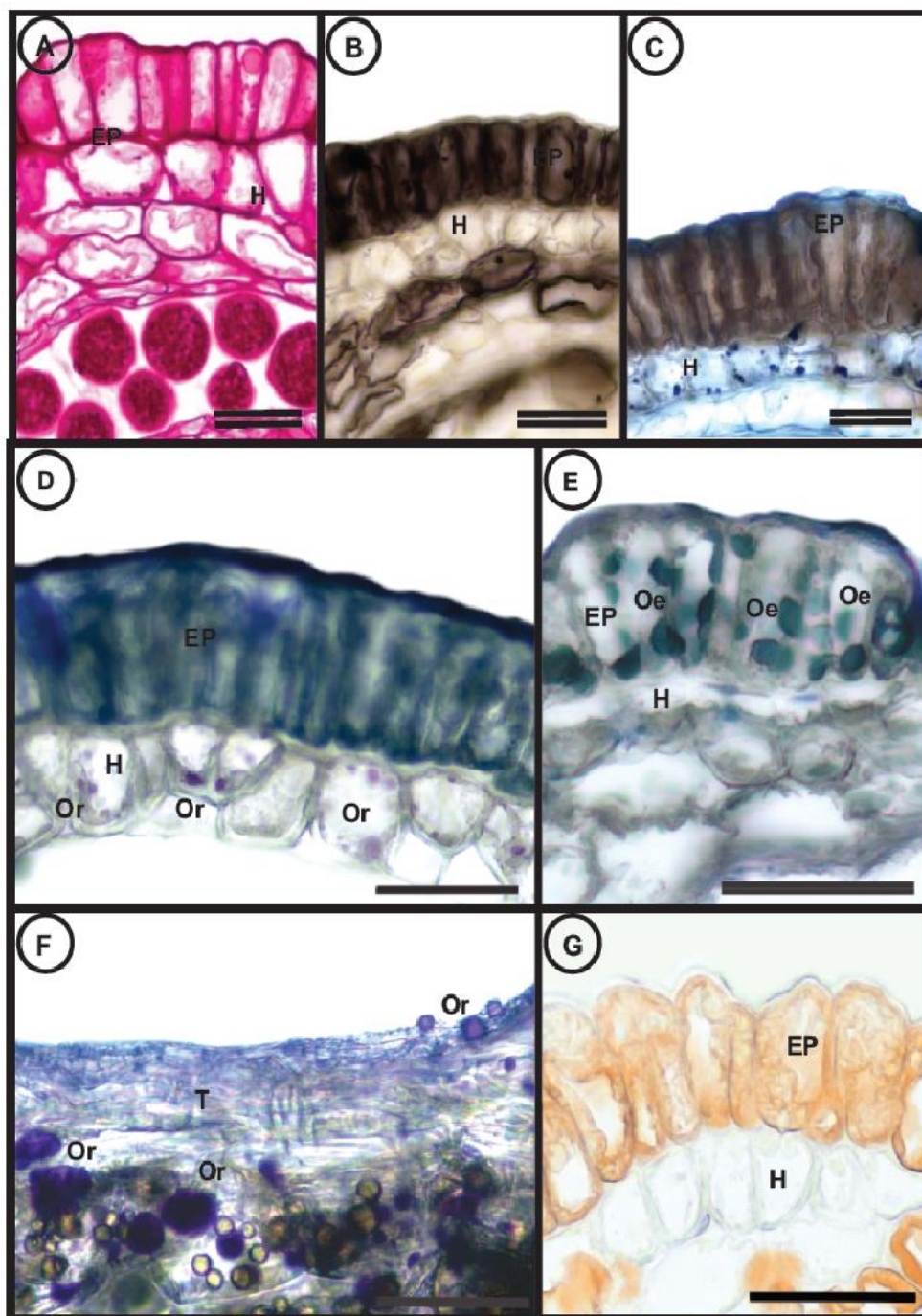


Figura 6. Resultados dos testes histoquímicos aplicados aos cortes da antera de *C. ensiformis* var. *ensiformis*, A- Grânulos evidenciados na epiderme e hipoderme pelo reagente Schiff/Ácido periódico (PAS) que detecta polissarídeos neutros, B- conteúdo de coloração marron escuro no citoplasma das células epidérmicas e das células internas à hipoderme evidenciado pelo Cloreto Férrico III, que detecta compostos fenólicos, C- gotas coradas de negro no citoplasma das células da epiderme e da hipoderme que reagiram ao Sudan Black B, reagente que detecta compostos lipídicos. D-F- Teste com reagente NADI (óleo essenciais e oleoresinas), D-E Epiderme células com citoplasma denso com gotículas azul (óleos essenciais) e violeta (óleos essenciais mais oleoresinas), F- Região próxima ao conectivo (tapete) presença de gotículas, mistura de óleos essenciais mais oleoresinas e G- Branco (coloração alaranjada cor natural do conteúdo no citoplasma das células epidérmicas e subepidérmicas). Abreviações: Ep= Eepderme, H= Hipoderme, T= Tapete, Oe= Óleos essenciais e Or= Oleoresinas. Barras: 50 μ m.