



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIAS, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BOTÂNICA
TROPICAL**

SUZANE SILVA DE SANTA BRIGIDA

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE *Cenostigma tocantinum* DUCKE
(LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE)**

**BELÉM-PA
2018**

SUZANE SILVA DE SANTA BRIGIDA

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE *Cenostigma tocantinum* DUCKE
(LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE)**

Dissertação de mestrado apresentado à Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, como exigência do Programa de Pós-graduação em Ciência Biológicas: Área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel

Coorientadora: Dra. Fernanda Ilkiu Borges de Souza

**BELÉM-PA
2018**

Santa Brígida, Suzane Silva de

Anatomia e histoquímica de *Cenostigma tocantinum* Ducke
(*Leguminosae-caesalpinioideae*) / Suzane Silva de Santa Brígida. –
Belém, PA, 2018.

63 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica Tropical) –
Universidade Federal Rural da Amazônia / Museu Paraense Emílio
Goeldi, Belém, 2018.

Orientadora: Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel.

1. Fabales – Leguminales 2. Pau-Prezinho 3. *Cenostigma*
tocantinum – Histoquímica 4. *Cenostigma tocantinum* – Anatomia 5.
Leguminosae-caesalpinioideae I. Gurgel, Ely Simone Cajueiro (orient.) II.
Título.

CDD – 583.74

Bibliotecária-Documentalista: Letícia Lima de Sousa – CRB2/1549

SUZANE SILVA DE SANTA BRIGIDA

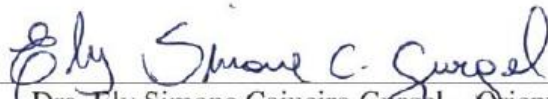
**ANATOMIA E HISTOQUÍMICO DE *Cenostigma tocanthum* Ducke
(LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE)**

Dissertação de mestrado apresentado à Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, como exigência do Programa de Pós-graduação em Ciência Biológicas: Área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel
Coorientadora: Dra. Fernanda Ilkiu Borges de Souza

Aprovado em 26 de fevereiro de 2018

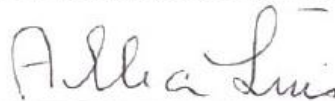
BANCA EXAMINADORA



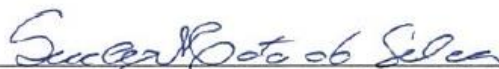
Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel – Orientadora
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI – MPEG



Dra. Maria Auxiliadora Feio – 1º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA – UFRA



Dra. Alba Lúcia Ferreira Lins – 2º Examinador
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI – MPEG



Dra. Suelen Mata da Silva – 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ – UFPA

**BELÉM-PA
2018**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sabedoria, paciência, força e por todas as coisas boas que vivi durante esta caminhada em busca de conhecimento, por ter colocado pessoas que passaram em minha vida e que ficarão eternamente guardados em minha memória.

À Universidade Federal Rural da Amazônia e o Museu Paraense Emílio Goeldi pela oportunidade de realizar este curso e pelo aprendizado, além da infraestrutura e suporte.

Agradeço a todos os professores por proporcionarem conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo da minha formação profissional.

A minha orientadora Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel pelo aprendizado, incentivo e pela dedicação a qual me orientou em todos os momentos que precisei.

A minha coorientadora Dra. Fernanda Ilkiu Borges de Souza pela atenção e contribuições que foram muito validas para o desenvolvimento deste trabalho.

À minha família por estar sempre presente em minha vida, sempre dando apoio nas minhas escolhas, pelo incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, me dando segurança e certeza de que nunca estaria sozinha nessa caminhada. Por sempre me fazer entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

A Dra. Alba Lúcia de Almeida Lins por todos os ensinamentos, apoio, dedicação e conselhos que foram muito importantes em momentos de inseguranças e dúvidas, que me fizeram acreditar que com dedicação e esforço tudo é possível.

Agradeço ao amigo de turma Carlos Alberto Santos da Silva Junior pela ajuda nas coletas, pois sempre se colocava a disposição quando eu precisava.

Agradeço a minha amiga Gleyce Marina Moraes dos Santos, pelas dicas e incentivo, pois estamos juntas nesta caminhada desde a graduação.

Agradeço aos amigos do laboratório de Anatomia Vegetal, pelo apoio e atenção que me deram durante toda a realização deste trabalho e por estarem comigo, sempre ajudando uns aos outros, onde vivemos e aproveitamos cada oportunidade que nos foi dada.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação me apoiando neste momento de alguma forma.

Obrigada!

À minha família que, com muito carinho e apoio, sempre me incentivou para que eu pudesse concluir esta etapa de minha vida.

A essência do conhecimento consiste em aplicá-lo, uma vez possuído.

(Confúcio)

LISTA DE FIGURAS

Morfoanatomia da semente de *Cenostigma tocanthinum* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae)

Figura 1: Morfologia da semente de *Cenostigma tocanthinum* Ducke A) Sementes, B) Detalhes da testa e da rafe, C) Base com funículo, D) Hilo com resto de funículo, E, F) Eixo do embrião mostrando os cotilédones retos, G) Detalhe do embrião reto, H) Radícula exposta na base do cotilédone, I) Detalhe da plúmula com primórdios foliares e J) Margem serrilhada. Legenda: fu-funículo, rf-rafe. Barra: D, I= 1mm; B, C, E-H, J = 2mm.....35

Figura 2: Secção longitudinal e transversal das sementes de *Cenostigma tocanthinum* Ducke A) Testa evidenciando as camadas e linha lúcida (seta), B) Feixe no mesofilo da testa, C) Epicótilo do embrião evidenciando gema axilar (seta), D) Hipocótilo-radícula do embrião, E e F) Detalhe da protoderme do embrião com tricomas e glabra, G) Vista geral da plúmula, H) Detalhes da plúmula, I) Cavidade na plúmula, J) Detalhe da gema axilar do cotilédone, K) Cotilédone com feixes, L) Cotilédone com canal secretor. Legenda: **cb**-câmbio, **co**-cotilédone, **cp**-células parenquimáticas, **ex**-exotesta, **fv**-feixe vascular, **mf**-meristema fundamental, **mm**-meristema medular, **os**-osteoesclereídes. Barra: A, E, F, I, J-L = 7µm; B, H = 30µm; C, D, G = 80µm.36

Figura 3: Teste histoquímico nas sementes de *Cenostigma tocanthinum* Ducke. A) Teste em branco do cotilédone, B) Teste com vermelho de rutênio no canal secretor no cotilédone detectando mucilagem, C) Teste com azul de toluidina revelando compostos fenólicos, D e E) Cotilédones ricos em lipídios, F) Lipídios insaturados no cotilédone, G) Presença de grão de amido no mesofilo do cotilédone, H) Compostos fenólicos nas células parenquimáticas da última camada da testa e I) Proteínas nas células do cotilédone. Barra: A-D, G, H = 6µm; E, F = 4µm; I = 8µm.....37

Anatomia dos eofilos e das folhas de *Cenostigma tocantinum* Ducke (Leguminosae Caesalpinioideae)

Figura 1: Plântula de *Cenostigma tocantinum* Ducke evidenciando tricomas glandulares no pecíolo e pontuações nos eofilos.....56

Figura 2: Vista frontal dos folíolos de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) Tricomas tectores unicelulares na nervura central da face adaxial nos eofilos, B) Estômatos paracíticos e células com paredes anticlinais sinuosas na face abaxial dos eofilos, C) Tricomas tectores unicelulares na nervura central da face adaxial do folíolo da planta adulta, D) Células com paredes anticlinais sinuosas na face adaxial do folíolo da planta adulta, E) Estômatos paracíticos e células com paredes anticlinais sinuosas na face abaxial do folíolo da planta adulta. Escala: A-E = 3µm.....57

Figura 3: Seção transversal e longitudinal do efilo da plântula de *Cenostigma tocantinum*. A) Vista geral da nervura central, B) Cavidade secretora na nervura central, C) Presença de cristais no floema (seta), D) Vista geral do mesofilo evidenciando parênquima paliçádico e lacunoso e feixe vascular, E) Cavidades secretoras no mesofilo, F) Margem evidenciando tricomas (seta) e estômatos da face abaxial, G) Vista geral da raque evidenciando epiderme com tricomas, bainha esclerenquimática, feixes vasculares colaterais e medula, H) Epiderme da raque com estômato, I) Cavidade no mesofilo cortical do pecíolo, J) Detalhe dos cristais dispostos em fileira no feixe do floema da raque, K) Vista geral do pecíolo, L) Epiderme do pecíolo evidenciando tricoma tector unicelular e estômato, M) Epiderme do pecíolo evidenciando cutícula espessa, tricoma tector unicelular e cavidade secretora, N) Cristais dispostos em fileira no floema do pecíolo. Legenda: be-bainha esclerenquimática; cr-cristais; cs-cavidade secretora; cu-cutícula; ep-epiderme; m-medula; pl-parênquima lacunoso; pp-parênquima paliçádico; st-estômato; tg-tricoma glandular; tr-tricoma. xi-xilema; (*) floema. Escala: B, C, I, J, N = 3µm; L, M = 4µm; D, E, F = 7µm; G, H = 8µm; M = 9µm; A, K = 30µm.....58

Figura 4: Seção transversal dos folíolos da planta adulta. A) Vista geral da nervura central, B) Detalhe da epiderme adaxial com tricoma unicelular e bainha esclerenquimática no mesofilo, C) Cavidade secretora na nervura central, D) Cristal nas células esclerenquimáticas,

E) Mesofilo evidenciando estômato, parênquima paliçádico e lacunoso e cavidade, F) Margem com estômatos e papilas (seta), G) Mesofilo destacando o feixe vascular e cristais (seta), H) Vista geral da raque, I) Epiderme evidenciando tricoma tector unicelular e estômato na epiderme da raque, J) Região cortical da raque evidenciando cavidade secretora, K) Cristal incluso nas células do floema da raque, L) Vista geral do pecíolo, M) Seção do pecíolo evidenciando cavidade secretora (seta), bainha do feixe, feixes vasculares e medula parenquimática, N) Epiderme do pecíolo evidenciando cutícula espessa e tricoma tector unicelular, O) Tricoma estrelado na epiderme do pecíolo; P) Cristal incluso na célula esclerenquimática. Legenda: **be**-bainha esclerenquimática; **cr**-cristais; **cu**-cutícula; **ep**-epiderme; (*) floema; **m**-medula; **pl**-parênquima lacunoso; **pp**-parênquima paliçádico; **st**-estômato; **tr**-tricoma; **xi**-xilema. Escala: A, H, L = 30µm; B, E-F = 7µm; N = 5µm; G, I, J, M, O = 4µm; C, D, K, P = 3µm.....59

Figura 5: Seções do eofilo em microscopia eletrônica de varredura. A-B) Tricoma glândula multicelular pedunculado na raque, C) Tricoma glândula multicelular pedunculado no pecíolo, D) Estômato no pecíolo. Escala: A, D = 10 µm; B = 30 µm; C = 20 µm.....60

Figura 6: Teste histoquímico da plântula de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) Cavidade secretora na lâmina eofilar evidenciando compostos fenólicos com azul de toluidina, B) Cavidade secretora no pecíolo evidenciando compostos fenólicos com azul de toluidina, C) Cavidade secretora no pecíolo evidenciando compostos fenólicos com cloreto férrico, D) Compostos fenólicos no córtex do pecíolo, E) Cavidade emitindo flavonoides no pecíolo, F) G) Pecíolo evidenciando grãos de amido, H) I) J) Região cortical e medular da raque com grãos de amido, K), L) e M) Lignina na bainha esclerenquimática da nervura central, raque e pecíolo. Escala: A-D, F, J = 3µm; G, I = 4µm; E = 30µm; H, K-M = 5µm.....61

Figura 7: Teste histoquímico da folha de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) B) C) Compostos fenólicos evidenciados por dicromatos de potássio na nervura central, raque e pecíolo, respectivamente, D) Compostos fenólicos no córtex do pecíolo por cloreto férrico, E) Compostos fenólicos evidenciado por azul de toluidina no córtex do pecíolo, F) Flavonoides na cavidade secretora do pecíolo, G) Região medular do pecíolo com grãos de amido, H) I) Lignina na bainha esclerenquimática da nervura central e pecíolo. Escala: A, C-E, G = 3µm; B, H, I = 4µm; F = 9µm.....62

RESUMO

Cenostigma tocanthinum Ducke é nativa da Amazônia, conhecida popularmente como pau-preto ou pau-pretinho, com habito arbustivo e arbóreo. É amplamente utilizada como ornamental, na construção civil e como planta medicinal. As sementes usadas no artesanato, são produzidas em grande quantidade e apresentam elevado potencial germinativo. O gênero é caracterizado por apresentar pontos na superfície inferior dos folíolos, sendo cavidades secretoras, encontradas também nas sementes. O estudo morfoanatômico das sementes, plântulas e da planta adulta, permite a descoberta de estruturas que podem desaparecer com o desenvolvimento da planta. Portanto, objetiva-se caracterizar as sementes, eofilos das plântulas e folhas da planta adulta de *C. tocanthinum* morfoanatômica e histoquimicamente, visando à elucidação estrutural desses órgãos e identificar o conteúdo presente nas estruturas secretoras. Os frutos e folhas foram coletados de três matrizes localizadas no Campos de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará. As sementes foram retiradas dos frutos a mão, pesadas, medidas e armazenadas. Uma parte foi separada e semeada para a produção das plântulas. Para o estudo anatômico, sementes, eofilos e folhas da planta adulta foram seccionadas e fixadas em FAA 70%, FNT e SFF, e estocadas em álcool 70%. Para a confecção de lâminas histológicas, as secções, foram submetidas as técnicas usuais de anatomia vegetal. Os testes histoquímicos foram realizados em cortes a mão livre e incluídos em paraplast, em seguida submetidos a reagentes específicos. A semente é elíptica, monocrômica, lisa, com hilo oblongo e rafe perceptível apenas no ápice. O embrião é cotiledonar carnoso, base sagitada com a radícula exposta, eixo embrionário reto e plúmula diferenciada. A parede periclinal externa da exotesta é recoberta por uma cutícula fina, composta por macroesclereídes e uma linha lúcida, mesotesta formada por osteoesclereídeos e endotesta com camadas de células parenquimáticas achatadas. A protoderme do embrião é unisseriada, com tricomas no hipocótilo, epicótilo e plúmula, a radícula é glabra. Os cotilédones apresentam canais e a plúmula cavidades, estas estruturas apresentaram mucilagem fenólica, e os cotilédones são ricos em lipídios, proteínas e amido. Os folíolos dos eofilos e da folha adulta apresentaram epiderme semelhantes, tricomas unicelulares e estômatos paracíticos na face abaxial. O mesofilo é dorsiventral com cavidades secretoras. O feixe da nervura central e feixes do mesofilo são colaterais. Raque e pecíolo são arredondados com feixes colaterais concêntricos envolvidos por uma bainha esclerenquimática. Cristais drusíferos foram observados nas células do floema. Compostos fenólicos, ligninas e amido foram detectados no eofilo e folhas adultas e nas cavidades secretoras flavonoides. Portanto, as sementes *Cenostigma tocanthinum* apresentaram características morfológicas e anatômica diagnósticas para o gênero, e os eofilos e as folhas da planta adulta são semelhantes, diferindo somente quanto aos tricomas. As cavidades secretoras foram observadas na espécie desde o embrião até o estágio adulto, além disso, canais secretores nos cotilédones da semente, ainda não foram descritos para outras espécies do gênero. As cavidades secretoras descritas nas folhas apresentaram flavonóides.

Palavras chave: Flavonoides. Pau-pretinho. Plântula. Semente. Tricomas multicelulares.

ABSTRACT

Cenostigma tocantinum is native to the Amazon, popularly known as pau-preto or pau-pretinhor, with shrub and arboreal habit. It is widely used as ornamental, in construction and as a medicinal plant. The seeds used in the craftwork, are produced in great quantity and present high germinative potential. The genus is characterized by presenting points on the surface below of the leaflets, being secretory cavities, also found in the seeds. The morphoanatomic study of seeds, seedlings and the adult plant, allows the discovery of structures that may disappear with the development of the plant. The objective of characterizing the seeds, the seedlings eophylls and leaves of the adult plant of *C. tocantinum* morphoanatomically and histochemically, aiming at the structural elucidation of these organs and to identify the content present in the secretory structures. The fruits and leaves were collected from three matrices located in the Research Fields of the Museu Paraense Emílio Goeldi. The seeds were removed from the fruits by hand, weighed, measured and stored. A part was separated and seeded for the production of seedlings. For the anatomical study, seeds, eophylls, and leaves of the adult plant were sectioned and fixed in FAA 70%, FNT and SFF, and stocked in 70% alcohol. For the preparation of histological blades, the sections were submitted to the usual techniques of anatomy plant. Histochemical tests were performed on free-hand cuts and included in paraplast, then submitted in specific reagents. The seed is elliptical, monochromatic, smooth, with hilum and raphe perceptible only at the apex. The embryo is meaty cotyledon, sagittal base with exposed radicle, straight embryonic axis and differentiated plumule. The external periclinal wall of the exotesta is covered by a thin cuticle, composed of macroesclereids and a light line, mesotesta formed by osteosclereids and endotesta with layers of flattened parenchyma cells. The protoderm of the embryo is uniseriate, with trichomes in the hypocotyl, epicotyl and plumule, the radicle is glabrous. The cotyledons have canals and plumule the cavities, these structures have presented phenolic mucilage, and the cotyledons are rich in lipids, proteins and starch. Leaflets of eophylls and adult leaf showed similar epidermis, unicellular trichomes and paracytic stomata on the lower surface. The mesophyll is dorsiventral with secretory cavities. The midrib bundle and mesophyll bundles are collateral. Rachis and petiole are rounded with concentric collateral bundles enveloped by a sclerenchymatic sheath. Drusiform crystals were observed in phloem cells. Phenolic compounds, lignins and starch were detected in the eophylls and adult leaves and in the flavonoid secretory cavities. Therefore, the seeds *Cenostigma tocantinum* presented morphological and anatomical diagnostic characteristics for the genus, and the eophylls and the leaves of the adult plant are resemblant, differing only in relation to the trichomes. Secretory cavities were observed in the species from the embryo to the adult stadium, in addition, secretory canals in seed cotyledons have not been described for other species of the genus. The secretory cavities described in the leaves presented flavonoids.

Keywords: Flavonoids. Pau-pretinho. Seedling. Seed. Multicellular trichomes.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	12
1.1. REFERÊNCIAS	14
2. ESTUDO MORFOANATÔMICO DA SEMENTE DE <i>Cenostigma tocantinum</i> Ducke (LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE)	17
2.1. INTRODUÇÃO	18
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	19
2.3. RESULTADOS	22
2.4. DISCUSSÃO	25
2.5. CONCLUSÃO	29
2.6. AGRADECIMENTOS	30
2.7. REFERÊNCIAS	30
3. ANATOMIA DOS EOFILOS E DAS FOLHAS DE <i>Cenostigma tocantinum</i> Ducke (LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE)	38
3.1. INTRODUÇÃO	39
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	41
3.3. RESULTADOS	43
3.4. DISCUSSÃO	47
3.5. AGRADECIMENTOS	52
3.6. REFERÊNCIAS	52
4. CONCLUSÕES FINAIS	63

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A anatomia vegetal possui papel importante na busca de informações sobre as diferentes estruturas internas presentes nas espécies vegetais (EVERT, 2013), juntamente com a morfologia, pode fornecer caracteres úteis para distinção entre famílias, gêneros e até mesmo espécies (COSTA et al. 2006; BITENCOURT et al. 2008; LUSA; BONA, 2009).

Estudo sobre a morfologia e anatomia das sementes permitem informações prévias sobre a germinação, bem como, caracterizar problemas de dormência, como por exemplo, testa impermeável, que impossibilita a entrada de água e gases, ou mesmo dormência causada pela imaturidade do embrião (GROTH; LIBERAL, 1988; MELO-PINNA et al. 1999; ARAÚJO-NETO, 2002; LOUREIRO et al. 2013). Além disso, fornecem subsídios para esclarecer relações ecológicas, taxonômicas, até mesmo fisiológicas (BITENCOURTI et al. 2008).

Em relação as plântulas e suas estruturas aéreas desenvolvidas, como as folhas, a anatomia possibilita fornecer dados para esclarecer problemas taxonômicos, assim como, base para a compreensão dos mecanismos naturais e comportamentais das espécies (MOREIRA-CONEGLIAN; OLIVEIRA, 2006; GURGEL, 2009). Moreira-Coneglian e Oliveira (2006) mencionaram que estudos na fase de plântula, podem permitir a descoberta de estruturas que desaparecem com o desenvolvimento da planta, e estas podem ser importantes para esclarecer problemas com relação a filogenia.

A histoquímica associada a anatomia determina a natureza das substâncias presentes nos tecidos vegetais e sua localização (FIGUEIREDO et al., 2007). Substâncias estas que são produzidos e/ou armazenados dentro de estruturas que podem estar individualizadas, tais como, idioblastos, tricomas, cavidades e ductos. (CASTRO; MACHADO, 2006). Os idioblastos são células isoladas e diferenciadas em relação as células vizinhas, os tricomas são estruturas externas (ASCENSÃO, 2007), podendo apresentar diferentes formas principalmente em espécies de Leguminosae (METCALFE; CHALK, 1950).

As cavidades são esféricas com espaços intercelulares curtos delimitada por células epiteliais secretoras, estas células epiteliais são responsáveis por secretar seu conteúdo para o lúmen, onde o conteúdo pode consistir em óleos, carboidratos, mucilagem e outras substâncias e os canais ou ductos são estruturas com lúmen alargado (FAHN, 1982; MACHADO; RODRIGUES, 2013).

As substâncias presentes nas estruturas secretoras são produzidas a partir do metabolismo vegetal, em dois tipos distintos de produtos: metabólitos primários e secundários. O primeiro é essencial para a vida do vegetal durante o seu desenvolvimento, atuando nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes, enquanto o segundo está ligado as estratégias de defesa, apresentando ação biológica, contra herbívoros e microrganismos, fornecendo vantagem adaptativa e está presente em determinados grupos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004; SILVA et al. 2010).

Os compostos secundários são classificados de acordo com a sua rota biossintética (HARBONE, 1999), e as três principais classes são: compostos fenólicos, terpenos e os alcaloides (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, fazem parte dos constituintes de uma variedade de vegetais (SILVA et al., 2010). Um dos grupos desses compostos são os flavonoides, eles atuam no crescimento, desenvolvimento e defesa dos vegetais contra o ataque de patógenos (DIXON; HARRISON, 1999) e agem como antioxidantes (SILVA et al., 2010).

Outro grupo de compostos fenólicos são os taninos, compostos de fácil oxidação, tanto através de enzimas vegetativas, quanto por metais, como o cloreto férrico, ocasionando o escurecimento de suas soluções, e agem na proteção dos vegetais contra herbivoria (MONTEIRO et al. 2005; BARBOSA et al. 2006)

O gênero *Cenostigma* Tul. é caracterizado por apresentar pontos negros espalhados na superfície inferior dos folíolos (GAGNON et al. 2016). De acordo com Metcalfe e Chalk (1950), esses pontos são cavidades secretoras taníferas, que Lesters e Curtis (1996) a partir de estudos anatômicos descreveram para *Cenostigma macrophyllum* Tul. e *Cenostigma tocaninum* Ducke, além dessa estrutura, ductos foram descritos em *Cenostigma pyramidale* (Tul.) L.P. Queiroz (FRANÇA, 2012).

Estudos anatômicos e histoquímicos nas sementes *Cenostigma pluviosum* var. *peltophoroides* (Benth. E. Gagnon & G.P. Lewis) mostraram que os cotilédones desta espécie apresentam cavidades secretoras ricas em compostos fenólicos, lipídios e proteínas (CORTE et al. 2009).

De acordo com o exposto acima, o objetivo deste trabalho é caracterizar as sementes, eófilos das plântulas e folhas da planta adulta de *C. tocaninum* morfoanatomicamente e histoquimicamente, visando à elucidação estrutural desses órgãos e identificar o conteúdo presente nas estruturas secretoras.

A dissertação está estruturada em: 1. Contextualização com revisão da literatura; 2. Artigo 1: Morfoanatomia e histoquímica da semente de *Cenostigma tocanthinum* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae), para submissão a revista *Acta Amazônica*; 3. Artigo 2: Anatomia dos eófilos e das folhas de *Cenostigma tocanthinum* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae), para submissão a revista *Brazilian Journal of Botany* e 4. Conclusões finais. As formatações dos artigos seguem as normas das revistas selecionadas, no entanto, numerações e margens das páginas estão padronizadas de acordo com as normas de elaboração da dissertação do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural da Amazônia.

1.1. Referências

ARAÚJO-NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, B. M.; PAULA, R.C. Caracterização morfológica de frutos e sementes e desenvolvimento pós-Seminal de monjoleiro (*Acacia polyphylla* DC.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 203-211, 2002.

ASCENSÃO, L. Estruturas secretoras em plantas. Uma abordagem morfo-anatômica. In: FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G. (Eds), 2007, **Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais**. Curso Teórico-Prático, 3ed., Lisboa, Portugal, Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa-Centro de Biotecnologia Vegetal. 2007, p. 19-28.

BARBOSA, A. P.; PALMEIRA, R. C. F.; NASCIMENTO, C. S.; FEITOZA, D. S.; CUNHA, M. S. C. Leguminosas Florestais da Amazônia Central. I. Prospecção das Classes de Compostos Presentes na Casca de Espécies Arbóreas. **Revista Fitos**. v. 1, n. 3, p. 47-57, mar. 2006.

BITENCOURT, G. A.; RESENDE, U. M.; FAVERO, S. Descrição morfo-anatômica das sementes de *Senna occidentalis* (L.) Link. (Fabaceae-Caesalpinioideae) e *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). **Revista de Biologia e Farmácia**, v.3, n. 1, p. 38-44, 2008.

CASTRO, M. M.; MACHADO, S. R. Células e tecidos secretores. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Ed. UFV. 2006, p. 179-188.

CORTE, V. B.; VENTRELLA, M. C.; LIMA E BORGES, E. E.; PONTES, C. A.; PINHO, D. Histochemical and ultrastructural study of *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae) seeds. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.33, n. 5, p. 873-883, 2009.

COSTA, C. G.; CALLADO, C. H.; CORADIN, V. T. R.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Xilema, In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia Vegetal**. 2 ed. Viçosa: Editora UFV, 2006, p. 129-154.

DIXON, R. A.; HARRISON, M. J. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. **Advances in Genetics**. v. 28, p. 165-234. 1999.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau**: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento, São Paulo, Blucher, 726p. 2013.

FAHN, A. **Plant anatomy**. 3.ed. New York : Pergamon, p.544. 1982.

FIGUEIREDO, A. C. S.; BARROSO, J. M.G.; PEDRO, L. M. G.; ASCENSÃO, L. **Histoquímica e citoquímica em plantas: Princípios e protocolos**. 1ed., Lisboa, janeiro de 2007.

FRANÇA, A.A. **Anatomia Foliar e Valor Nutritivo de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz em Diferentes Fases Fenológicas**. 2012. 80 f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2012.

GAGNON, E.; BRUNEAU, A.; HUGHES, C. E.; QUEIROZ, L.; LEWIS, G. P. A new generic system for the pantropical Caesalpinia group (Leguminosae). **PhytoKeys**, n. 71, 160 p. 2016.

GROTH, D.; LIBERAL, O.H.T. **Catálogo de identificação de sementes**. Campinas: Fundação Cargil, 182p. 1988.

GURGEL, E.S.C. **Morfoanatomia, perfil químico e atividade alelopática de três espécies de *Copaifera* L. (Leguminosae Caesalpinioideae) nativas da Amazônia**. 2009. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica). Manaus, Amazonas, 2009.

LERSTEN, N.R.; CURTIS, J.D. Survey of leaf anatomy, especially secretory structures, of Tribe Caesalpinieae (Leguminosae; Caesalpinioideae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 200, n. 1-2, p. 21-39, 1996.

LOUREIRO, M. B.; TELES, C. A. S.; VIRGENS, I. O.; ARAÚJO, B. R. N.; FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D. Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de sementes e plântulas de *Amburana cearensis* (FR. ALL.) A.C. Smith (Leguminosae-Papilionoideae). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 37, n. 4, p. 679-689, 2013.

LUSA, M.G.; BONA, C. Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Acta botânica brasílica**, v. 23, n. 1, p. 196-211. 2009.

MACHADO, S.R. & RODRIGUES, T.M. Estruturas secretoras internas. In: EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau**: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento, São Paulo, Blucher, 2013, p. 726.

METCALFE, C.F. & CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**: Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press, v. 1, 1950, p. 724.

MELO-PINNA, G. F. A.; NEIVA, M. S. M.; BARBOSA, D. C. A. Estrutura do tegumento seminal de quatro espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae), ocorrentes numa área de

caatinga (PE-Brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 375-379, 1999.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOREIRA-CONEGLIAN, I.R. & OLIVEIRA, D.M.T. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 2, p. 193-207, 2006.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; Koblitz, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre. Artmed, 2004, p. 719.

2. Morfoanatomia e histoquímica da semente de *Cenostigma tocanthinum* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae)

Suzane Silva de SANTA BRIGIDA, Ely Simome Cajueiro GURGEL, Fernanda Ilkiu Borges de SOUZA

RESUMO: *Cenostigma tocanthinum* Ducke, conhecido popularmente como pau pretinho, é nativo da Amazônia e utilizado como ornamental, por apresentar bela floração. As sementes são usadas para artesanato, além disso, são produzidas em grande quantidade e apresentam elevado potencial germinativo. Diante disto, este trabalho tem como objetivo descrever as sementes de *C. tocanthinum* morfoanatomicamente e histoquimicamente a fim de ampliar o conhecimento da espécie. As sementes foram coletadas de três matrizes no *campus* de pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG, Belém, Pará. Em seguida foram fixadas em FNT, SFF, e submetidas as técnicas usuais de anatomia vegetal e histoquímica. A semente é elíptica, monocrômica, lisa, com hilo oblongo e rafe perceptível apenas no ápice. O embrião é cotiledonar, reto, com cotilédones carnosos e base sagitada, com a radícula exposta e plúmula diferenciada. A exotesta tem parede periclinal externa recoberta por uma fina cutícula, formada por macroesclereídes, a mesotesta por osteoesclereídeos e a endotesta por camadas de células parenquimáticas achatadas. A protoderme do embrião é unisserida, com tricomas no hipocótilo, epicótilo e plúmula, a radícula é glabra. Os cotilédones apresentam canais e a plúmula cavidades. Verificou-se que o conteúdo nos canais são mucilagens e compostos fenólicos, e o mesofilo dos cotilédones são ricos em lipídios, proteínas e amido. Conclui-se que as sementes apresentaram características morfológicas e anatômicas importantes para a distinção entre as espécies do gênero, como a presença de canais secretores, que até então só havia informações de cavidades.

PALAVRAS CHAVE: Canais. Compostos fenólicos. Cotilédones. Pau-preto.

ABSTRACT: *Cenostigma tocanthinum* Ducke, known popularly as pau pretinho, is native to the Amazon and used as ornamental for presenting beautiful flowering. The seeds are used for craftwork, in addition, they are produced in large quantities and present high germinative potential. Before this, this work has the objective to describe the seeds of *C. tocanthinum* morphoanatomically and histochemically in order to increase the knowledge of the species. The seeds were collected from three matrices on the research campus of the Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG, Belém, Pará. After were fixed in FNT, SFF, and submitted to the usual techniques of plant anatomy and histochemistry. The seed is elliptical, monochromatic, smooth, with oblong hilum and raphe perceptible only at the apex. The embryo is cotyledonary, straight, with meaty cotyledons and sagittal base, with exposed radicle and differentiated plumule. The exotesta has an external periclinal wall covered by a thin cuticle, formed by macroesclereides, the mesotesta by osteosclereids and the endotesta by layers of flattened parenchyma cells. The protoderm of the embryo is unisseriate, with trichomes in the hypocotyl, epicotyl and plumule, the radicle is glabrous. The cotyledons have channels and plumule the cavities. It was verified that the contents in the channels are mucilages and phenolic compounds, and the mesophyll of the cotyledons are rich in lipids, proteins and starch. It was concluded that the seeds presented morphological and anatomical characteristics important for the distinction between the species of the genus, such as the presence of secretory canals, which until then had only information of cavities.

KEYWORDS: Canals. Phenolic compounds. Cotyledons. Pau-preto.

2.1. Introdução

Leguminosae compreende aproximadamente 770 gêneros e mais de 19.500 espécies, distribuídas em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais, atualmente está dividida em seis subfamílias, Duparquetioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Papilionoideae e Caesalpinioideae (LPWG et al. 2017).

Caesalpinioideae apresenta cerca de 4.400 espécies compreendendo quatro tribos, Cercideae, Detarieae, Cassieae e Caesalpinieae (LPWG et al. 2017).

Muitas espécies de Caesalpinieae têm importância econômica, podendo ser empregadas na construção civil, ornamentação de praças e vias públicas, indústria farmacêutica e recuperação de áreas degradadas (Rodrigues et al. 2012).

Dentro desta tribo está *Cenostigma tocantinum* Ducke, conhecida popularmente como pau preto, pau pretinho e cássia rodoviária (Warwick e Lewis 2009). É nativa da Amazônia, com expoente importância ornamental, empregada na arborização de ruas, avenidas, praças, parques e de pastagens da região norte (Garcia et al. 2008; Warwick e Lewis 2009) e além disso, segundo Oliveira et al. (2014), suas sementes são utilizadas para artesanato. De acordo com Garcia et al. (2008), produz grande quantidade de sementes viáveis com elevado potencial germinativo, que mesmo submetidas à secagem, a germinação e o vigor não são afetados, apresentando comportamento de sementes ortodoxas.

Estudos morfológicos e anatômicos de sementes, podem permitir a visualização estrutural e fornecer importantes informações para esclarecer relações ecológicas, taxonômicas, filogenéticas e até mesmo fisiológicas (Bitencourti et al. 2008), bem como, delimitar família, gênero e a espécie à qual a planta pertence (Silva et al. 2008).

Ainda segundo Ventrella et al. (2013), a associação da anatomia com a histoquímica em sementes, podem revelar substâncias importantes, como compostos estruturais, de reserva e metabólitos secundários responsáveis pela integridade e desenvolvimento das sementes.

As sementes possuem como principais substâncias de reserva, lipídios, proteínas e carboidratos, que proporcionam características nutricionais, industriais e tecnológicas, auxiliando significativamente a germinação, crescimento inicial das plântulas e no estabelecimento da espécie (Buckeridge et al. 2004; Corte et al. 2009), assim como, os compostos do metabolismo secundários, que conferem proteção e resistência (Abud et al. 2010). Podendo ainda ser utilizadas como ferramenta taxonômica (Hegnauer e Grayer-Barkmeij 1993; Silveira e Lima 1997).

Warwick e Lewis (2009) ao revisarem o gênero, levaram em consideração somente as características morfológicas de folhas e frutos, não descrevendo sementes, pois estavam imaturas, principalmente de *C. tocanthinum*. Gagnon et al. 2016 ao revisarem a tribo Caesalpinieae, descreveram as principais características da semente do gênero, porém, as características das sementes de *C. tocanthinum* são insipientes na literatura.

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo descrever as sementes de *C. tocanthinum* morfoanatomicamente e histoquimicamente a fim de ampliar o conhecimento da espécie.

2.2. Material e métodos

Frutos de *Cenostigma tocanthinum*, completamente maduros, foram coletados com auxílio de podão em matrizes localizadas no Campo de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG, Belém, Pará. As sementes foram retiradas manualmente e armazenadas em recipientes plásticos para as análises morfológicas e anatômicas.

Foram pesadas 100 sementes em balança de precisão (Maste AY220) e medidas com auxílio de paquímetro digital (Vonder PD-150).

Os aspectos morfológicos foram descritos por meio de 50 sementes, retiradas aleatoriamente. As observações sobre a morfologia interna e externa das sementes foram efetuadas visualmente e complementadas com o auxílio de estereomicroscópio (Leica EZ4D) para melhor observação de detalhes como textura e indumento. Foram feitas secções transversais e longitudinais com lâmina de aço para observação do embrião, bem como, a sua posição no interior da semente (Corner 1951). Considerou-se a base da semente a extremidade próxima ao ápice da radícula (Barroso et al. 1999).

A morfologia da plúmula foi descrita seguindo a classificação proposta por Oliveira (1999), composta por quatro tipos: plúmula indiferenciada, quando não se observa qualquer diferenciação plumular, terminando o eixo embrionário imediatamente após a inserção dos cotilédones; plúmula rudimentar, quando existe pequeno relevo acima do nó cotiledonar, sem qualquer outra diferenciação; plúmula pouco diferenciada, quando existe o relevo além do nó cotiledonar e alguma partição ou reentrância apical, sem apresentar nítidos primórdios foliares; e plúmula diferenciada, quando há primórdios foliares distinguíveis, podendo ocorrer diferenciação foliolar, estipular e/ou estipelar. Os parâmetros morfológicos analisados e a sua nomenclatura, estão de acordo com os trabalhos de Martin (1946), Corner (1951), Gunn (1984,1991), Stern (1992), Oliveira (1999), Barroso et al. (1999), Font-Quer (2000).

Para as análises anatômicas, as sementes foram seccionadas longitudinalmente no eixo embrionário, fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético e álcool etílico 70%) (Johansen 1940) por 24 horas para observação do aspecto estrutural, reconhecimento dos compostos fenólicos totais em SFF (formaldeído, sulfato ferroso e água destilada) (Johansen 1940) durante 48 horas e FNT (Formalina Neutra Tamponada) por 48 horas (Lillie 1965) para os testes histoquímicos.

Seções longitudinais de material incluído em paraplast foram realizadas com o auxílio de micrótomo rotativo (Leica® RM 2245), em seguida coradas em azul de astra e safranina (Gerlach 1969) e montadas lâminas permanentes.

Os testes histoquímicos foram realizados com material seccionado a mão livre e incluído em paraplast. Para identificar lipídios totais as seções foram submetidas aos reagentes Sudan III (Pearse 1980) e Sudan Black B (Jensen 1962), para lipídios neutros e ácidos foi usado sulfato azul de Nilo (Cain 1947), e para lipídios insaturados, tetroxido de ósmio (Ganter e Jollés 1969/1970). Foram usados para detectar terpenos os reagentes de NADI (David e Carde 1964) e 2,4-dinitrofenilhidrazina (Ganter e Jollés 1970).

Para compostos fenólicos gerais foram usados cloreto férrico (Johansen 1940), dicromato de potássio (Gabe 1968) e azul de toluidina (O'Brien et al. 1964). Para detectar tanino foi utilizado vanilina clorídrica e para lignina, floroglucinol acidificado (Johansen 1940).

Para detectar amido foram utilizados os reagentes de lugol (Johansen 1940) e Wagner (Furr e Mahlberg 1981); e para mucilagem, vermelho de rutênio (Gregory e Baas 1989). Utilizaram-se reagentes de Dragendorff e Wagner (Furr e Mahberg 1981) para alcaloides.

Foram usados para identificar proteínas xilidine Ponceau (Vidal 1970) e azul brilhante de Coomassie (Fisher 1968).

As lâminas foram fotografadas com câmera digital Canon Power Shot A640 acoplada ao microscópio óptico modelo Axiolab Zeiss.

2.3.Resultados

As sementes de *Cenostigma tocanthinum* Ducke são externamente estenospérmicas, estreitamente elípticas em secção transversal, com ápice arredondado, margem inteira e base mucronada (Figura 1A-C).

As sementes são menores nas extremidades do fruto, enquanto no centro são maiores, com 14,49 mm de comprimento, 12,71 mm de largura e 3,93 mm de espessura em média (Tabela 1).

Tabela 1: Análise biométrica de 100 sementes de *Cenostigma tocanthinum* Ducke.

	BIOMETRIA (mm)		
	Comprimento	Largura	Espessura
Mínima	12,11	9,83	3,09
Média	14,43	12,43	3,85
Máxima	16,93	22,22	9,91
Média	14,49	12,71	3,93
Desvio padrão	1,06	1,47	0,72

A testa é monocrômica, castanho claro, com algumas manchas marrons, lisa, pétrea e brilhosa quando desidratada (Figura 1B) e coriácea quando hidratada. A região hilar é basal, próxima ao ápice da radícula (Figura 1C). O hilo é oblongo, bem perceptível, homócromo, castanho, elevado e com bordadura hilar proeminente (Figura 1D), micrópila inconspícua. A semente apresenta rafe monocrômica com vários tons de castanho, escura em sementes hidratadas e mais clara nas desidratadas, presente apenas no ápice (Figura 1B).

O embrião é axial invertido, foliáceo, cotiledonar, com cotilédones amplos, crassos, planos, no entanto, com expressivo eixo embrionário reto (Figura 1F, G).

Os cotilédones são planos, carnosos, amarelados, totais, ou seja, preenchem todo o espaço (Figura 1E, F), obovados, arredondados, com a margem levemente serrilhada (Figura

1J), base sagitada (Figura 1H), lâminas retas com as faces superiores em contato (Figura 1E), com a radícula exposta (Figura 1H), unidos somente ao ápice no eixo hipocótilo-radícula.

O eixo embrionário está entre os lóbulos cotiledonares, é reto, lanceolado e amarelado (Figura 1G). A plúmula é diferenciada, desenvolvida, esbranquiçada, com dois primórdios foliares opostos (Figura 1I).

As sementes maduras de *C. tocantinum* não apresentam endosperma, suas substâncias de reserva ficam armazenadas nos cotilédones.

A exotesta tem parede periclinal externa recoberta por uma fina cutícula, formada por uma camada de células dispostas em sentido radial, denominadas macroesclereídes ou células de Malpighi, nesta há presença de uma linha lúcida, que percorre transversalmente toda a extensão dos macroesclereídeos, posicionada acima do meio destas células. Abaixo desta camada, a mesotesta, é formada por células esclerificadas, denominadas osteosclereídes (Figura 2A).

A terceira camada, a endotesta, é formada por células parenquimáticas alongadas horizontalmente com paredes espessadas, o tamanho destas diminui à medida que se aprofundam as camadas (Figura 2A).

No ápice superior da semente, na rafe, em seção longitudinal, encontra-se uma vascularização com feixes colapsados (Figura 2B).

Em seção longitudinal, as células da protoderme do embrião na região da radícula são unisseriadas e glabras (Fig. 2D, F), enquanto no hipocótilo-radícula a protoderme apresenta tricomas em processo de diferenciação (Figura 2C, E). No epicótilo e plúmula a protoderme apresenta pequenos tricomas semelhante aos do hipocótilo (Figura 2G, H). O meristema fundamental cortical é formado por células longas e o medular por células curtas, o procâmbio apresenta células um pouco mais curtas que as do meristema cortical (Figura 2C, D). Também pode-se notar a presença da gema axilar do cotilédone (Figura 2C, J).

Os cotilédones apresentam epiderme unicelular (Fig. 2A), o mesofilo com células parenquimáticas poligonais e vestígios de nervação em formação (Figura 2K), e pode-se observar canais secretores, vistos em seção longitudinal (Fig. 2L), enquanto na plúmula há presença de cavidades secretoras (Figura 2G, H, I).

Os testes histoquímicos realizados nas sementes de *C. tocanthum* foram positivos para lipídios, mucilagem, compostos fenólicos, amido e proteínas (Tabela 2).

O tegumento quando fixado em SFF revelou resultado positivo para compostos fenólicos, localizados nas células parenquimáticas da endotesta (Figura 3H).

Os testes para lipídios totais foram positivos nos cotilédones, quando submetidos ao Sudan III as gotículas de lipídios reagiram e coraram em alaranjado, em Sudan Black essas gotículas coraram em azul (Figura 3D, E). Esses lipídios estão na forma insaturada como indicado pelo tetroxido de ósmio, onde reagiram corando as gotículas em negro (Figura 3F).

Os grãos de amido estão distribuídos por todo o mesofilo dos cotilédones das sementes de *C. tocanthum*, sendo mais evidenciados em material incorporado em parafina, corados em lugol e reagente de Wagner (Figura 3G).

Os cotilédones das sementes maduras de *C. tocanthum* apresentam proteínas, como indicado pelos testes de xilidina Ponceau e azul brilhante de Coomassie, onde no primeiro os corpos proteicos coraram em vermelho e o segundo em azul claro, sendo positivo para ambos (Figura 3I),

O conteúdo presente nos canais secretores do mesofilo dos cotilédones é composto por mucilagem como indicado pelo vermelho de rutênio (Figura 3B), e compostos fenólicos que reagiram nas células epiteliais e no lúmen aos reagentes cloreto férrico, dicromato de potássio e azul de toluidina (Figura 3C).

Taninos, lignina, alcaloides e terpenos não foram positivos em material fresco e fixado quando foram submetidos aos reagentes (Tabela 2).

Tabela 2: Resultado das principais classes de metabólitos presentes nas sementes de *Cenostigma tocanthinum* Ducke.

Grupos metabólicos	Reagente	Resultado
Lipídios totais	Sudan III	+
	Sudan Black B	+
Lipídios insaturados	Tetróxido de Ósmio	+
Lipídios ácidos e neutros	Sulfato azul de Nilo	-
Fenólicos gerais	Cloreto férrico	+
	Azul de toluidina	+
	Dicromato de potássio	+
Tanino	Vanilina clorídrica	-
Lignina	Floroglucinol	-
Alcalóides	Dragendorff	-
	Wagner	-
	NADI	-
Terpenos	2,4-	-
	dinitrofenilhidrazina	-
Amido	Lugol	+
	Wagner	+
Mucilagem	Vermelho de rutênio	+
	Azul de alcião	-
Proteínas	Xilidine Poceau	+
	Azul de Coomassie	+

2.4.Discussão

As sementes de *Cenostigma tocanthinum* apresentaram o mesmo formato descrito por Mendonça et al. (2016) para *Cenostigma pyramidale* (Tul.) E. Gagnon & G. P. Lewis, confirmando o que foi descrito por Gagnon et al. (2016), ao realizarem uma nova descrição em Caesalpinieae, reorganizaram o gênero *Cenostigma* e consideraram que as sementes apresentam forma elíptica.

O tamanho das sementes de *C. tocanthinum* apresentaram variações, de acordo com Harper et al. (1970), é evidente a diferença de tamanho das sementes de Leguminosae, como observado em *Caesalpinia echinata* Lamarck por Ferreira e Barreto (2015) e *Bauhinia monandra* Kurz por Ilkiu-Borges e Mendonça (2009). Segundo Ilkiu-Borges e Mendonça

(2009) esta característica ocorre principalmente em frutos polispérmicos, onde há mais de uma semente por fruto.

A cor das sementes de *C. tocanthinum* se mostraram monocromática, castanho claro, com algumas manchas marrons, de textura lisa, pétrea e brilhosa, algumas destas características corroboram com as descrições de Gagnon et al. (2016) para *Cenostigma*. Assim como, nas descrições de Gunn (1981) para Leguminosae, geralmente apresenta sementes monocromáticas, de castanho a preto e sua textura pode variar de ósseos, coriácea ou cartácea. Corroborando

O hilo em *C. tocanthinum* é oblongo, visível e elevado, na base próximo ao ápice da radícula, característica comum para Caesalpinioideae (Gunn 1981).

A testa das sementes de *C. tocanthinum* é caracterizada por apresentar camadas formadas por exotesta, composta por células em paliçada, denominada de células de Malpighian, onde nesta encontra-se uma linha lúcida, a mesotesta por uma camada de osteoesclereídes, e a endotesta por várias camadas de células de paredes espeçadas. Estas características foram observadas por Gunn (1981), Melo-Pinna et al. (1999), Bitencourti et al. (2008), Ilkiu-Borges e Mendonça (2009) e Costa et al. (2014) para Leguminosae, assim como em *Cenostigma pyramidale* (Tul.) E. Gagnon & G.P. Lewis (Melo-Pinna et al. 1999). Ao comparar a testa da semente de uma espécie de Leguminosae com Euphorbiaceae, Bitencourti et al. (2008) observaram que a organização da testa é um elemento importante na identificação das espécies.

O feixe vascular das sementes maduras de *C. tocanthinum* permanece na rafe, entretanto, esta estrutura pode ocorrer em diferentes locais, como por exemplo, na região da micrópila e da calaza, como observado por Melo-Pinna et al. (1999) em *Senna spectabilis* (D.C.) Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad) Irwin & Barneby.

O embrião é composto por dois cotilédones e eixo embrionário basal, este eixo é reto e exposto na base dos cotilédones, características estas também observadas em *Paubrasilia echinata* (Lam.) E. Gagnon, H.C. Lima & G. P. Lewis (Ferreira e Barretto 2015), *Senna obtusifolia* (L.) H.S.Irwin & Barneby (Gurgel et al. 2014) e *Inga uruguensis* Hook. & Arn. (Oliveira 1999), características geralmente encontradas em Caesalpinioideae (Gunn 1981; Barroso et al. 1999). Ao estudar o embrião de espécies pertencentes às três subfamílias de Leguminosae, Oliveira (1999) verificou variações quanto ao eixo embrionário, apresentando, desta forma, valor taxonômico para a família.

As características anatômicas do embrião com protoderme do hipocótilo-radícula com tricomas, assim como, no epicótilo e plúmula, o meristema fundamental cortical formado por células longas e o medular por células curtas, o procâmbio com células um pouco mais curtas que as do meristema cortical e presença da gema axilar são semelhantes ao descrito por Oliveira (1999) para a tribo Caesalpineae, principalmente de *Caesalpinia leiostachya* Ducke,

Estruturas secretoras como cavidades encontram-se na plúmula do embrião e canais nos cotilédones, porém Corte et al. (2009) verificaram nos cotilédones de *Cenostigma pluviosum* var. *peltophoroides* (Benth.) E. Gagnon & G. P. Lewis apenas cavidades, diferindo dos cotilédones de *C. tocanthum*, que apresentaram canais em vez de cavidades. E também Oliveira (1999) encontrou na plúmula do embrião de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. cavidades.

A ausência de endosperma é comum em sementes de Leguminosae, pois durante o desenvolvimento do embrião, o endosperma é consumido por ele, e os cotilédones passam a servir como tecido de reserva (Gunn 1981; Bewley e Black 1994; Barroso et al. 1999). Como pode ser observado nas sementes da espécie aqui estudada.

Os testes histoquímicos detectaram a presença de compostos fenólicos na testa das sementes de *C. tocanthum*, estes compostos segundo Julio e Oliveira (2007) e Abud et al.

(2010) podem garantir ao tecido resistência e proteção contra herbívoros, microrganismos e causam coloração amarronzada em muitas sementes. Apesar de Loureiro et al. (2013) terem encontrado também compostos fenólicos na testa, na terceira camada de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith (Leguminosae-Papilionoideae), atribui a função destes compostos ao controle na absorção de água e Carvalho e Nakagawa (2000) a entrada de oxigênio para interior em algumas sementes.

Lipídios foram detectados nos cotilédones das sementes de *C. tocanthinum*, na forma insaturada, assim como em *Cenostigma pluviosum* var. *peltophoroides* (Benth.) E. Gagnon & G. P. Lewis (Corte et al. 2009). Segundo Corte et al. (2006) os lipídios armazenados nos cotilédones, caracteriza uma vantagem adaptativa à espécie, possibilitando as plântulas se desenvolverem em ambientes menos iluminados.

O amido ocorre em todo o mesofilo dos cotilédones, entretanto, em *Cenostigma pluviosum* var. *peltophoroides* (Benth. E. Gagnon & G. P. Lewis) ocorreu em pequena quantidade e de forma irregular (Corte et al. 2009). A presença deste carboidrato nas sementes de Leguminosae é uma importante característica taxonômica (Corte et al. 2006), uma vez que não ocorre com frequência em todas as espécies da subfamília, como em Papilionoideae (Hegnauer e Grayer-Barkmeij 1993).

As proteínas foram encontradas no mesofilo dos cotilédones de *C. tocanthinum*, assim como em *Cenostigma pluviosum* var. *peltophoroides* (Corte et al. 2009). Segundo Garcia et al. (2008) as sementes de *C. tocanthinum* apresentam tolerância a dessecação, dessa forma, a presença de proteínas nos cotilédones desta espécie pode estar ligada a essa resistência. De acordo com Barbedo e Filho (1998) algumas proteínas, tem participação fundamental no controle desse processo de dessecação, tanto adquirida naturalmente como em condições controladas.

Mucilagem e compostos fenólicos foram detectados nos canais secretores dos cotilédones de *C. tocaninum*. Porém, nos cotilédones de *Cenostigma pluviosum* var. *peltophoroides* (Corte et al. 2009) encontraram além de compostos fenólicos nas cavidades a presença de lipídios, proteínas e amido nas células epiteliais.

A presença de mucilagem e compostos fenólicos nestas estruturas secretoras, principalmente quando mista, confirma com o que foi descrito por Gregory e Baas (1989), onde mencionaram que as mucilagens são secreções mistas de natureza viscosa, constituída por heteropolissacarídeos ácidos e/ou neutros, substâncias fenólicas e proteínas, podendo ocorrer em todas as partes da planta. Dessa forma, de acordo com Machado e Rodrigues (2013), muitas células secretoras contêm mistura de substâncias em seu conteúdo e de acordo com Fahn (1982), a presença de canais de mucilagem tem sido encontrada em várias famílias.

Estas substâncias podem realizar diferentes funções, tais como, proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, retenção de água, armazenamento de carboidratos, redução da transpiração, proteção contra radiação e herbivoria, como adesivo na dispersão e regulação da germinação de sementes (Gregory e Baas 1989; Martini et al. 2003; Rocha et al. 2011).

2.5.Conclusão

As sementes de *Cenostigma tocaninum* apresentaram características morfológicas e anatômicas importantes para a distinção entre as espécies do gênero, como a presença de canais secretores, que até então só havia informações de cavidades.

2.6.Agradecimentos

Ao curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas-Botânica Tropical do Museu Paraense Emílio Goeldi/Universidade Federal Rural da Amazônia, pela infraestrutura e conhecimento adquirido durante o curso, e à FAPESPA/CAPES, pelo auxílio.

2.7.Referências

- Abud, H.F.; Gonçalves, N.R.; Reis, R.G.E.; Gallão, M.I.; Innecco, R. 2010. Morfologia de sementes e plântulas de cártamos. *Revista Ciência Agronômica*, 41(2): 259-265.
- Barbedo, C.J.; Filho, J.M. 1998. Tolerância à dessecação em sementes. *Acta botânica brasílica*, 12(2): 145-164.
- Barroso, G.M.; Morim, M.P.; Peixoto, A.L. Ichaso, C.L.F. 1999. *Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas*. Viçosa: UFV, 443p.
- Bewley, J.D.; Black, M. 1994. *Seeds: Physiology of development and germination*. New York: Plenum Press, 445p.
- Bitencourt, G.A.; Resende, U.M.; Favero, S. 2008. Descrição morfo-anatômica das sementes de *Senna occidentalis* (L.) Link. (Fabaceae-Caesalpinoideae) e *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). *Revista de Biologia e Farmácia*, 3(1): 38-44.
- Buckeridge, M.S.; Aidar, M.P.M.; Dos Santos, H.P.; Tiné, M.A.S. 2004. Acúmulo de reservas. In: Ferreira, A.G.; Borguetti, F. (Eds). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, p. 31-50.
- David, R.; Carde, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris, Série D*, v. 258, p. 1338-1340.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarternary Journal of Microscopy Science*, 88: 383-392.
- Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. 2000. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: Funep, 588p.
- Corner, E.J.H., 1951. The leguminous seed. *Phytomorphology*, 1: 117-150.

- Corte, V.B.; Borges, E.E.L.; Pontes, C.A.; Leite, I.T.A.; Ventrella, M.C.; Mathias, A.A. 2006. Mobilização de reservas durante a germinação das semente e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 30(6): 941-949.
- Corte, V.B.; Ventrella, M.C.; Lima e Borges, E.E.; Pontes, C.A.; Pinho, D. 2009. Histochemical and ultrastructural study of *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae) seeds. *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 33(5): 873-883.
- Costa, L.G.; Silva, A.G.; Gomes, D.R. 2014. Morfologia de frutos, sementes e plântulas, e anatomia das sementes de sombreiro (*Clitoria fairchildiana*). *Revista de Ciências Agrárias*, 57(4): 414-421.
- Fahn, A. 1982. *Plant anatomy*. 3. ed. New York: Pergamon. 544p.
- Ferreira, R.A.; Barretto, S.S.B. 2015. Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e mudas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lamarck). *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 39(3): 505-512.
- Fisher, D.B. 1968. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie*, 16: 92-96.
- Font-Quer, P. 2000. *Diccionario de Botánica*. Barcelona: Península. 1244p.
- Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44: 153-159.
- Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie, 1113p.
- Gagnon, E.; Bruneau, A.; Hughes, C.E.; De Queiroz, L.; Lewis, G.P. 2016. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). *Phyto Keys*. 71: 1-160.
- Ganter, P.; Jollés, G. 1969/1970. *Histologie normale et pathologique*. vol. 1-2. Gauthier-Villar: Paris.
- Garcia, L.C.; Moraes, R.P.; Lima, R.M.B. 2008. Determinação do Grau Crítico de Umidade em Sementes de *Cenostigma tocantinum* Ducke. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(3): 174-178.
- Gerlach, G. 1969. *Botanische Mikrotechnik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag: 344 p.
- Gregory, M.; Baas, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany*, 38: 125-174.
- Gunn, C.R. 1981. Seeds of Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. *Advances in legume systematics*. Royal Botanic Gardens, Kew. Part 2, p.913-925.
- Gunn, C.R. 1984. Fruits and seeds of genera in the subfamily Mimosoideae (Fabaceae). *Technical Bulletin, United States Department of Agriculture*, 1681: 194p.

- Gunn, C.R. 1991. Fruits and seeds of genera in the subfamily Caesalpinioideae (Fabaceae). *Technical Bulletin, United States Department of Agriculture*, 1755: 408p.
- Gurgel, E.S.C.; Silva, M.F.; Lucas, F.C.A.; Carreira, L.M.M.; Santos, J.U.M. 2014. Morfologia do fruto e da semente de três espécies de *Senna* Mill. (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Biota Amazônia*, Macapá, 4(2): 80-86.
- Harper, J.L.; Lovell, P.H.; Moore, K.G. 1970. The shapes and sizes of seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1: 327-356.
- Hegnauer, R.; Grayer-Barkmeije, R.J. 1993. Relevance of seed polysaccharides and flavonoids for the classification of the Leguminosae: a chemotaxonomic approach. *Phytochemistry*, 34(1): 3-16.
- Ilkiu-Borges, F.; Mendonça, M.S. 2009. Morfo-anatomia da semente de *Bauhinia monandra* Kurz. (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Sementes*, 31(4): 168-174.
- Jensen, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco: WH Freeman, 408p.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York, McGraw-Hill Book Company Inc., 523 p.
- Julio, P.G.S.; Oliveira, D.M.T. 2007. Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Styrax camporum* Pohl. (Styracaceae), espécie de cerrado do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(2): 189-203.
- Lillie, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3ed. McGraw Hill Co., New York, 715 p.
- Loureiro, M.B.; Teles, C.A.S.; Virgens, I. O.; Araújo, B. R. N.; Fernandez, L. G.; Castro, R. D. 2013. Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de sementes e plântulas de *Amburana cearensis* (FR. ALL.) A.C. Smith (Leguminosae-Papilionoideae). *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 37(4): 679-689.
- LPWG. 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, 66(1) 44-77.
- Machado, S.R.; Rodrigues, T.M. 2013. Estruturas secretoras internas. In: Evert, R.F. *Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento*, São Paulo, Blucher, 726p.
- Martin, A.C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. *The American Midland Naturalist*, 36: 513-660.
- Martini, M.H.; Lenci, C.G.; Tavares, D.Q. 2003. Mucilage pockets in cotyledon tissue of *Theobroma speciosum*. *Acta Microscopica*, 12: 65-69.

- Melo-Pinna, G.F.A.; Neiva, M.S.M.; Barbosa, D.C.A. 1999. Estrutura do tegumento seminal de quatro espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae), ocorrentes numa área de caatinga (PE-Brasil). *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, 22(3): 375-379.
- Mendonça, A.V.R.; Freitas, T.A.S.; Souza, L.S.; Fonseca, M.D.S.; Souza, J.S. 2016. Morfologia de frutos e sementes e germinação de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz, comb. Nov. *Ciência Florestal*, Santa Maria, 26(2): 375-387.
- Oliveira, D.M.T. 1999. Morfo-anatomia do embrião de leguminosas arbóreas nativas. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, 22(3): 413-427.
- Oliveira, O.M. de; Herrera, R.C.; Parry, M.M.; Oliveira, G.M. de; Herrera, J.A.; Santos, A.P.F. dos. 2014. Espécies botânicas utilizadas no artesanato comercializado na cidade de Altamira-PA. *Biota Amazônia*, 4(4): 1-5.
- O'Brien, T.P.; Feder, N.; Mc Cully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59: 367-373.
- Pearse, A.G.E. 1980. *Histochemistry theoretical and applied*: preparative and optical technology. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 439p.
- Rocha, J.F.; Pimentel, R.R.; Machado, S.R. 2011. Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. *Acta Botanica Brasilica*, 25(4): 751-763.
- Rodrigues, M.S.; Martins-Da-Silva, R.C.; Secco, R.S. 2012. Caesalpinieae (Leguminosae-Caesalpinioideae) do Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental, Município de Moju, PA, Brasil. *Hoehnea*, 39(3): 489-516.
- Silva, K.B.; Alves, E.U.; Bruno, R.L.A.; Matos, V.P.; Gonçalves, E.P. 2008. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas de *Erythrina velutina* Willd., Leguminosae-Papilionideae. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(3): 104-114.
- Silva, M.S.; Leite, K.R.B.; Saba, M.D. 2012. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Hymenaea martiana* Hayne (Caesalpinioideae-Fabaceae): espécie de uso medicinal em Caetité-BA. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, 14(4): 673-679.
- Silveira, R.; Lima, N. 1997. Importância quimiotaxonômica de compostos vegetais. *Revista RECCS*, Fortaleza, 9: 64-66.
- Stern, W.T. 1992. *Botanical latin*. History, grammar, syntax, terminology and vocabulary. New York: Hafner Publishing Company, 566p.
- Ventrella, M.C.; Almeida, A.L.; Nery, L.A.; Coelho, V.P.M. 2013. *Métodos histoquímicos aplicados às sementes*. Viçosa, MG: Ed. UFV, 40p.
- Vidal, B.C. 1970. Dichroism in collagen bundles stained with xylidine- Ponceau 2R. *Annales d'Histochemie*, 15: 229-254.

Warwick, M.C.; Lewis, G.P. 2009. A revision of *Cenostigma* (Leguminosae-Caesalpinioideae-Caesalpinieae), a genus endemic to Brazil. *Kew Bulletin*, 64: 135-146.



Figura 1. Morfologia da semente de *Cenostigma tocantinum* Ducke A) Sementes, B) Detalhes da testa e da rafe, C) Base com funículo, D) Hilo com resto de funículo, E, F) Eixo do embrião mostrando os cotilédones retos, G) Detalhe do embrião reto, H) Radícula exposta na base do cotilédone, I) Detalhe da plúmula com primórdios foliares e J) Margem serrilhada. Legenda: **fu**-funículo, **rf**-rafe. Barra: D, I = 1mm; B, C, E-H, J = 2mm.

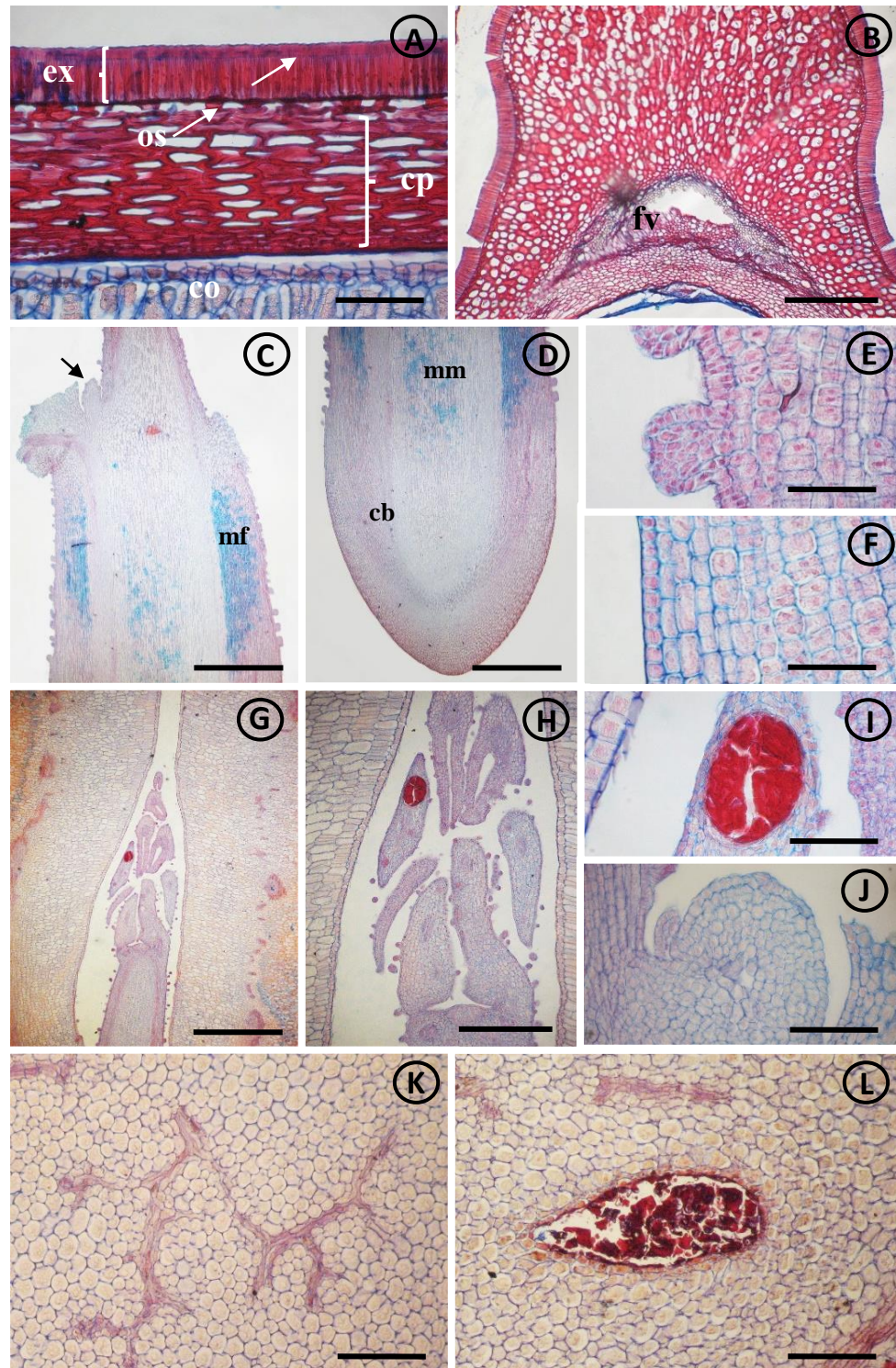


Figura 2. Secção longitudinal e transversal das sementes de *Cenostigma tocantinum* Ducke
 A) Testa evidenciando as camada e linha lúcida (seta), B) Feixe no mesofilo da testa, C) Epicótilo do embrião evidenciando gema axilar (seta), D) Hipocótilo-radícula do embrião, E e F) Detalhe da protoderme do embrião com tricomas e glabra, G) Vista geral da plúmula H) Detalhes da plúmula, I) Cavidade na plúmula, J) Detalhe da gema axilar do cotilédone, K) Cotilédone com feixes, L) Cotilédone com canal secretor. Legenda: **cb**-câmbio, **co**-cotilédone, **cp**-células parenquimáticas, **ex**-exotesta, **fv**-feixe vascular, **mf**-meristema fundamental, **mm**-meristema medular, **os**-osteosclereídes. Barra: A, E, F, I, J-L = 7µm; B, H = 30µm; C, D, G = 80µm.

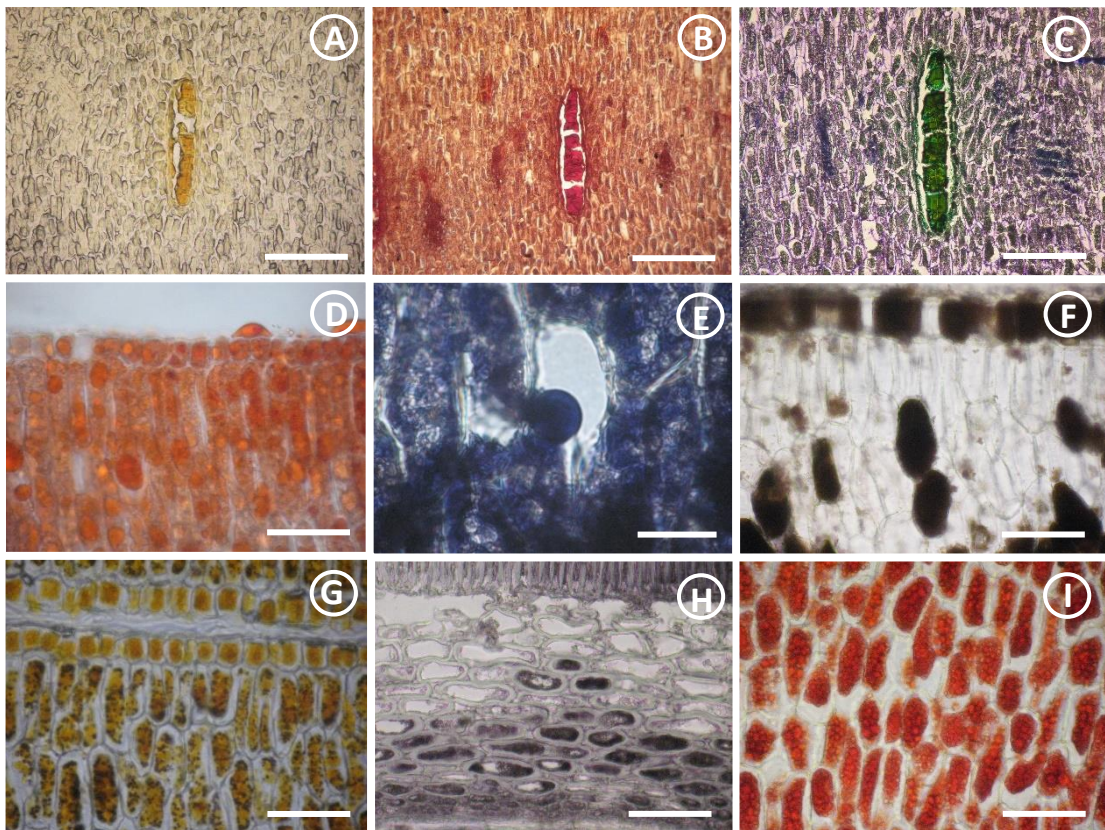


Figura 3. Teste histoquímico nas sementes de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) Teste em branco do cotilédone, B) Teste com vermelho de rutênio no canal secretor no cotilédone detectando mucilagem, B) Teste com azul de toluidinas revelando compostos fenólico, D e E) Cotilédones ricos em lipídios, F) Lipídios insaturados no cotilédone, G) Presença de grão de amido no mesofilo do cotilédone, H) Compostos fenólicos nas células parenquimáticas da última camada da testa e I) Proteínas nas células do cotilédone. Barra: A-D, G, H = 6 μ m; E, F = 4 μ m; I = 8 μ m.

3. Anatomia dos Eofilos e das Folhas de *Cenostigma tocantinum* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae)

SUZANE SILVA DE SANTA BRIGIDA, ELY SIMOME CAJUEIRO GURGEL,
FERNANDA ILKIU BORGES DE SOUZA

Resumo: Nativa do norte do Brasil, *Cenostigma tocantinum* é conhecida como pau preto ou pau pretinho, com habito arbustivo e arbóreo. É ornamental por apresentar uma bela floração e crescimento rápido, também utilizada na construção civil e como planta medicinal. Espécies do mesmo gênero são caracterizadas por apresentar cavidades secretoras. O estudo anatômico e morfológico de plântulas permite a descoberta de estruturas que podem desaparecer com o desenvolvimento da planta. Assim, o objetivo deste trabalho é descrever os eofilos da plântula e a folha no estágio adulto morfoanatomicamente e histoquimicamente, comparar as estruturas destes órgãos, além de fornecer informações mais detalhadas sobre as cavidades secretoras presentes. O material foi coletado em três matrizes e as sementes foram postas para germinar, visando a obtenção das plântulas. Em seguida foram processadas segundo as técnicas usuais em anatomia vegetal. Os folíolos nos dois estágios apresentaram epiderme semelhantes, com paredes anticlinais sinuosas, tricomas simples e estômatos paracíticos. O mesófilo é dorsiventral com cavidades secretoras. O feixe da nervura central e feixes menores são colaterais. Raque e pecíolo são arredondados com feixes colaterais concêntricos envolvidos por uma bainha esclerenquiática. Idioblastos cristalíferos estão na epiderme, parênquima e nas células dos feixes. Nos dois estágios foram detectados compostos fenólicos, flavonoides, lignina e amido. Dessa forma, conclui-se que os eofilos e as folhas da planta adulta de *C. tocantinum* não apresentaram diferenças significantes, entretanto, houve diferença quanto aos tricomas e nas cavidades secretoras foi detectado flavonoides.

Palavras Chaves: Cavidades. Folíolos. Pau pretinho. Plântula.

Abstract: Native to the north of Brazil, *Cenostigma tocantinum* is known as pau preto or pau pretinho, with shrub and arboreal habit. It is ornamental because it presents a beautiful flowering and fast growth, also used in construction and as a medicinal plant. Species of the same genus are characterized by presenting secretory cavities. The anatomical and morphological study of seedlings allows the discovery of structures that may disappear with the development of the plant. Thus, the objective of this work is to describe the eophylls of the seedling and leaf in the adult stage morphoanatomically and histochemically, to compare the structures of these organs, in addition to providing more detailed information on the present secretory cavities. The material was collected in three matrices and the seeds were put to germinate, aiming at obtaining the seedlings. After were processed according to the usual techniques in plant anatomy. The leaflets in the two stages presented similar epidermis, with sinuous anticlinal walls, simple trichomes and paracytic stomata. The mesophyll is dorsiventral with secretory cavities. The midrib bundle and smaller bundles are collateral. Rachis and petiole are rounded with concentric collateral bundles enveloped by a sclerenchymatic sheath. Crystalline idioblasts are in the epidermis, parenchyma and in the cells of the bundles. Phenolic compounds, flavonoids, lignin and starch were detected in both stages. Therefore, it was concluded that the eophylls and the leaves of the adult plant of *C. tocantinum* did not present significant differences, however, there was difference in the trichomes and in the secretory cavities flavonoids were detected.

Keywords: Cavities. Leaflets. Pau pretinho. Seedling.

3.1.Introdução

Cenostigama Tul. pertence à Leguminosae, Caesalpinioideae, tribo Caesalpinieae (Warwick & Lewis et al. 2009; Gagnon et al. 2016), e compreende 14 espécies neotropicais, nativas do Brasil, a maioria encontrada no centro e nordeste do país, e em uma parte da Amazônia (Gagnon et al. 2016).

Nativa do norte do Brasil, como Pará e Tocantins, *Cenostigma tocanthinum* Ducke (Gagnon et al. 2016) é conhecida popularmente como pau-preto ou pau-pretinho; em outras regiões como Bahia é chamada de inharé e em Goiás, cássia rodoviária ou mangiribá (Lorenzi 2002). Ocorre em floresta tropical seca, em mata de restinga, caatinga e semi-árido, pastagens arborizadas e floresta de terra firme, apresentando hábitos arbustivos e arbóreos de até 35 m de altura (Gagnon et al. 2016).

Por sua característica ornamental, tanto na beleza de sua floração quanto a aspectos favoráveis como tronco reto, crescimento rápido, copa frondosa, que proporciona sombreamento eficiente, sem a liberação de grande quantidade de folhas e sistema radicular pouco agressivo, vem sendo amplamente usada na arborização paisagística na região norte (Garcia et al. 2008) e na arborização de pastagens (Santos & Mitja 2011).

Além de sua importância ornamental, a espécie vem sendo explorada em floresta nativa no Estado do Pará nos últimos 10 anos na indústria madeireira (Pará 2016). A madeira é muito resistente, sendo indicada para a construção civil, para fabricação de caibros, vigas e ripas (Lorenzi 2002), suas sementes ainda são utilizadas na confecção de artesanato (Oliveira et al. 2014). Santos & Mitja (2011) relataram o uso da espécie como planta medicinal, entretanto, não informaram para qual ou quais enfermidades é usado, nem as partes utilizadas.

Estudos morfológicos e anatômicos de plântulas de Leguminosae tem sido desenvolvido por Oliveira & Beltrati (1992), Oliveira (1999, 2001), Moreira-Coneglian &

Oliveira (2006) e Oliveira et al. (2014), com o objetivo de auxiliar na taxonomia e no conhecimento das espécies. De acordo com os autores, estudos nesta fase podem permitir a descoberta de estruturas transitórias, que podem desaparecer com o desenvolvimento da planta, mas com importância para se reconhecerem relações filogenéticas entre os grupos em que os órgãos adultos apresentem essas estruturas.

Desta forma, Moreira-Coneglian e Oliveira (2006), ao compararem os eofilos de *Copaifera langsdorffii* Desf. com os metafilos da espécie descritos por Morretes (1996), verificaram presença e ausência de estruturas significantes entre os dois estádios de crescimento, ocorrentes nos eofilos e ausentes na fase adulta, verificando variações entre os dois estágios. Destacando que essas variações podem registrar estruturas transitórias, ocorrentes nos eofilos e ausentes no indivíduo adulto, podendo inferir relações filogenéticas relevantes na espécie.

O gênero *Cenostigma* é caracterizado por apresentar pontos opacos na face abaxial das folhas (Warwick & Lewis 2009; Gagnon et al. 2016). De acordo com Metcalfe & Chalck (1950) estes pontos são cavidades secretoras taníferas. Lersten & Curtis (1996) ao estudarem as estruturas secretoras ocorrentes no gênero, verificaram a presença destas cavidades em *C. macrophilum* Tul. e *C. tocanthinum*, que segundo Gagnon et al. (2016) nunca foram estudadas em detalhes quanto as substâncias presentes.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é descrever os eofilos da plântula e a folha no estágio adulto morfoanatomicamente e histoquimicamente, comparar as estruturas destes órgãos, além de fornecer informações mais detalhadas sobre as cavidades secretoras presentes.

3.2. Material e métodos

Folhas e frutos foram coletados de três matrizes de *Cenostigma tocantinum* localizadas no *Campus* de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG. Uma amostra foi retirada para confecção de exsicata, em seguida incorporada ao Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi (MG) sob o número de registro MG-228324.

Os frutos de cada matriz foram separados, em seguida, retiradas as sementes à mão e as que estavam com algum tipo de injúria foram descartadas. Em seguida as sementes foram semeadas em substrato areia com serragem (1:1). Este substrato foi previamente umedecido e esterilizado em micro-ondas por três minutos, após esse processo foi resfriado em temperatura ambiente por 3 horas. Após resfriar foi colocado em bandejas plástica de 80 x 40 x 20 cm, dispostas sobre bancada de madeira de 1 x 1 x 5 m, localizadas em área coberta com sombrite a 50%, no horto botânico Jacques Huber, da Coordenação de botânica do Museu Emílio Goeldi. O semeio foi feito em profundidade de 0,5 cm, irrigado uma vez por dia até o estágio de plântula, em seguida foram coletadas para as análises.

Para a anatomia, os eófilos das plântulas e as folhas das plantas adultas foram seccionadas na região mediana (nervura central, margem, raque e pecíolo) e posteriormente fixados em FAA (Formaldeído, Ácido acético, Álcool etílico 50%) (Johansen 1940) por 24 horas e FNT (Formalina Neutra Tamponada) (Lillie 1965), 48hs, em seguida lavadas em águas destilada e estocados em álcool etílico 70%. As secções destinadas a inclusão em Parafina, passaram pela série alcoólica butílica terciária crescente (Johansen 1940). As secções transversais e longitudinais foram obtidas com auxílio de micrótomo rotativo (Leica® RM 2245), em seguida corados com Azul de Astra e Safranina (Gerlach 1969) e montadas lâminas permanentes.

Para a dissociação da epiderme frações menores da nervura central e margem dos folíolos dos eófilos e das folhas da planta adulta foram seccionadas com auxílio de lamina de aço e clarificadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio (1:1), lavadas com água destilada e coradas com safranina (Gerlach 1969). A montagem foi feita em glicerina diluída a 50 %, entre lâminas e lamínulas, isolando as bordas com esmalte incolor, segundo Purvis et al. (1964).

Para os testes histoquímicos, secções transversais dos folíolos, raque e pecíolo dos eófolos e das folhas dos indivíduos adultos, foram seccionados a mão livre. Para a detecção de amido foram submetidas a solução de lugol (Johansen 1940) e Wagner (Furr & Mahlberg 1981). Para identificação de lipídios em Sudan III (Pearse 1980) e Sudan Black B (Jensen 1962).

Para compostos fenólicos gerais foi utilizado cloreto férrico (Johansen 1940), dicromato de potássio (Gabe 1968) e azul de toluidina (O'Brien et al. 1964), e flavonoides cloreto de alumínio (Charrière-Ladreix 1976), para tanino foi usado vanilina clorídrica e para detecção de lignina, floroglucinol acidificado (Johansen 1940).

Alcaloides detectado utilizando-se reagente de Dragendorff (Furr & Mahberg 1981) e Wagner (Svendsen & Verpoorte 1983), para terpenos reagente de NADI (David & Carde 1964) e 2,4-dinitrofenilhidrazina (Ganter & Jollés 1970). Para mucilagem foram utilizados os reagentes vermelho de rutênio (Gregory & Baas 1989) e azul de alcão (Pearsen 1985).

As fotomicrografias foram obtidas através de câmera digital Canon Power Shot A640 acoplada ao microscópio óptico modelo Axiolab Zeiss.

Para o estudo em microscopia de fluorescência, o material foi tratado com cloreto de alumínio (Charrière-Ladreix 1976) para a identificação de flavonóides. A análise foi realizada em microscópio de epifluorescência (modelo Nikon Eclipse 80i) equipado com filtro UV, no Laboratório de Genômica Funcional e Biotecnologia, da UFPA.

As amostras para a Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV, previamente fixadas, foram desidratadas em série etílica, processadas em secador de ponto crítico de CO₂ e metalizado com ouro (camada com aproximadamente 20 nm de espessura) em corrente de 25 mA. As eletromicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura modelo LEO 1450 VP.

3.3.Resultados

Os eofilos nas plântulas são dois, subopostos (opostos), paripinados, com dois a três pares de folíolos opostos, subsésseis, concolores, ambas as faces opacas, glabras, com tricomas simples apenas nas nervuras primárias da face adaxial e margem, prefolheação valvar, nervação broquidódroma, lanceolada, com pontos opacos visível na superfície inferior dos eofilos, ápice acuminado, margem inteira e base obtusa. Raque e pecíolo com tricomas curtos e simples, e glandulares (Fig. 1).

As folhas de *C. tocanthinum* são compostas, com três a cinco (sete) pares de folíolos opostos, ovados, ovados-elípticos, elípticos, com superfície brilhante, glabra em ambas as faces, com tricomas apenas nas nervuras primárias na face adaxial e na margem próximo ao ápice. Folíolos com ápice mucronado acuminado, base obtusa, arredondada e venação broquidódroma, com pontuação visível na face abaxial dos folíolos. Raque e pecíolo com tricomas curtos e simples, e estrelados.

Os caracteres anatômicos nas secções paradérmicas, transversais e longitudinal das folhas e eofilos de *C. tocanthinum* podem ser observados nas figuras 2 a 5.

A epiderme dos folíolos dos eofilos e folíolos da planta adulta em vista frontal, apresentaram células de contorno sinuoso e parede delgada em ambas as faces (Fig. 2b, d, e), as células da nervura são heterodimencionais, com paredes anticlinais retas com tricomas

tectores unicelulares com ápice afilado (Fig. 2a, c), presentes apenas na face adaxial, restrito aos bordos. Os estômatos do tipo paracítico ocorrem somente na face abaxial, em ambos os estágios (Fig. 2b, e).

A nervura central em seção transversal, é levemente côncava na face adaxial e convexa na abaxial, a epiderme de ambas as faces dos folíolos dos eofilos e folha no estágio adulto é unisseriada (Fig. 3a, 4a), com células redondas no centro com cutícula espessada e tricomas tectores unicelulares na face adaxial (Fig. 3a, 4b). A face abaxial com cutícula espessada, células redondas e pequenas (Fig. 3a, b, 4a).

No mesofilo da nervura as células são parenquimáticas em ambas as faces, o parênquima paliçádico voltado para face adaxial não é contínuo sendo interrompido pelo parênquima fundamental (Fig. 3a, 4b). A face abaxial desta nervura é formada por duas a quatro camadas de células no folíolo e três a cinco no folíolo do eofilo, apresentando cavidades secretoras envolvidas por finas células epiteliais e no lúmen está presente uma substância escura e densa (Fig. 3b, 4c).

O feixe vascular colateral presente na nervura central é menor e pouco desenvolvido no folíolo do eofilo, no folíolo da planta adulta este feixe é maior e mais desenvolvido, com duas extensões de floema (Fig. 3a, 4a). Nos dois estágios os feixes estão circundados por uma bainha esclerenquimática.

O mesofilo da região intermediária dos folíolos nos dois estágios apresenta epiderme hipoestomática, epiderme unisseriada em ambas as faces, parede periclinal externa reta na face adaxial e abaxial do folíolo adulto, enquanto que no eofilo é levemente curva (Fig. 3d, 4g). O mesofilo é dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico voltado para a face adaxial, alongado ocupando quase que a metade do mesofilo, o lacunoso apresentando de três a quatro fileiras de células nos folíolos, enquanto nos folíolos dos eofilos com três a cinco

fileiras de células. O parênquima paliçádico nos eófilos são mais curtos e com espaços intercelulares maiores (Fig. 3d, 4e).

Os feixes vasculares do tipo colateral menores estão envolvidos por uma bainha (bainha do feixe) e uma extensão dessa bainha que toca a epiderme adaxial nos folíolos da plântula. No folíolo da planta adulta esta extensão de bainha toca a epiderme abaxial (Fig. 3d, 4g).

As cavidades secretoras são envolvidas por finas células epiteliais e no lúmen está presente uma substância escura e densa, encontram-se no mesofilo dos folíolos dos eófilos e das folhas nos estádios adulto (Fig. 3e, 4e).

A margem dos folíolos do eófilo e folíolos apresentaram epiderme unisseriada, com cutícula espessada e papilosa nos folíolos da planta adulta, porém na epiderme dos folíolos dos eófilos a epiderme apresentou tricomas e cutícula é fina. (Fig. 3f, 4f).

A raque e o pecíolo apresentaram formato cilíndrico com superfície ondulada (Fig. 3g, k, 4h, l), a epiderme em seção transversal é unisseriada, apresentando cutícula espessada, tricomas tectores unicelulares nos dois estágios (Fig. 3g, l, m, 4i, m). No pecíolo da folha adulta foi observado também a presença de tricomas estrelados (Fig. 4o), e na raque e pecíolo do eófilo ocorreram tricomas do tipo glandular multicelular pedunculado, incluindo os tectores (Fig. 5a, b, c). Estômatos foram observados na raque e pecíolo dos eófilos e somente na raque do folíolo (Fig. 3h, l, 4i, 5d).

Nos dois estágios de crescimento as células epidérmicas da raque e pecíolo são arredondadas, de paredes anticlinais e periclinais curvas (Fig. 3g, l, 4i, m). A região cortical é parenquimática, maior na raque e pecíolo da folha adulta, e nesta região encontram-se diversas cavidades secretoras (Fig. 3i, m, 4h, n). O feixe vascular é formado por vários feixes colaterais dispostos em círculo, envolvido por uma bainha esclerenquimática espessa e lignificada (Fig. 3g, 4h, l), porém, no pecíolo do eófilo a bainha não chega a se fechar (Fig.

3k). A região medular da raque e pecíolo é formada por numerosas células parenquimáticas arredondadas e poligonais de paredes finas e nos eofilos essa região é menor (Fig. 3g, k, 4h, l).

Cristais em forma de drusas foram observados nas células do floema da nervura central, raque e pecíolo nos eofilos (Fig. 3c, j, n), enquanto que nas folhas, estão nas células esclerenquimáticas entre os feixes de floema na nervura central, raque e pecíolo (Fig. 4d, k, p), além disso, por toda a extensão do mesofilo, como células da epiderme abaxial, parênquima paliçádico e na bainha que circunda o feixe na margem da lâmina foliolar (Fig. 4g).

Os testes histoquímicos realizados nos folíolos dos eofilos e da folha em estágio adulto foram positivos para compostos fenólicos, lignina, flavonóides e amido (Tabela 1).

Compostos fenólicos totais foram evidenciados nas cavidades secretoras presentes nos eofilos e folíolos (Fig. 6a-c, 7e), nas células parenquimáticas da região cortical do pecíolo do efilo (Fig. 6d), enquanto que nos folíolos os compostos fenólicos totais estão distribuídos no mesofilo da nervura central (Fig. 7a), nas células parenquimáticas da região cortical e medular da raque e pecíolo (Fig. 6b, c, d). Teste específico identificou que o composto fenólico nas cavidades são flavonoides (Fig. 6e, 7f).

Lignina foi detectada na nervura central, raque e pecíolo, circundando os feixes vasculares nos dois estágios (Fig. 6k-m, 7h, i).

Grãos de amido ocorreram na região cortical e medular da raque e pecíolo no efilo (Fig. 6f-j), enquanto que nos folíolos da planta em estágio adulto, foram observados apenas na região medular (Fig. 6j).

Tabela 1: Resultados das principais classes de metabólitos nos eófilos e folhas em estágio adulto.

Grupos metabólicos	Reagente	Resultado
Lipídios totais	Sudan III	-
	Sudan Black B	-
Fenólicos gerais	Cloreto férrico	+
	Azul de toluidina	+
	Dicromato de potássio	+
Tanino	Vanilina clorídrica	-
Flavonoides	Cloreto de alumínio	+
Lignina	Floroglucinol	+
Alcalóides	Dragendorff	-
	Wagner	-
Terpenos	NADI	-
	2,4-dinitrofenilhidrazina	-
Amido	Lugol	+
	Wagner	+
Mucilagem	Vermelho de rutênio	-
	Azul de alcião	-

3.4.Discussão

As folhas e os eófilos de *Cenostigma tocantinum* apresentaram algumas características morfológicas semelhantes, como ápice mucronado, base obtusa, venação broquidódroma e superfície inferior da epiderme pontuada, concordando com Warwick & Lewis (1990) e Gagnon et al. (2016) ao descreverem *Cenostigma*, mostraram que estas características, principalmente as pontuações já estão presentes na espécie desde o estágio de plântula.

A epiderme do folíolo do eófilo e da folha apresentaram em ambas as faces paredes anticlinais sinuosas. A sinuosidade das paredes foi descrita por Moreira-Coneglian & Oliveira (2006) para sete espécies de plântulas de Caesalpinioideae, destas espécies, *Copaifera langsdorffii* Dest. apresentou sinuosidade igual nos dois estágios, como verificado por Morretes (1996) e Moreira-Coneglian & Oliveira (2006). Porém, Moraes & Paoli (1999), não consideram esta informação para fins taxonômicos, pelo fato de ocorrer variação em uma mesma espécie.

Na epiderme dos eófilos e folíolos foram observados apenas estômatos paracíticos, concordando com Metcalfe & Chalk (1950) e Watson (1981) para Caesalpinioidea, comumente encontrados apenas na face abaxial.

Os estômatos nos eófilos estão presentes na raque e pecíolo, porém, nas folhas adultas apenas na raque, de acordo com Esau (1976), a epiderme da raque por ser uma extensão do pecíolo tem as mesmas características.

Tricomas tectores e estrelados foram observados na folha adulta de *C. tocantinum*, Lersten & Curtis (1996) e Warwick & Lewis (2009), também observaram estes tricomas em *Cenostigma macrophyllum* Tul.. Porém Metcalfe & Chalk (1950) e Barroso (1984), citam que além de tricomas tectores, há presença de tricomas ramificados nas folhas de *Cenostigma*, o que não foi observado nos eófilos nem na folha adulta.

Os tricomas glandulares multicelular foram observados apenas nos eófilos de *C. tocantinum*, Gagnon et al. (2016) mencionaram que algumas espécies de *Caesalpinieae*, incluindo *Cenostigma* apresentam tricomas glandulares multicelulares no caule, folhas e inflorescência. A ausência desta estrutura nos folíolos da planta adulta concorda com Moreira-Coneglian & Oliveira (2006), ao compararem os eófilos e as folhas da planta adulta de *Copaifera langsdorffii*, podendo ocorrer ausência de estruturas em alguma destas fases.

O mesófilo é dorsiventral tanto nos folíolos adulto quanto nos folíolos dos eófilos, porém o parênquima paliçádico nos eófilos apresentam espaços intercelulares maiores em relação aos dos folíolos em estágio adulto. De acordo com Esau (1976) o mesófilo das primeiras folhas é menos diferenciado do que as subseqüentes, principalmente em relação ao parênquima paliçádico.

Os feixes vasculares da nervura central nos dois estágios estão envolvidos por uma bainha esclerenquimática fibrosa, concordando com o que foi descrito por Metcalfe & Chalk (1950) para Caesalpinioideae.

Os feixes presentes no mesofilo dos eofilos e folíolos apresentam fibras visíveis, com uma bainha e extensão de bainha tocando a epiderme em ambos os estágios. De acordo com Esau (1976), estes feixes menores estão envolvidos por uma bainha do feixe, e estas são ligadas a epiderme por um conjunto de células que são as extensões de bainha. Segundo Watson (1981), estes feixes menores em Caesalpinioideae geralmente são acompanhados de fibras e que há variação quanto à ligação com a epiderme.

Feixes vasculares envolvidos por uma bainha esclerenquimática foram observados na raque e pecíolo, semelhantes nos estágios de plântula e adulto, porém essa bainha que circunda os feixes do pecíolo dos eofilos não se fecha completamente, isso talvez se deva ao estágio de diferenciação, porque no adulto a bainha está fechada. Metcalfe & Chalk (1950) e Fahn (1982) descreveram para as dicotiledôneas este tipo de arranjo, destacando que esta característica pode ter aplicação taxonômica.

As estruturas secretoras encontradas nos eofilos e folhas adultas foram idioblastos e cavidades. A presença de idioblastos contendo cristais foram encontrados na epiderme, nas células do parênquima paliçádico e nos feixes vasculares da raque e pecíolo da folha adulta, concordando com que foi descrito por Metcalfe & Chalk (1950), eles citaram que é comum a presença de cristais no mesofilo contribuindo na diferenciação de Caesalpinioideae das demais subfamílias, estão principalmente associados aos feixes, mas também podem ocorrer no parênquima paliçádico, como em *Eperua*, *Macrobobium*, *Tachigalia* e *Tamarindus*. Zindler-Frank (1987), mencionou que cristais em forma de drusas ocorrem frequentemente em Caesalpinioidea, e podem estar presentes no mesofilo, principalmente no parênquima paliçádico, associado ou não com cristais solitários e estes muitas vezes acompanham os feixes ou inseridos nas células epidérmicas, como foi observado em *C. tocaninum*.

As cavidades secretoras presentes nos eofilos e nas folhas da planta adulta foram também relatadas por Lersten & Curtis (1994,1996) ao estudarem as estruturas secretoras de

Caesalpineae, eles encontraram cavidades em algumas espécies de *Cenostigma*, incluindo *C. macrophyllum* e *C. tocaninum*, com ampla distribuição na folha, segundo Gagnon et al. (2016) estas cavidades apresentam valor taxonômico para o gênero.

Essas cavidades secretoras presente nas folhas do gênero foram identificados por Metcalfe & Chalk (1950), como cavidades secretoras taníferas, que são responsáveis por causar os pontos opacos presentes nas folhas, entretanto para *C. tocaninum* o conteúdo presente nestas estruturas são flavonoides, observado a partir dos testes histoquímicos.

Algumas espécies de *Cenostigma* também apresentaram flavonoides, tais como *C. macrophyllum*, *C. pyramidale*, *C. pluviosum* var. *peltophoroides* (Sousa et al. 2007, Bahia et al. 2010, Alves et al. 2012, Paz et al. 2014, Zanin et al. 2015) identificados através de testes fitoquímicos. Como estes testes foram realizados a partir de extração alcóolica, não há como saber em qual tecido e estruturas secretoras este metabólito está localizado nas folhas das espécies estudadas, porém sabe-se que ocorrem flavonoides no gênero.

Idioblastos fenólicos foram encontrados nos eófilos e na folha adulta, porém apenas no parênquima cortical do pecíolo dos eófilos, e nas folhas da planta adulta, eles estão distribuídos por todos os tecidos parenquimáticos do pecíolo, raque e nervura central, assim, estando mais distribuídos na folha adulta. Desta forma, Gobbo-Neto & Lopes (2007), mencionaram que vários fatores podem influenciar no conteúdo de metabólitos secundários, inclusive idade e o desenvolvimento da planta, assim como dos diferentes órgãos vegetais.

Assim como em *C. tocaninum*, Moreira-Coneglian & Oliveira (2006), Oliveira et al. (2014), também observaram compostos fenólicos nas células do mesófilo nos eófilos de algumas espécies de Leguminosae. Para Fahn (1990), os idioblastos fenólicos são de ocorrência generalizada na família.

Os compostos fenólicos atuam na defesa contra herbívoros, patógenos, radiação ultravioleta e possuem ação alelopática (Taiz & Zeiger 2004). Como as plântulas apresentam

uma pequena distribuição destes metabólitos, elas podem estar vulneráveis e indefesas. Além da importância ecológica, os compostos fenólicos podem apresentar propriedades medicinais em diversas plantas (Di Stase & Hiruma-Lima 2002).

Outro metabólito presente nos eófilos e folha adulta foi a lignina, presente na bainha esclerenquimática que circunda os feixes. A ocorrência deste metabólito tanto nos eófilos quanto nas folhas concorda com Taiz & Zeiger (2004), onde mencionaram que a lignina está ligada a celulose e a outros polissacarídeos da parede celular, assim é encontrada em maior abundância nas plantas, proporcionando suporte mecânico e proteção.

Grãos de amido estão presentes nas células corticais e medulares do pecíolo e raque nos eófilos e folhas de *C. tocanthum*, a ocorrência deste carboidrato está ligado a sua síntese, pois de acordo com Buckeridge et al. (2004) o amido é sintetizado nas folhas e translocado para os órgãos de reserva.

A presença de amido em plântulas também foi abordado por Ilkiu-Borges (2005), em *Buhinia monandra* Kurz, assim como no pecíolo e raque de *Pterodon pubescens* por Rodrigues & Machado (2004) e *Hymenaea martiana* Hayne por Silva et al. (2012), segundo estes autores a presença de amido nestas regiões indica que a principal função do parênquima é a de reserva.

Conclui-se que os eófilos e as folhas da planta adulta de *C. tocanthum* não apresentaram diferenças morfológicas significantes, entretanto, anatomicamente houve diferença quanto aos tricomas e nas cavidades secretoras foi detectado flavonoides.

3.5.Agradecimento

Ao curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas-Botânica Tropical do Museu Paraense Emílio Goeldi/Universidade Federal Rural da Amazônia, pela infraestrutura e conhecimento adquirido durante o curso, e à FAPESPA/CAPES, pelo auxílio.

3.6.Referências

- ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; VILLAREAL, C.F.; SOARES, M.B.P; QUEIROZ, L.P. & AGUIAR, R.M. 2012. Flavonoids and other bioactive phenolics isolated from *Cenostigma macrophyllum* (Leguminosae). *Química Nova*, v. 35, n. 6, p. 1137-1140.
- BAHIA, M.V.; DAVID, J.P. & DAVID, J.M. 2010. Occurrence of biflavones in leaves of *Caesalpinia pyramidalis* specimens. *Química Nova*, v. 33, n. 6, p. 1297-1300.
- BARROSO, G.M. 1984. Sistematica de Angiospermas do Brasil, Universidade Federal de Viçosa, v. 2, p. 1-377.
- BUCKERIDGE, M.S.; AIDAR, M.P.M.; DOS SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S. 2004. Acúmulo de reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. (Eds). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, p. 31-50.
- CHARRIÈRE-LADREIX, Y. 1976. Répartition intracellulaire du secrétat flavonique de *Populus nigra* L. *Planta*, v. 129, p. 167-174.
- DAVID, R. & CARDE, J.P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris, Série D*, v. 258, p. 1338-1340.
- DI STASE, L.C. & HIRUMA-LIMA, C.A. 2002. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2. ed. revista e ampliada-São Paulo: Editora UNESP, p. 1-604.
- ESAU, K. 1976. Anatomia das plantas com sementes. São Paulo: Edgard Blucher, p.1-293.
- FAHN, A. 1982. Plant anatomy. 3.ed. New York : Pergamon, p.1-544.
- FAHN, A. 1990. Plant anatomy. 4 ed. Pergamon Press, Oxford, p.1-588.
- FURR, M. & MAHLBERG, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, v. 44, p. 153-159.
- GABE, M. 1968. Techniques histologiques. Paris: Masson & Cie, p. 1-1113.

- GAGNON, E.; BRUNEAU, A.; HUGHES, C.E.; QUEIROZ, L. & LEWIS, G.P. 2016. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). *PhytoKeys*, n. 71, p. 1-160.
- GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969. *Histochimie normale et pathologique*. Paris: Gauthier-Villars, v. 1. p. 1-1904.
- GARCIA, L.C.; MORAES, R.P. & LIMA, R.M.B. 2008. Determinação do Grau Crítico de Umidade em Sementes de *Cenostigma Tocantinum* Ducke. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 30, n. 3, p. 174-178.
- GERLACH, G. 1969. *Botanische Mikrotechnik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag: p. 1-344.
- GOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química. Nova*, v. 30, n. 2, p. 374-381.
- GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany*, v. 38, p. 125-174.
- ILKIU-BORGES, F. 2005. Morfo-anatomia de sementes e órgãos vegetativos em três estádios de desenvolvimento de *Bauhinia monandra* Kurz (Leguminosae Caesalpinioideae) como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas na região amazônica. Tese de doutorado, Universidade do Amazonas, Amazonas.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco: WH Freeman, p. 1-408.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York, McGraw-Hill Book Company Inc., p. 1-523.
- LERSTEN, N.R. & CURTIS, J.D. 1994. Leaf anatomy in *Caesalpinia* and *Hoffmannseggia* (Leguminosae, Caesalpinioideae) with emphasis on secretory structures. *Plant Systematics and Evolution*, v. 192, p. 231-255.
- LERSTEN, N.R. & CURTIS, J.D. 1996. Survey of leaf anatomy, especially secretory structures, of Tribe Caesalpinieae (Leguminosae; Caesalpinioideae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 200, n. 1-2, p. 21-39.
- LILLIE, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3ed. McGraw Hill Co., New York, p. 1-715.
- LORENZI, H. 2002. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. v.2. p. 1-382.
- METCALFE, C.F. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon Press, v. 1, p. 1-724.

- MORAES, P.L.G. & PAOLI, A.A.S. 1999. Epiderme e padrão de venação foliar de espécies de Lauraceae. *Acta Botanica Brasílica*, v. 13, n. 1, p. 87-97.
- MORRETES, B.L. 1967. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado II. *Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da USP, São Paulo*, v. 22, p. 209-244.
- MOREIRA-CONEGLIAN, I.R. & OLIVEIRA, D.M.T. 2006. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 29, n. 2, p. 193-207.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, v. 59, p. 367-373.
- OLIVEIRA, D.M.T. 1999. Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de Leguminosae. *Acta Botânica Brasílica*, v. 13, n. 3, p. 263-269.
- OLIVEIRA, D.M.T. & BELTRATI, C.M. 1992. Morfologia e desenvolvimento das plântulas de *Inga fagifolia* e *I. uruguensis*. *Turrialba, San José*, v. 42, n. 3, p. 306-313.
- OLIVEIRA, D.M.T. 2001. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. *Revista Brasileira de Botânica, São Paulo*, v. 24, n. 1, p.85-97.
- OLIVEIRA, J.H.G.; IWAZAKI, M.C. & OLIVEIRA, D.M.T. 2014. Morfologia das plântulas, anatomia e venação dos cotilédones e eofilos de três espécies de Mimosa (Fabaceae, Mimosoideae). *Rodriguésia*, v. 65, n.3, p. 777-789.
- OLIVEIRA, O.M. de; HERRERA, R.C.; PARRY, M.M.; OLIVEIRA, G.M. de; HERRERA, J.A. & SANTOS, A.P.F. dos. 2014. Espécies botânicas utilizadas no artesanato comercializado na cidade de Altamira-PA. *Biota Amazônia*, v. 4, n. 4, p. 1-5.
- PARÁ. 2016. Secretaria Estadual de Meio Ambiente. Extração e movimentação de toras de Madeira nativa. Disponível em: <<file:///C:/Users/SUZANE/Downloads/Extracao%20e%20Comercio%20de%20Toras%20de%20Madeira%20Nativa%20por%20Municipio%20consolidado.pdf>>. (Accessed 2017 Set 29).
- PAZ, W.H.P.; SANTOS, R.P. & LIMA, F.L. 2014. Prospecção preliminar fitoquímica e avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos de *Cenostigma macrophyllum* Tul. *Boletim Informativo Geum*, v. 5, n. 4, p. 52-59.
- PEARSE, A.G.E. 1980. *Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology*. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingston, p. 1-439.
- PURVIS, M.; COLLIER, D. & WALLS, D. 1964. *Laboratory techniques in botany*. London, Butterworths.
- RODRIGUES, T.M.; MACHADO, S.R. 2004. Anatomia comparada do pulvino, pecíolo e raque de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae-Faboideae). *Acta Botânica Brasílica*, v. 18, n. 2, p. 381-390.

SANTOS, A.M. dos; MITJA, D. 2011. Pastagens arborizadas no projeto de Assentamento Benfica, município de Itupiranga, Pará, Brasil. *Revista Árvore*, v. 35, n. 4, p. 919-930.

SILVA, M.S.; LEITE, K.R.B.; SABA, M.D. 2012. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Hymenaea martiana* Hayne (Caesalpinioideae-Fabaceae): espécie de uso medicinal em Caetité-BA. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v.14, n.4, p.673-679.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR., G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S. & CHAVES, M.H. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, v. 30, n. 2, 351-355.

SVENDSEN, A.B. & VERPOORTE, R. 1983. *Chromatography of alkaloids*. Elsevier Scientific Publish Company, Amsterdam and New York, p. 1-503.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 2004. 3 ed. Porto Alegre. Artmed, p. 1-719.

WATSON, L. 1981. An automated system of generic descriptions for Caesalpinioideae, and its application to classification and Key-making. In: Polhill, R.M. & Raven, P.H. (ed.) *Advances in legume systematics*. Kew: Royal Botanic Gardens, part. 1, p. 65-80.

WARWICK, M.C. & LEWIS, G.P. 2009. A Revision of *Cenostigma* (Leguminosae-Caesalpinioideae -Caesalpinieae), a genus endemic to Brazil. *Kew Bulletin*, v. 64, p. 135–146.

ZANIN, J.L.B.; MASSONI, M.; SANTOS, M.H.; FREITAS, G.C.; NIERO, E.L.O.; SCHEFER, R.R.; LAGO, J.H.G.; IONTA, M. & SOARES, M.G. 2015. Caesalpinioflavone, a New Cytotoxic Biflavonoid Isolated from *Caesalpinia pluviosa* var. *peltophoroides*. *Journal Brazilian Chemistry Society*, v. 26, n. 4, p. 804-809.

ZINDLER-FRANK E. 1987. Calcium oxalate crystals in legumes. In STIRTON, C.H. *Advances in legume systematics*, part 3, p. 279-316. Royal Botanical Gardens, Kew, UK.

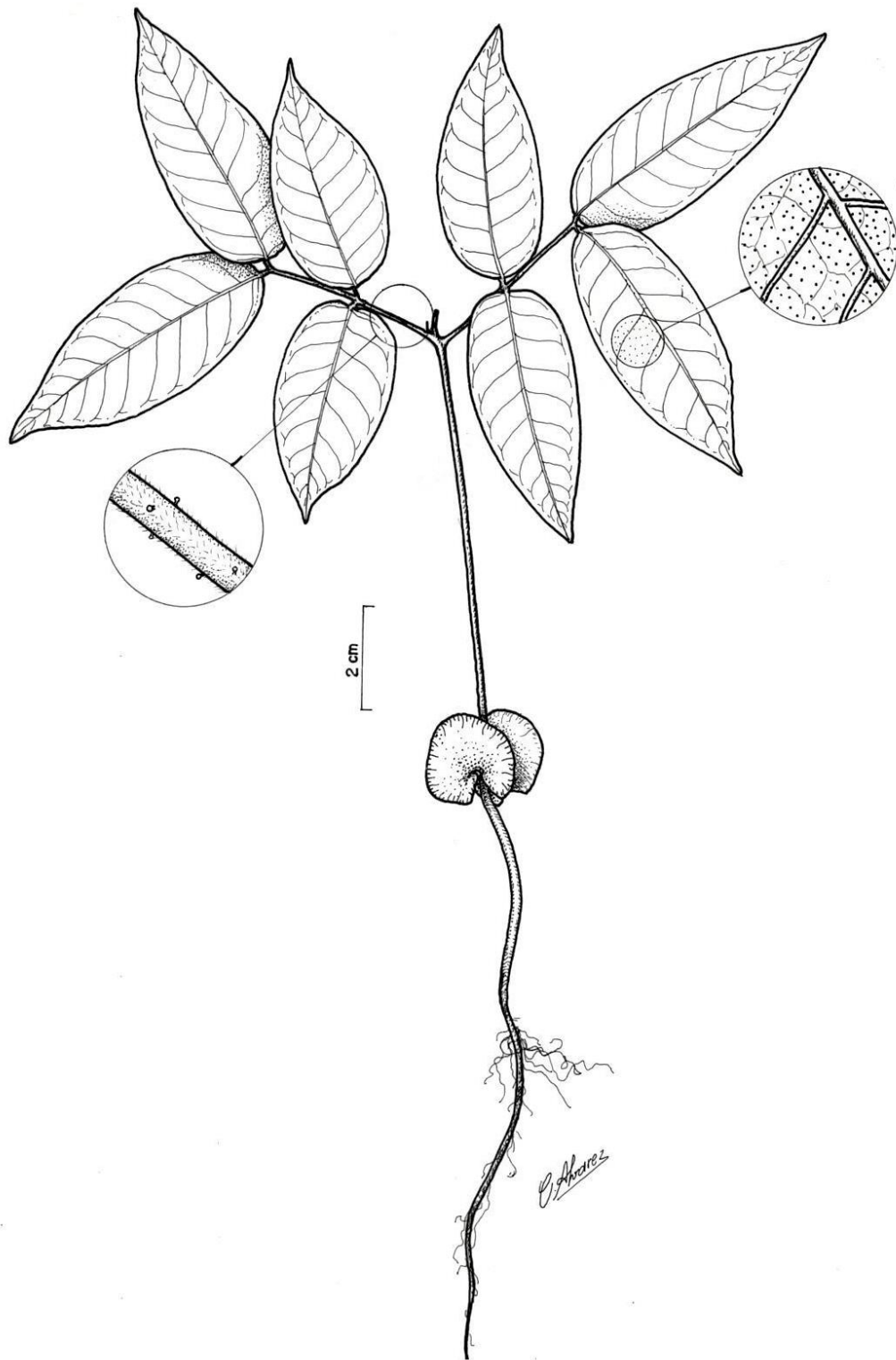


Figura 1: Plântula de *Cenostigma tocantinum* Ducke evidenciando tricomas glandulares no pecíolo e pontuações nos eófilos.

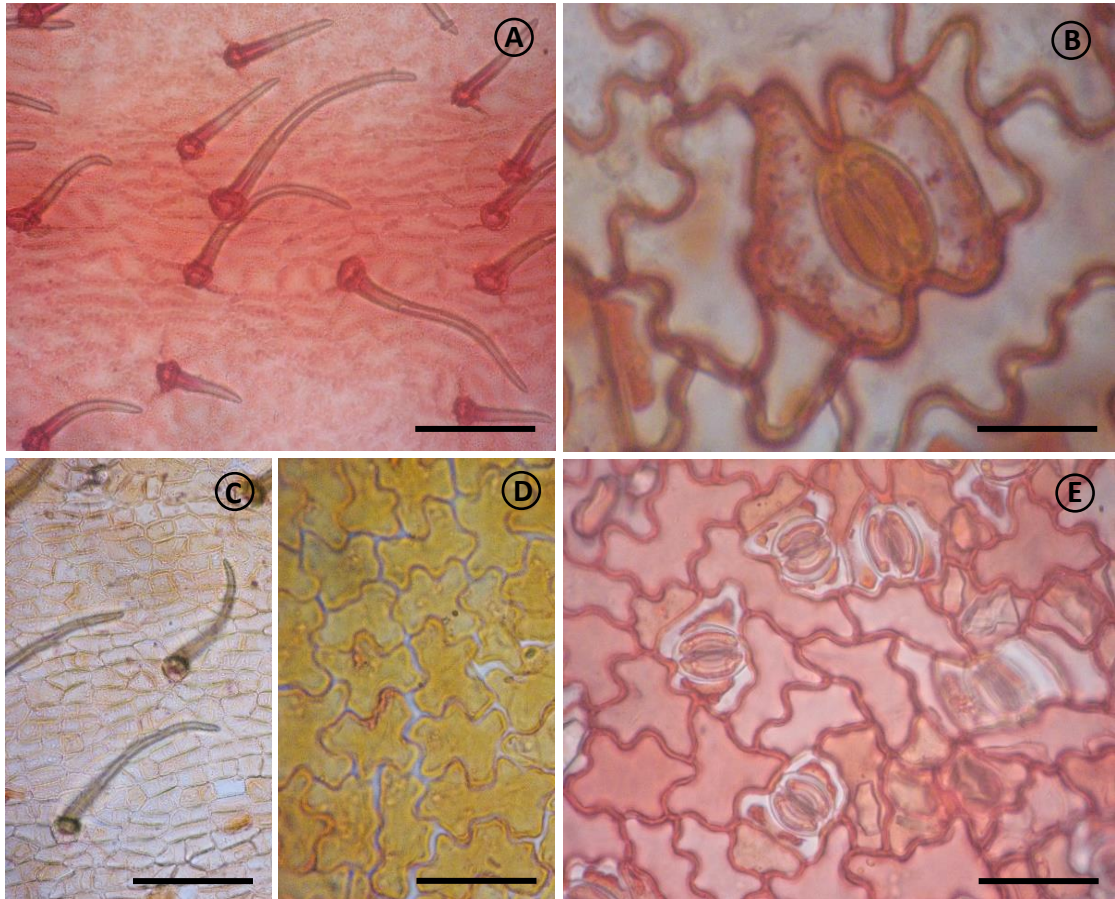


Figura 2: Vista frontal dos folíolos de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) Tricomas tectores unicelulares na na nervura central da face adaxial nos eofilos, B) Estômatos paracíticos e células com paredes anticlinais sinuosas na face abaxial dos eofilos, C) Tricomas tectores unicelulares na nervura central da face adaxial do folíolo da planta adulta, D) Células com paredes anticlinais sinuosas na face adaxial do folíolo da planta adulta, E) Estômatos paracíticos e células com paredes anticlinais sinuosas na face abaxial do folíolo da planta adulta. Escala: A-E = 3µm.

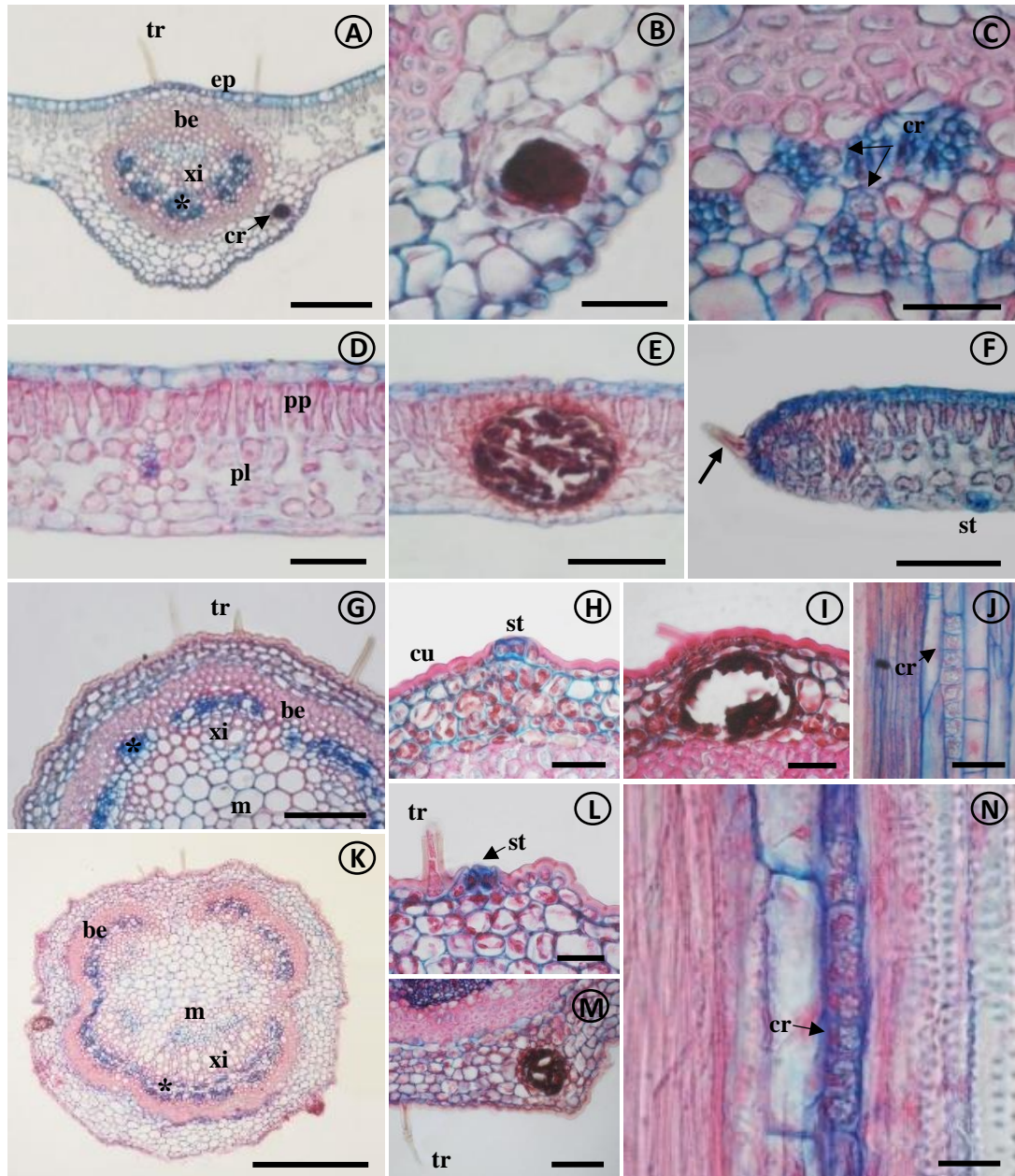


Figura 3: Seção transversal e longitudinal do eofilo da plântula de *Cenostigma tocantinum*. A) Vista geral da nervura central, B) Cavidade secretora na nervura central, C) Presença de cristais no floema (seta), D) Vista geral do mesofilo evidenciando parênquima paliçádico e lacunoso e feixe vascular, E) Cavidades secretoras no mesofilo, F) Margem evidenciando tricomas (seta) e estômatos da face abaxial, G) Vista geral da raque evidenciando epiderme com tricomas, bainha esclerenquimática, feixes vasculares colaterais e medula, H) Epiderme da raque com estômato, I) Cavidade no mesofilo cortical do pecíolo, J) Detalhe dos cristais dispostos em fileira no feixe do floema da raque, K) Vista geral do pecíolo, L) Epiderme do pecíolo evidenciando tricoma tector unicelular e estômato, M) Epiderme do pecíolo evidenciando cutícula espessa, tricoma tector unicelular e cavidade secretora, N) Cristais dispostos em fileira no floema do pecíolo. Legenda: **be**-bainha esclerenquimática; **cr**-cristais; **cs**-cavidade secretora; **cu**-cutícula; **ep**-epiderme; **m**-medula; **pl**-parênquima lacunoso; **pp**-parênquima paliçádico; **st**-estômato; **tg**-tricoma glandular; **tr**-tricoma; **xi**-xilema; (*) floema. Escala: B, C, I, J, N = 3µm; L, M = 4µm; D, E, F = 7µm; G, H = 8µm; M = 9µm; A, K = 30µm.

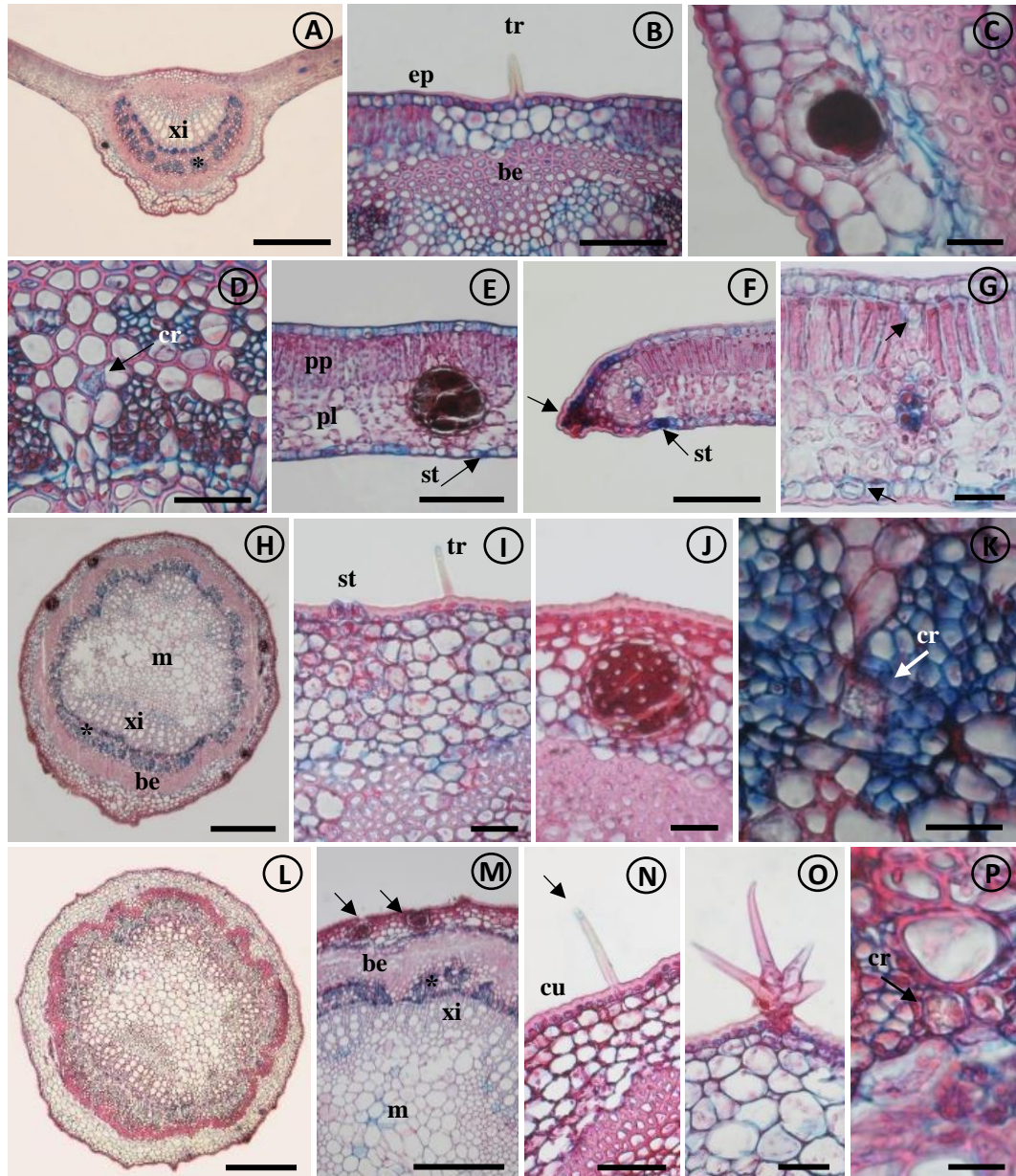


Figura 4: Seção transversal dos folíolos da planta adulta. A) Vista geral da nervura central, B) Detalhe da epiderme adaxial com tricoma unicelular e bainha esclerenquimática no mesofilo, C) Cavidade secretora na nervura central, D) Cristal nas células esclerenquimáticas, E) Mesofilo evidenciando estômato, parênquima paliçádico e lacunoso e cavidade, F) Margem com estômatos e papilas (seta), G) Mesofilo destacando o feixe vascular e cristais (seta), H) Vista geral da raque, I) Epiderme evidenciando tricoma tector unicelular e estômato na epiderme da raque, J) Região cortical da raque evidenciando cavidade secretora, K) Cristal incluso nas células do floema da raque, L) Vista geral do pecíolo, M) Seção do pecíolo evidenciando cavidade secretora (seta), bainha do feixe, feixes vasculares e medula parenquimática, N) Epiderme do pecíolo evidenciando cutícula espessa e tricoma tector unicelular, O) Tricoma estrelado na epiderme do pecíolo; P) Cristal incluso na célula esclerenquimática. Legenda: **be**-bainha esclerenquimática; **cr**-cristais; **cu**-cutícula; **ep**-epiderme; (*) floema; **m**-medula; **pl**-parênquima lacunoso; **pp**-parênquima paliçádico; **st**-estômato; **tr**-tricoma; **xi**-xilema. Escala: A, H, L = 30µm; B, E-F = 7µm; N = 5µm; G, I, J, M, O = 4µm; C, D, K, P = 3µm.

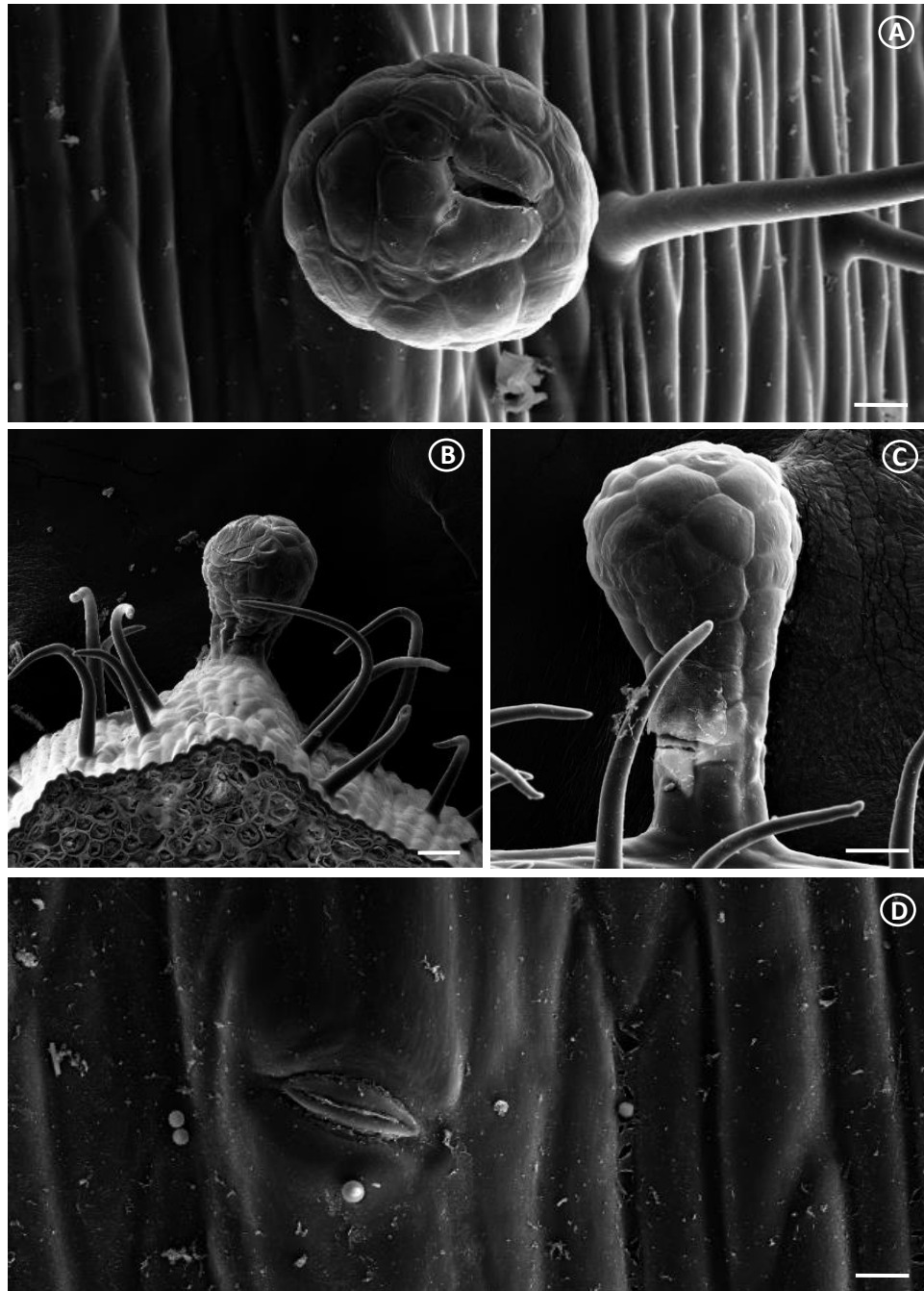


Figura 5: Seções do eofilo em microscopia eletrônica de varredura. A-B) Tricoma glândula multicelular pedunculado na raque, C) Tricoma glândula multicelular pedunculado no pecíolo, D) Estômato no pecíolo. Escala: A, D = 10 μm ; B = 30 μm ; C = 20 μm .

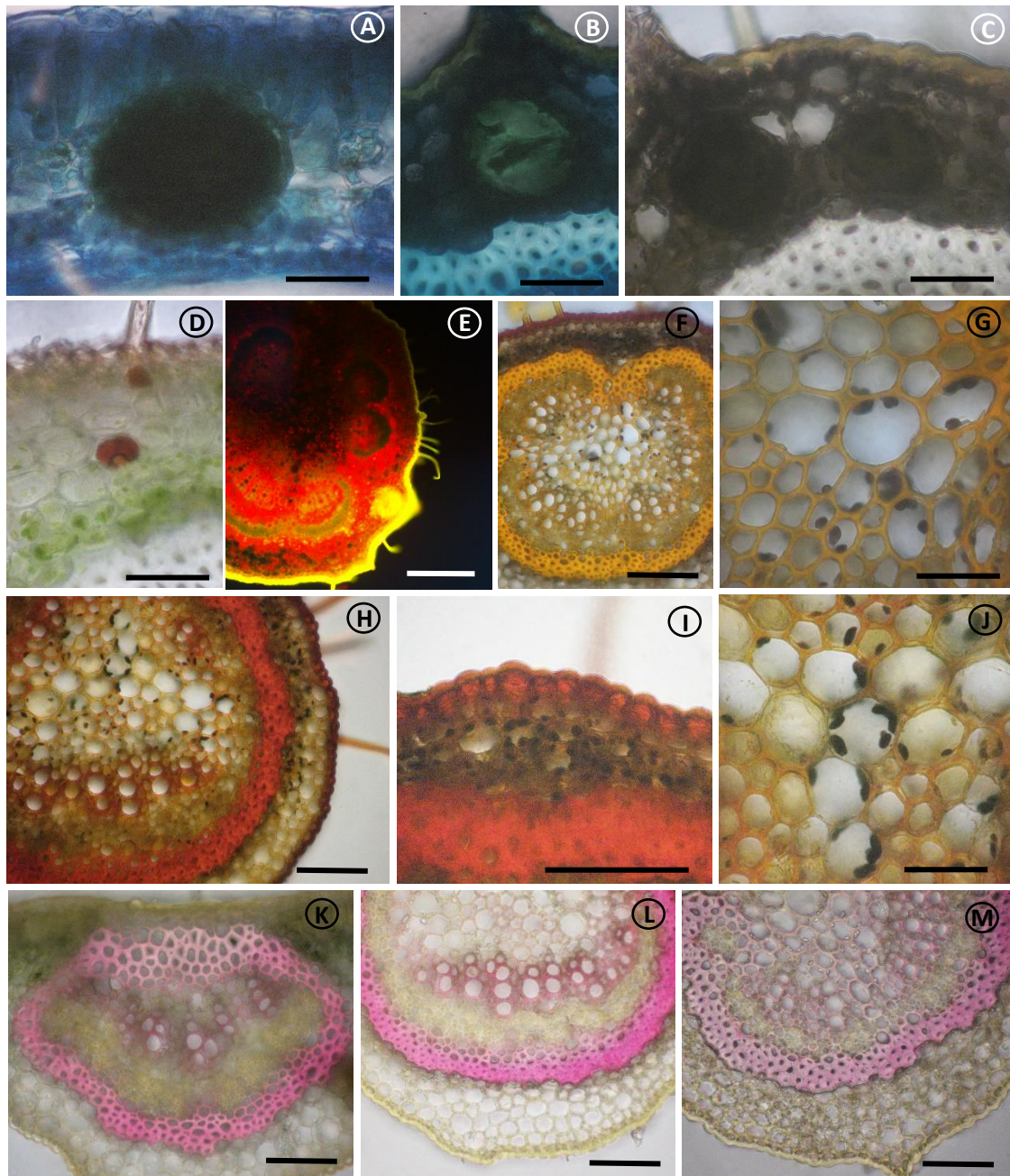


Figura 6: Teste histoquímico da plântula de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) Cavidade secretora na lâmina eofilar evidenciando compostos fenólicos com azul de toluidina, B) Cavidade secretora no pecíolo evidenciando compostos fenólicos com azul de toluidina, C) Cavidade secretora no pecíolo evidenciando compostos fenólicos com cloreto férrico, D) Compostos fenólicos no córtex do pecíolo, E) Cavidade emitindo flavonoides no pecíolo, F) G) Pecíolo evidenciando grãos de amido, H) I) J) Região cortical e medular da raque com grãos de amido, K), L) e M) Lignina na bainha esclerenquimática da nervura central, raque e pecíolo. Escala: A-D, F, J = 3 μ m; G, I = 4 μ m; E = 30 μ m; H, K-M = 5 μ m.

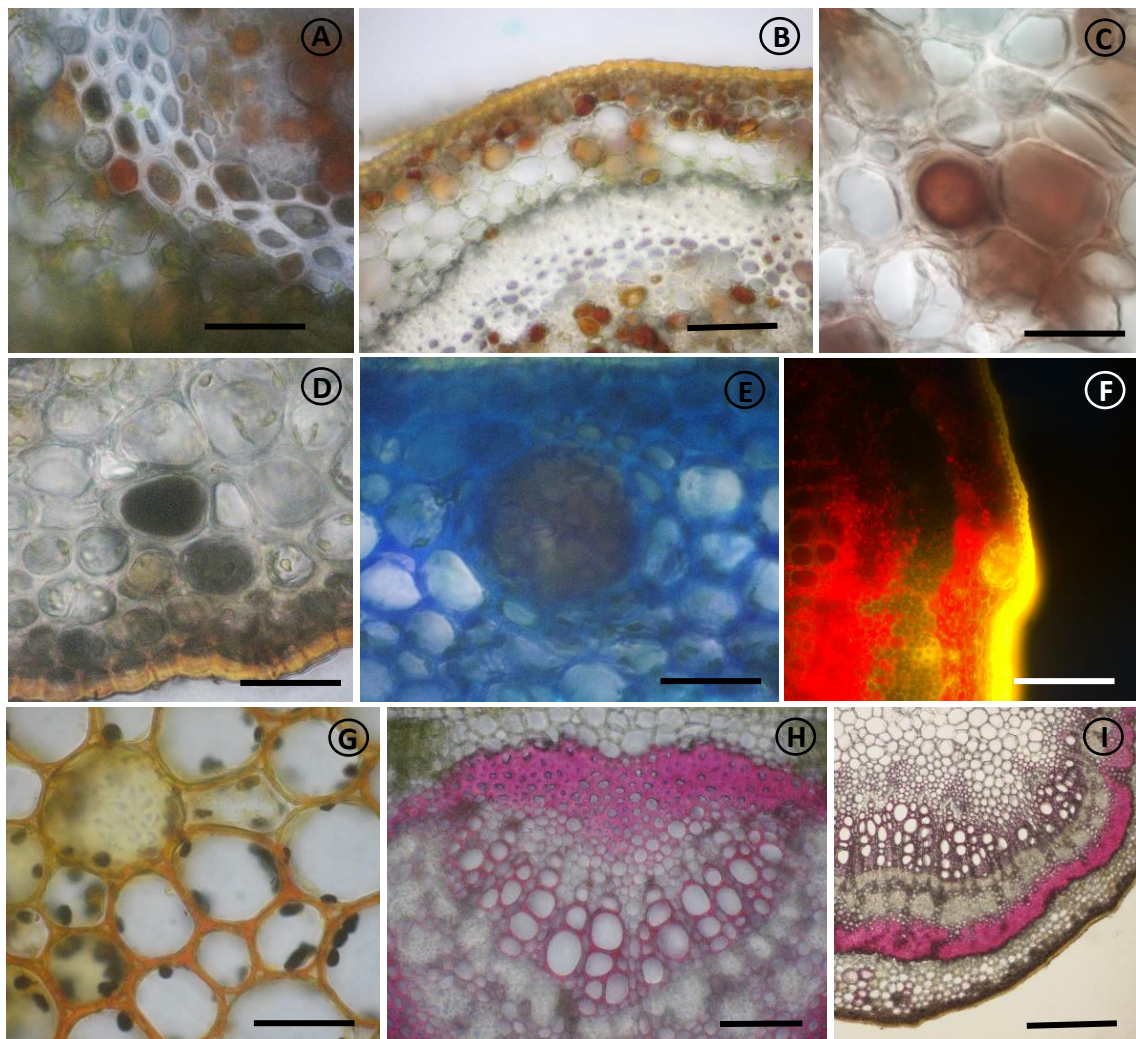


Figura 7: Teste histoquímico da folha de *Cenostigma tocantinum* Ducke. A) B) C) Compostos fenólicos evidenciados por dicromatos de potássio na nervura central, raque e pecíolo, respectivamente, D) Compostos fenólicos no córtex do pecíolo por cloreto férrico, E) Compostos fenólicos evidenciado por azul de toluidina no córtex do pecíolo, F) Flavonoides na cavidade secretora do pecíolo, G) Região medular do pecíolo com grãos de amido, H) I) Lignina na bainha esclerenquimática da nervura central e pecíolo. Escala: A, C-E, G = 3 μ m; B, H, I= 4 μ m; F= 9 μ m.

4. CONCLUSÕES FINAIS

As sementes *Cenostigma tocantinum* apresentaram características morfológicas e anatômica diagnosticas para o gênero, e os eofilos e as folhas da planta adulta são semelhantes, diferindo somente quanto aos tricomas.

As cavidades secretoras foram observadas na espécie desde o embrião até o estágio adulto, além disso, canais secretores nos cotilédones da semente, ainda não foram descritos para outras espécies do gênero. As cavidades secretoras descritas nas folhas apresentaram flavonóides.