



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS -**  
**BOTÂNICA TROPICAL**



**AUGUSTO CÉSAR DA SILVA JORGE**

**ATRIBUTOS ESTRUTURAIS E HISTOQUÍMICOS DAS GLÂNDULAS CRÓCEAS**  
**DE *Polygala adenophora* DC. (POLYGALACEAE)**

**BELÉM**  
**2022**

**AUGUSTO CÉSAR DA SILVA JORGE**

**ATRIBUTOS ESTRUTURAIS E HISTOQUÍMICOS DAS GLÂNDULAS CRÓCEAS  
DE *Polygala adenophora* DC. (POLYGALACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Dra. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias

**BELÉM  
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Bibliotecas da Universidade Federal Rural da Amazônia  
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- J82a Jorge, Augusto César da Silva  
ATRIBUTOS ESTRUTURAIS E HISTOQUÍMICOS DAS GLÂNDULAS CRÓCEAS DE *Polygala adenophora* DC. (POLYGALACEAE) / Augusto César da Silva Jorge. - 2022.  
48 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) - Programa de PÓS-GRADUAÇÃO em Ciências Biológicas (CB), Campus Universitário de Belém, Universidade Federal Rural Da Amazônia, Belém, 2022.  
Orientador: Profa. Dra. Ana Cristina Andrade de Aguiar-Dias
1. Botânica. 2. Anatomia Vegetal. 3. Estruturas Secretoras. I. Aguiar-Dias, Ana Cristina Andrade de, orient. II. Título

---

CDD 581.9093

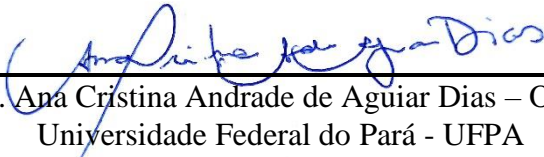
**AUGUSTO CÉSAR DA SILVA JORGE**


**ATRIBUTOS ESTRUTURAIS E HISTOQUÍMICOS DAS GLÂNDULAS CRÓCEAS  
DE *Polygala adenophora* DC. (POLYGALACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Data de Aprovação: 31 / 08 /2022.

**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof. Dra. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias – Orientadora  
Universidade Federal do Pará - UFPA

  
Dra. Joana Patrícia Pantoja Serrão Filgueira – Titular  
Instituto Tecnológico Vale - ITV

Dr. Breno Ricardo Serrão da Silva – Titular  
Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG

  
Dr. Edilson Freitas da Silva – Titular  
Instituto Tecnológico Vale - ITV

  
Prof. Dr. João Ubiratan Moreira dos Santos – Suplente  
Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG

*Ao meu pai Luiz e meu irmão Rafael,  
de quem sinto muitas saudades (in  
memoriam);*

*À minha mãe Ângela e minha irmã  
Isabella, que são minha fortaleza,*

 *edico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade de evolução e crescimento que me é concedida a cada dia.

À Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), ao Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), ao corpo docente e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – Botânica Tropical.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de mestrado.

À minha orientadora Dra. Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias, por todo seu apoio, compreensão, paciência, por não me deixar desistir e não soltar minha mão no período mais difícil de minha vida.

À Dra. Joana Filgueira e ao Dr. Breno Serrão, pela minha formação na área de Anatomia Vegetal, por todo apoio, amizade e contribuição para o meu crescimento como anatomista e pessoa.

À Dra. Alba Lins pelos valiosos ensinamentos, amizade e palavras de incentivo em todos esses anos de LAVEG.

À M.Sc. Layse Kristine Lopes e à M.Sc. Cassiane Anjos, do grupo de estudos de Polygalaceae, pela amizade, apoio e ajuda fundamentais para minha qualificação.

À Zelina Ataíde, pela amizade e grande auxílio na realização dos testes histoquímicos.

À Ranielle Araújo, por sua amizade e grande ajuda nos protocolos de paraplast.

À M.Sc. Layla Schneider, pela amizade e colaboração na produção das pranchas preliminares.

Ao Dr. Hilton Túlio Costi por suas contribuições nas seções de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos meus avós, Antônio e Noêmia, Miguel e Sebastiana por todo amor e ensinamentos.

Aos meus pais, Ângela Jorge e Luiz Jorge, pelo amor incondicional, por toda dedicação e incentivo. Aos meus irmãos, Isabella Jorge e Rafael Jorge por todo amor, apoio e fraternidade. Sou grato a Deus por ter tido uma vida tão feliz junto de vocês, e sei que, mesmo em planos distintos, continuamos unidos por laços de afeto. Eu os amo muito.

A todos os amigos que o MPEG me deu, por toda ajuda, companheirismo e conhecimentos partilhados.

Aos meus queridos amigos de graduação, Alana Corrêa, Nayarley Castelo Branco, Ana Duarte, Líllian Rocha e Anna Picanço, por todo carinho, amizade e incentivo.

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

brigado!

*“Twenty-five years and my life is still  
Trying to get up that great big hill of hope  
For a destination.”*

*(What’s Up? – 4 Non Blondes)*



## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS E TABELAS .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>12</b>
<b>RESUMO GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>CONTEXTUALIZAÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>19</b>
<b>Capítulo 1.....</b>	<b>22</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>23</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>24</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
<b>Aspectos morfológicos e distribuição.....</b>	<b>28</b>
<b>Aspectos anatômicos e desenvolvimento .....</b>	<b>28</b>
<b>Composição da secreção .....</b>	<b>30</b>
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>43</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>43</b>
<b>BIBLIOGRAFIA CITADA .....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

- Figura 1.** Morfologia externa dos órgãos vegetativos de *Polygala adenophora* DC. A. Caule; B. Detalhe das glândulas cróceas no caule; C. Detalhe das glândulas cróceas na gema lateral; D. Lâmina foliar; E. Detalhe das glândulas cróceas na lâmina foliar; F. Raque floral; G. Detalhe das glândulas cróceas na raque floral..... 32
- Figura 2.** Morfologia externa dos órgãos reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A. Vista frontal da flor; B. Detalhe das glândulas cróceas na carena; C. Detalhe das glândulas cróceas na sépala externa inferior; D. Vista lateral da flor; E. Gineceu; F. Botão floral; G. Fruto do tipo cápsula. .... 33
- Figura 3.** Desenvolvimento das cavidades secretoras na raque floral de *Polygala adenophora* DC. em secção transversal. A–C. Glândula em estágio inicial, evidenciando intensa divisão celular. D–F. Glândula com epitélio secretor em formação. G e H. Formação do lúmen da cavidade pelo afastamento das células em desenvolvimento. I. Cavidade em estágio de desenvolvimento final, com epitélio secretor multisseriado de células de parede delgada, achatadas e alongadas concentricamente, delimitando o lúmen isodiamétrico ..... 34
- Figura 4.** Cavidades secretoras nos órgãos vegetativos de *Polygala adenophora* DC. A e B. Caule em secção transversal; B. Detalhe das glândulas cróceas no caule; C. Caule em secção longitudinal; D e E. Lâmina foliar em secção transversal; E. Detalhe das glândulas cróceas na lâmina foliar; F. Lâmina foliar em secção longitudinal ..... 35
- Figura 5.** Cavidades secretoras na raque floral de *Polygala adenophora* DC. A, B e D. Raque floral em secção transversal; C e E. Raque floral em secção longitudinal. D e E. Detalhe das glândulas cróceas..... 36

**Figura 6.** Cavidades secretoras nos órgãos reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A. Botão floral em secção transversal; B. Botão floral em secção longitudinal; C. Ovário em secção transversal; D. Ovário em secção longitudinal; E e F. Sépala inferior externa em secção transversal; F. Detalhe da cavidade secretora na sépala inferior externa; G. Carena em secção longitudinal ..... 37

**Figura 7.** Cavidades secretoras nos órgãos reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A. Sépala inferior externa (cálice persistente no fruto) em secção transversal; B e D. Fruto em secção transversal; C e E. Fruto em secção longitudinal ..... 38

**Figura 8.** Eletromicrografias das cavidades secretoras nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A–C. Superfície; D–F. Corte transversal; A. Superfície da sépala inferior externa; B. Superfície da carena; C. Detalhe das glândulas cróceas na superfície da sépala inferior externa; D. Corte transversal da lâmina foliar; E. Corte transversal do caule; F. Corte transversal da sépala inferior externa evidenciando cavidade preenchida por conteúdo de origem lipídica. .... 39

**Figura 9.** Reações histoquímicas das cavidades secretoras nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A–D. Caule; E–H. Lâmina foliar; I–L. Raque floral; M–P. Botão floral; Q–T. Flor; U–X. Fruto; A, E, I, M, Q e U. Sudan Black B; B, F, J, N, R e V. Sudan III; C, G, K, O, S e W. Sulfato Azul do Nilo; D, H, L, P, T e X. Reagente de Nadi ..... 40

**Tabela 1.** Resultados dos testes histoquímicos realizados nas glândulas cróceas de *Polygala adenophora*. SuB: Sudan Black B; SuIII: Sudan III; SAN: Sulfato Azul do Nilo; Nadi: Reagente de Nadi; PAS: Periodic Acid Schiff; Lu: Lugol; Drgff: Reagente de Dragendorff; ClFe: Cloreto Férrico. +: resultado positivo; -: resultado negativo ..... 41

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ClFe** – Cloreto Férrico

**Drgff** – Reagente de Dragendorff

**FAA<sub>50</sub>** – Formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%

**FNT** – Formalina neutra tamponada

**Lu** – Lugol

**Nadi** – Reagente de Nadi

**PAS** – Periodic Acid Schiff

**SAN** – Sulfato Azul do Nilo

**SuB** – Sudan Black B

**SuIII** – Sudan III

## RESUMO GERAL

Polygalaceae pertence à ordem Fabales, é considerada monofilética baseada em sua morfologia e dados moleculares, apresenta distribuição cosmopolita e abriga cerca de 1.200 espécies distribuídas em 27 gêneros, no Brasil ocorrem 11 gêneros e 207 espécies das quais 130 são consideradas endêmicas. Dentre os gêneros, *Polygala* L. é constituído por espécies com relevante valor medicinal, em função do seu potencial fitoterápico, é o mais representativo com cerca de 580 espécies sendo 120 registradas para o Brasil, compreende dois subgêneros *Polygala* e *Chodatia* Paiva, sua classificação subgenérica é baseada em estudos filogenéticos onde *Polygala* é dividida entre 14 seções. Das seções de *Polygala*, a seção *Timutua* é caracterizada pela presença de glândulas visíveis/cróceas, e essas são utilizadas na sua delimitação, no entanto, carecem de informações mais completas sobre sua anatomia. Estudos anatômicos detalhados podem produzir novas interpretações sobre as glândulas cróceas, com informações sobre o desenvolvimento, a estrutura, tipo de substância secretada pelas glândulas entre as regiões da planta e em diferentes espécies, permitindo relacionar tais estruturas a uma provável função. Dessa forma, o presente estudo foi organizado em um capítulo que teve como objetivo definir as glândulas cróceas do ponto de vista estrutural, descrever e ilustrar os tipos de glândulas cróceas que podem ser encontrados e identificar os tipos de exsudatos presentes nessas glândulas existentes nas estruturas florais, fruto, lâminas foliares e caule de *Polygala adenophora* DC. Foram analisadas amostras de flores, fruto, raque floral, lâminas foliares e caule de *P. adenophora* DC. em diferentes estágios de desenvolvimento (botões florais, flores e frutos totalmente desenvolvidos; amostras de caule e folhas foram extraídas dos 1º, 3º, 6º e 9º nós), obtidas a partir de coleta em campo. As amostras foram fixadas em FAA<sub>50</sub> e FNT e submetidas a técnicas usuais de microscopia de luz e eletrônica de varredura. Foram realizados testes histoquímicos para substâncias lipofílicas e hidrofílicas. Os resultados obtidos evidenciam que as glândulas cróceas são cavidades secretoras, apresentam formação de origem esquizógena, sendo encontradas desde o início do desenvolvimento dos órgãos vegetativos e reprodutivos. As cavidades secretam substância de natureza exclusivamente lipofílica e esse exsudato apresenta possivelmente função protetiva atuando na defesa contra ataques e herbivoria.

Palavras-chaves: Fabales. *Timutua*. Anatomia Vegetal. Cavidades secretoras.

## CONTEXTUALIZAÇÃO

### **Polygalaceae Hoffmanns. & Link**

Polygalaceae Hoffmanns. & Link nom. cons. é uma família monofilética (PERSSON, 2001), amplamente distribuída pelo planeta, sem ocorrência na Nova Zelândia e em regiões árticas e antárticas, é pertencente à ordem Fabales, sendo definida como grupo-irmão de Fabaceae Lindl., Quillajaceae D. Don e Surianaceae Arn., nom. cons. (APG-IV, 2016). Para a família são registradas cerca de 1200 espécies e 27 gêneros (PASTORE; SILVEIRA, 2016; LIMA *et al.* 2018; MOTA *et al.* 2019) entre quatro tribos, das quais *Xanthophylleae* Baill., *Diclidanthereae* Reveal, *Polygaleae* Fr. foram por determinadas Chodat (1896) e *Carpolobieae* B.Eriksen por Eriksen (1993a).

No Brasil ocorrem 207 espécies (130 endêmicas) distribuídas em 11 gêneros: *Acanthocladus* Klotzsch ex Hassk., *Asemeia* Raf. emend. Small, *Barnhartia* Gleason, *Bredemeyera* Willd., *Caamembeca* J.F.B.Pastore, *Diclidanthera* Mart., *Gymnospora* (Chodat) J.F.B.Pastore, *Monnina* Ruiz & Pav., *Moutabea* Aubl., *Polygala* L. e *Securidaca* L., encontradas nos domínios fitogeográficos, Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, e vegetações que incluem campinaranas, Florestas de Terra Firme, restingas, cerrado, Floresta Pluvial, afloramentos rochosos, caatinga, savana amazônica, áreas antrópicas, entre outros (PASTORE *et al.* 2015).

A família é caracterizada por ervas, subarbustos, arbustos eretos a escandentes ou árvores, com folhas simples, alternas, opostas ou verticiladas, inteiras, glabras ou pilosas, inflorescências em racemos, panículas ou fascículos umbeliformes, terminais, axilares ou opositifolios. Bractéolas caducas ou não. Flores actinomorfas ou zigomorfas, dióicas; cálice 4-5, geralmente com três sépalas externas e duas internas, petaloides; pétalas 3-5, geralmente duas laterais, rudimentares ou desenvolvidas e uma carena central cuculada ou ainda ausentes; estames 8, epipétalos ou com filetes unidos basalmente formando uma bainha aberta, frequentemente adnata em seu dorso às pétalas; anteras basifixas, com rimas oblíquas que se convergem para o ápice; ovário súpero, 1,2,5- locular, 1 óvulo por lóculo, anátropo, epítropo ou pêndulo. Fruto baga, cápsula loculicida, núcula ou sâmara; sementes 1-5, pilosas ou glabras, com ou sem arilo, com ou sem endosperma (LIMA *et al.* 2018).

Entre os estudos filogenéticos mais relevantes dentro da família, Eriksen (1993b) realizou análise cladística em 17 gêneros, a partir da combinação de caracteres morfológicos incluindo: hábito de crescimento predominante, tipo estomático, localização das glândulas, teor de saponina, acumulação de alumínio, características das inflorescências e das peças florais, além de dados sobre os frutos, sementes e nectários. Os principais resultados destacaram que na tribo *Polygaleae*, os gêneros *Polygala* L. e *Monnina* Ruiz & Pav. parecem ser polifiléticos. Outro estudo foi realizado por Persson (2001) que utilizou de dados moleculares de sequências de DNA plastidial da região trnL-F e encontrou resultados similares para *Polygala*, enquanto *Monnina* foi definida como monofilética, no entanto, as relações internas foram parcialmente não resolvidas.

### **Estudos anatômicos para Polygalaceae**

Estudos em anatomia ainda são incipientes em Polygalaceae, apesar da quantidade de espécies com importância medicinal. A anatomia vegetal contribui com informações significativas para a compreensão da taxonomia, ecologia, fisiologia e filogenia de plantas vasculares (SILVA; POTIGUARA, 2008). Neste contexto se destacam os estudos de Dickison (1973), o qual descreveu as células traqueoides ocorrente no gênero *Xanthophyllum* Roxb., além disso, apresentou dados anatômicos com importância sistemática dentro do gênero, entre os quais: a forma do ápice pode ser usada como caractere classificatório dentro do grupo. Posteriormente, Milby (1976) investigou o desenvolvimento e a anatomia das flores de *Polygala alba* Nutt., *P. lanceolata* Poir. e *P. lutea* L. para verificar se poderiam ser encontradas evidências de pentarismo e mudança na placentação. Como resultado, o desenvolvimento dos primórdios do carpelo e no plano vascular dos carpelos maduros indicou que a placentação é fundamentalmente parietal, e não axial.

Baumgratz e Marques (1984) estudaram anatomicamente os padrões de nervação e epidermes foliares das espécies da série *Timoutoideae* Chod. do Brasil para fins taxonômicos. Entre os resultados encontrados estão o padrão de nervação do tipo broquidródomo, os estômatos do tipo anomocítico e hemiparacítico, os tipos de terminações vasculares, a nervura primária em linha reta, não-ramificada, e as terciárias do tipo reticulado ao acaso são comuns a todas as espécies, evidenciando grande homogeneidade no grupo, o que impossibilitou a apresentação de chave taxonômica.

Baas (1991) estudou a anatomia foliar de *Balgoya pacifica* Morat & Meijden e como resultado, do ponto de vista anatômico, a folha de *Balgoya* Morat & Meijden é muito semelhante à dos gêneros *Moutabea*, entre as semelhanças estão a nervura mediana e veia secundária; a estrutura do mesofilo e bordas cuticulares externas bem desenvolvidas. Os estômatos ciclocíticos e o fraco desenvolvimento de uma hipoderme abaxial confirmaram a identidade genérica do grupo.

Eriksen (1993a) analisou a morfologia e anatomia floral de 15 gêneros nas Polygalaceae. Alguns dos resultados encontrados foram: a origem pentâmera da flor é confirmada para todos os gêneros da família, o sistema vascular parece ser extremamente plástico e a vascularização do gineceu. Com base neste estudo, a tribo Carpolobieae Eriksen foi segregada de Moutabeae (atual tribo Diclidanthereae).

Piwpuan e Thammathaworn (2007) estudaram a anatomia de folhas, nós, raízes, flores e cápsulas de cinco espécies de *Salomonina* Lour. na Tailândia, a fim de revelar características anatômicas e fornecer uma chave de identificação. Foram encontrados dois conjuntos de caracteres das folhas que permitiram a distinção entre as cinco espécies em nível genérico, dentre elas: a morfologia cuticular e espessura, presença de tricomas do tipo espinha ou papilas nas margens das folhas. Os caracteres de células epidérmicas nas faces das cápsulas foram significativos para identificação das espécies.

Aguiar-Dias *et al.* (2012) analisaram as folhas de espécies de *Polygala* ocorrentes em restinga e cerrado do Estado de São Paulo, onde a partir do inventário de seus principais caracteres e descrição de suas estruturas, foram observados dois padrões estruturais, características mesomórficas em *P. laureola* A.St.-Hil. & Moq. (= *Caamembeca salicifolia* (Poir.) J.F.B.Pastore), *P. paniculata* L., *P. violacea* Aubl. emend. Marques (= *Asemeia violacea* (Aubl.) J.F.B.Pastore & J.R.Abbott), e xeromórficas em *P. cyparissias* A.St. -Hil. & Moq., *P. angulata* DC.

Aguiar-Dias *et al.* (2015) realizaram estudos anatômicos em glândulas inflorescentes de *Caamembeca salicifolia*, onde a presença de glicose nas glândulas permitiu sua identificação como nectários bracteolares. Filgueira *et al.* (2017) investigaram a origem e estrutura das glândulas nodais de *Monnina exalata* A.W. Benn. descrevendo-os como nectários extraflorais estipulares. Enquanto Costa *et al.* (2018) analisaram a origem e a estrutura das glândulas nodais em *Moutabea chodatiana* Huber e *Securidaca bialata* Benth., constataram que todas possuem a mesma origem, ligadas ao traço foliar confirmando estudos anteriores sobre a natureza foliar destas estruturas na família.



## O gênero *Polygala* L.

*Polygala* L. é o gênero com o maior número de espécies para Polygalaceae, com aproximadamente 580 representantes e ampla distribuição (PASTORE, 2018), sendo registradas cerca de 120 espécies para o Brasil (BFG, 2015). É caracterizado por ervas clorofiladas (anuais a perenes) e arbustos; racemos (raramente com grupos axilares reduzidos); flores com quilha cristada; fruto em cápsula bilocular ou drupa, distribuído pelo planeta, com cálice persistente; margens da cápsula quase sempre inteiras (em geral com ápice emarginado, raramente crenado ou ondulado); sementes sem coroa de tricomas, mas geralmente com tricomas curtos ou glabras (MOTA *et al.* 2019). Estruturas glandulares são frequentes na lâmina foliar, nas flores, com menor ocorrência nos frutos (AGUIAR *et al.* 2008).

O gênero compreende dois subgêneros *Polygala* L. e *Chodatia* Paiva (PASTORE, 2018), onde o último deve ser reconhecido como gênero independente (MOTA *et al.* 2019), o subgênero *Polygala* está dividido em clado do Velho Mundo com as seções: *Brachytropis* DC., *Blepharidium* DC., *Chloropterae* (Chodat) Paiva, *Conosperma* Paiva, *Leptaleae* (Chodat) Paiva, *Madecassa* Paiva, *Megatropis* Paiva, *Microlophium* Spach, *Polygala*, *Psychanthus* (Raf.) DC. e *Tetrasepalea* (Chodat) Paiva. e clado do Novo Mundo incluindo as seções *Clinclinia* DC., *Monninopsis* A. Gray e *Timutua* DC (PASTORE *et al.* no prelo). As análises filogenéticas apresentadas recentemente por Pastore *et al.* (no prelo), não suportam o gênero *Polygala* como um grupo monofilético, nem os cladogramas (velho e novo mundo) citados como grupos irmãos. O gênero *Polygala* é constituído por espécies com relevante valor medicinal, em função do seu potencial fitoterápico (LÜDTKE *et al.* 2013), sendo tradicionalmente relacionado à presença de salicilato de metila (MARQUES, 1996; ROCHA *et al.* 2012; WHERRY, 1927). O composto é usado no alívio de dores musculares e contusões, aplicado externamente na área afetada (ROCHA *et al.* 2012). Em *Polygala arvensis* Willd. (Clado do velho mundo), o extrato bruto de etanol proveniente da planta apresenta atividade larvicida, ovicida e repelente contra mosquitos *Aedes aegypti* Linn., *Anopheles stephensi* Linn. e *Culex quinquefasciatus* Say. (DEEPA, 2014). *Polygala tenuifolia* Willd. possui princípios antidepressivos em suas raízes (CHENG *et al.* 2006). *Polygala tricornis* Gagnep é utilizada popularmente na China como tônico, sedativo e na

prevenção de demência, Li *et. al* (2012) confirmaram a ação anti-neuroinflamatória da espécie.

### ***Polygala* seção *Timutua***

*Polygala* seção *Timutua* é distribuída desde o Canadá até a Argentina, com 175 espécies, destas 99 espécies ocorrem no Brasil. A seção é caracterizada pela presença de glândulas visíveis/cróceas, estilete arqueado terminado por uma cavidade pré-estigmática cimbiforme oblíqua, uma extremidade posterior com um apêndice com crista de tricomas abundantes (às vezes ausentes), um estigma globoso anterior, pétala de quilha cristada e cálice persistente no fruto (PASTORE, 2018; PASTORE; HARLEY, 2009).

As glândulas cróceas estão presentes principalmente na circunscrição da seção carecem de informações mais completas sobre sua natureza. As estruturas foram citadas em estudos realizados por Saint-Hilaire e Moquin (1828) e Chodat (1893), sendo definidas pela coloração amarelada.

A dissertação consiste em um capítulo, redigido na forma de artigo de acordo com as normas da Revista Acta Amazonica. Esse capítulo enfoca, além da estrutura da glândula, aspectos quanto a sua formação e conteúdo da secreção. O capítulo foi intitulado: **“Cavidades cróceas em *Polygala adenophora* DC. (POLYGALACEAE): estrutura, histoquímica e aspectos funcionais”**.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, A. C. A.; MARQUES, M. C. M.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Polygala* L. subg. *Hebeclada* (Chodat) Blake (Polygalaceae) ocorrentes no Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 6, n. 1, p. p. 81–109, 2008.
- AGUIAR-DIAS, A. C. A.; FEIO, A. C.; PASTORE J. F. B. Development, structure and function of bracteal nectaries in *Caamembeca laureola* (A. St. Hil & Moq.) JFB Pastore (Polygalaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 38, n. 3, p. 657–667, 2015.
- AGUIAR-DIAS, A. C. A.; YAMAMOTO, K.; CASTRO, M. M. Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* de restinga e cerrado. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 2, p. 395–404, 2012.
- APG IV - The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1–20, 2016.
- BAAS, P. Leaf anatomy of *Balgoya pacifica* (Polygalaceae) from New Caledonia. **Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle. Section B, Adansonia**, v. 13, n. 1–2, p. 13–15, 1991.
- BAUMGRATZ, J. F. A.; MARQUES, M. C. M. Catálogo de nervação e epiderme foliar das Polygalaceae do Brasil–I. Gênero *Polygala* L. seção *Polygala*, subseção *Apterocarpaceae* Chod., série *Timoutoideae*. **Rodriguésia**, v. 36, n. 59, p. 3–12, 1984.
- BFG - The Brazil Flora Group (2015) Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.
- CHENG, M.; LI, C.; KO, H.; KO, F.; LIN, Y.; WU, T. Antidepressant principles of the roots of *Polygala tenuifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 9, p. 1305–1309, 2006.
- CHODAT, R. H. Monographia polygalacearum. **Memoires de la Société de physique et d'histoire naturelle de Genève**, v. 31, p. 1–500, 1893.
- CHODAT, R. H. Polygalaceae. In: Engler, H. G. A.; Prantl, K. A. E. **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**, v. 3, p. 323–345, 1896.
- COSTA, C. S.; AGUIAR-DIAS, A. C. A.; FLORES, A. S.; SIMÕES, A. O. Anatomy of the nodal gland in *Moutabea chodatiana* Huber and *Securidaca bialata* Benth. (Polygalaceae). **Hoehnea**, v. 45, n. 4, p. 602–606, 2018.

DEEPA, M.; PALANISAMY, K.; KRISHNAPPA, K.; ELUMALAI K. Mosquitocidal activity of *Polygala arvensis* Willd against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles stephensi* (Liston.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). **International Journal of Mosquito Research**, v. 1, p. 30–34, 2014.

DICKISON, W. C. Nodal and leaf anatomy of *Xanthophyllum* (Polygalaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 67, n. 2, p. 103–115, 1973.

ERIKSEN, B. Floral anatomy and morphology in the Polygalaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 186, n. 1–2, p. 17–32, 1993a.

ERIKSEN, B. Phylogeny of the Polygalaceae and its taxonomic implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 186, n. 1–2, p. 33–55, 1993b.

FILGUEIRA, J. P. P. S.; PASTORE, J. F. B.; DEMARCO, D.; AGUIAR-DIAS, A. C. A. Nectários estipulares em *Monnina exalata* AW Benn (Polygalaceae). **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 7, n. 2, p. 1–3, 2017.

LIMA, I. G.; ALBUQUERQUE, A. M. L.; AGUIAR-DIAS, A. C. A.; LOIOLA, M. I. B. Flora do Ceará, Brasil: Polygalaceae. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 673–692. 2018.

MARQUES, M. C. M. *Securidaca* L. (Polygalaceae) do Brasil. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 34, n. 1, p. 7–144, 1996.

MILBY, T. H. Studies in the floral anatomy of *Polygala* (Polygalaceae). **American Journal of Botany**, v. 63, n. 10, p. 1319–1326, 1976.

MOTA, M.; ABBOTT, J. R.; SALAS, R. M.; NEUBIG, K. M.; PASTORE, J. F. B. Three lonely Argentines: Toward a new generic delimitation in Polygalaceae. **Taxon**, v. 1, p. 1–15, 2019.

PASTORE, J. F. B. *Polygala veadeiroensis* (Polygalaceae), a new species of *Polygala* endemic to Chapada dos Veadeiros, Goiás, Brazil. **Kew Bulletin**, v. 73, n. 3, p. 37, 2018.

PASTORE, J. F. B.; HARLEY, R. M. *Polygala taciana* (Polygalaceae), a new endemic species from Chapada dos Veadeiros region, Goiás state, Brazil. **Kew Bulletin**, v. 64, n. 4, p. 705–708, 2009.

PASTORE, J. F. B.; LUDTKE, R.; FERREIRA, D. M. C.; KUNTZ, J. 2015 **Polygalaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB195>. Acesso em: 16 de set. 2021.

PASTORE, J. F. B.; SILVEIRA, J. B. Flora of the cangas of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Polygalaceae. **Rodriguésia**, v. 67, n. 5SPE, p. 1451–1458, 2016.

PERSSON, C. Phylogenetic relationships in Polygalaceae based on plastid DNA sequences from the trnL-F region. **Taxon**, v. 50, n. 3, p. 763–779, 2001.

PIWPUAN, N.; THAMMATHAWORN, A. A comparative anatomy of *Salomonina* Lour. (Polygalaceae) in Thailand. **Tropical Natural History**, v. 7, n. 2, p. 121–129, 2007.

ROCHA, J. L. C.; PASTORE, J. F. P.; BRANDÃO, H. N.; AZEREDO, A.; DAVID, J. P.; SANTOS, E. O. S.; DAVID, J. M. Quantificação de salicilato de metila em quatro gêneros de Polygalaceae, por CLAE-DAD. **Química Nova**, v. 35, p. 2263–2266, 2012.

SAINT-HILAIRE, A. F. C. P.; MOQUIN-TANDON, C. B. A. Conspectus Polygacearum Brasiliæ Meridionalis. *Anais da Sociedade de Ciências, Belles-Lettres e Arts d'Orléans*, v. 9, p. 44–59, 1828.

SILVA, R. J. F.; POTIGUARA, R. C. V. Aplicações taxonômicas da anatomia foliar de espécies amazônicas de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 999–1014, 2008.

WHERRY, E. T. The presence of free methyl salicylate in some American species of *Polygala*. **Journal of the Washington Academy of Sciences**, v. 17, n. 8, p. 191–194, 1927.

**Capítulo 1: Cavidades cróceas em *Polygala adenophora* DC. (POLYGALACEAE):  
estrutura, histoquímica e aspectos funcionais**

Augusto César da Silva Jorge<sup>1,2,\*</sup>, Ana Cristina Andrade de Aguiar-Dias<sup>3</sup>

1. Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Perimetral, 2501, 66077-901,  
Universitário, Belém, PA.

2. Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica, Av. Perimetral, 1901,  
66077-530, Terra Firme, Belém, PA, Caixa Postal 6109.

3. Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas – Campus  
Básico, Rua Augusto Corrêa, 1, 66075-110, Guamá, Belém, PA.

\*Autor para correspondência: [augustocesarjorge@gmail.com](mailto:augustocesarjorge@gmail.com).

Artigo a ser enviado para a revista “Acta Amazonica”

## RESUMO

Glândulas cróceas são estruturas visíveis, definidas por seu formato arredondado e coloração amarelada. Elas possuem grande importância taxonômica, sendo utilizadas para delimitar a seção *Timutua* DC., uma das 14 seções do subgênero *Polygala* L., pertencente ao gênero *Polygala* L., o mais representativo da família Polygalaceae, com cerca de 120 espécies registradas para o Brasil. Apesar de sua importância taxonômica, as glândulas cróceas ainda carecem de informações mais completas sobre sua natureza. Dessa forma, o presente estudo caracterizou a distribuição, estrutura e histoquímica das glândulas cróceas existentes nos órgãos reprodutivos e vegetativos aéreos de *Polygala adenophora* DC. Foram analisadas amostras de flores, fruto, lâminas foliares e caule de *P. adenophora* DC. em diferentes estágios de desenvolvimento (botões florais, flores e frutos totalmente desenvolvidos; amostras de caule e folhas foram extraídas dos 1º, 3º, 6º e 9º nós), obtidas a partir de coleta em campo. As amostras foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%) e FNT (formalina neutra tamponada) e submetidas a técnicas usuais de microscopia de luz e eletrônica de varredura. Foram realizados testes histoquímicos para substâncias lipofílicas e hidrofílicas. Os resultados obtidos evidenciam que as glândulas cróceas são cavidades secretoras, com formação de origem esquizógena, sendo encontradas desde o início do desenvolvimento dos órgãos vegetativos e reprodutivos. As cavidades secretam substância de natureza exclusivamente lipofílica, composto por óleos-essenciais e lipídios, esse exsudato apresenta possivelmente função protetiva atuando na defesa contra ataques e herbivoria.

Palavras-chaves: Fabales. Anatomia Vegetal. Cavidades secretoras. Óleos-essenciais.

## ABSTRACT

Croceous glands are visible structures defined by their rounded shape and yellowish color. They have great taxonomic importance, being used to delimit the *Timutua* section, one of the 14 sections of the subgenera *Polygala*, belonging to the genera *Polygala* L., the most representative of the family Polygalaceae, with about 120 species recorded for Brazil. However, croceous glands still lack more complete information about their nature. Thus, the present study aims to investigate the origin, structure and function of the croceous glands existing in the floral structures, fruit, leaf blades and stem of *Polygala adenophora* DC. Samples of flowers, fruit, leaf blades and stem of *P. adenophora* DC. at different stages of development (flower buds, fully developed flowers and fruits; stem and leaf samples were taken from the 1st, 3rd, 6th and 9th nodes), that were obtained from field collection. Collected samples were fixed in FAA<sub>50</sub> (formaldehyde, glacial acetic acid and 50% ethyl alcohol) or FNT (buffered neutral formalin) and submitted to standard techniques in light microscopy and scanning electron microscopy. Histochemical tests were carried out for lipophilic and hydrophilic substances. The results show that the croceous glands are secretory cavities, present formation of schizogenous origin, being found since the beginning of the development of vegetative and reproductive organs. The cavities secrete a substance of an exclusively lipophilic nature, composed of essential oils and lipids, this exudate possibly presents a protective function, acting in the defense against attacks and herbivory.

Keywords: Fabales. Plant Anatomy. Secretory cavities. Essential oils.



## INTRODUÇÃO

*Polygala* L. é o gênero de Polygalaceae com o maior número de espécies, aproximadamente 580 representantes amplamente distribuídos (Pastore, 2018), sendo registradas cerca de 120 espécies para o Brasil (BFG, 2015). É caracterizado por ervas clorofiladas (anuais a perenes) e arbustos; racemos (raramente com grupos axilares reduzidos); flores com quilha cristada; fruto em cápsula bilocular ou drupa, distribuído pelo planeta, com cálice persistente; margens da cápsula quase sempre inteiras (em geral com ápice emarginado, raramente crenado ou ondulado); sementes sem coroa de tricomas, mas geralmente com tricomas curtos ou glabras (Mota *et al.* 2019).

O gênero compreende dois subgêneros *Polygala* L. e *Chodatia* Paiva (Pastore, 2018). A classificação subgenérica é baseada em estudos filogenéticos realizados por Abbott (2009), em que *Polygala* é dividida entre os clados do Velho e Novo Mundo possivelmente distribuída entre 14 seções: *Brachytropis* DC., *Blepharidium* DC., *Chloropterae* (Chodat) Paiva, *Clinclinia* DC., *Conosperma* Paiva, *Leptaleae* (Chodat) Paiva, *Madecassa* Paiva, *Megatropis* Paiva, *Microlophium* Spach, *Monninopsis* A. Gray, *Polygala*, *Psychanthus* (Raf.) DC. e *Tetrasepalea* (Chodat) Paiva e *Timutua* DC.

Dentre as seções de *Polygala*, a seção *Timutua* é caracterizada pela presença de glândulas visíveis/cróceas, estilete arqueado terminado por uma cavidade pré-estigmática cimbiforme oblíqua, uma extremidade posterior com um apêndice com crista conspicuamente com tricomas abundantes (às vezes ausentes), um estigma globoso anterior, pétala de quilha cristada e cálice persistente no fruto. A seção está distribuída desde o Canadá até a Argentina, com 175 espécies, destas 99 espécies ocorrem no Brasil (Pastore e Harley, 2009; Pastore, 2018).

Apesar da importância das glândulas cróceas na delimitação de *Timutua*, essas estruturas ainda carecem de informações mais completas sobre sua natureza. Elas foram citadas em estudos realizados por Saint-Hilaire e Moquin (1828) e Chodat (1893), sendo apenas definidas pela coloração amarelada. Nesse contexto, estudos anatômicos detalhados podem produzir novas interpretações sobre as glândulas cróceas, com informações abrangentes sobre o desenvolvimento, a estrutura, tipo de substância secretada pelas glândulas entre as diferentes regiões que ocorrem na planta, permitindo relacionar tais estruturas a uma possível função. Diante disso, este estudo caracterizou a distribuição, estrutura e histoquímica das glândulas cróceas em *Polygala adenophora* DC.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram analisadas amostras de flores, fruto, raque floral, lâminas foliares e caule de *Polygala adenophora* DC. em diferentes estágios de desenvolvimento, obtidas a partir de coleta em campo. Para o estudo anatômico, selecionamos botões florais, flores e frutos totalmente desenvolvidos (Fig. 2A–G); amostras de caule e folhas foram extraídas dos 1º, 3º, 6º e 9º nós (Fig. 1A–G). As coletas foram realizadas em área de restinga com ocorrência de *Polygala adenophora* DC., na estrada do Crispim, localizada no município de Marapanim - PA. (coordenadas geográficas: 00°36'19.3"S; 47°40'17.4"W). O material testemunho foi herborizado e incorporado no Herbário João Murça Pires, localizado no Campus de pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém – Pará.

As amostras coletadas foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50) durante 24 horas (Johansen, 1940) ou em formalina neutra tamponada (FNT) por 48 horas (Lillie, 1965), mantidas sob vácuo e estocadas em etanol 70%. Posteriormente as amostras fixadas em FAA<sub>50</sub> foram desidratadas em série etílica terciária

para inclusão em Histoiresina (hidroxietilmetacrilato, Leica® Biosystems, Heidelberg, Alemanha), enquanto as amostras fixadas em FNT foram desidratadas em série butílica (álcool butílico terciário), etílica (álcool etílico) e incluídas em *Paraplast*®. Todas as amostras foram seccionadas transversal e longitudinalmente, usando micrótomo rotativo (modelo RM 2245, Leica® Biosystems, Heidelberg, Alemanha). As secções das amostras em Histoiresina foram coradas em Azul de Toluidina (Gerlach, 1977) e as lâminas montadas em resina (Permount®, Fisher Scientific, New Jersey, EUA). Observações e documentação fotográfica foram realizadas com microscópio de luz (modelo Leica DM6 B, Leica® Biosystems, Heidelberg, Alemanha) equipado com câmera digital (modelo LAS V4.12, Leica® Biosystems, Heidelberg, Alemanha). Macro-imagens foram obtidas utilizando estereomicroscópio (modelo SteREO Discovery V8, ©Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com câmera digital acoplada (modelo AxioCam ICc5, ©Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

As análises histoquímicas foram realizadas no material incluído em *Paraplast*®. Foram realizados testes histoquímicos para substâncias lipofílicas como: Sudan Black B (Pearse, 1985) e Sudan III (Johansen, 1940) para lipídios totais, Sulfato Azul do Nilo para lipídios ácidos e neutros (Cain, 1947), Reagente de NADI para óleos essenciais e óleo-resinas (David e Carde, 1964); e para substâncias hidrofílicas: PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent) para polissacarídeos totais (Jensen, 1962), Lugol para amido (Johansen, 1940), Reagentes de Dragendorff (Svedsen e Verpoorte, 1983) para alcalóides, Vanilina Clorídrica para taninos (Mace e Howell, 1974) e Cloreto Férrico para compostos fenólicos totais (Johansen, 1940).

No controle dos testes para substâncias lipofílicas, as amostras foram estocadas por 24-48 horas em solução extratora (metanol/clorofórmio/água/HCl) (High, 1984). Seguidamente, tais amostras foram fixadas em FNT e submetidas aos reagentes e corantes

mencionados. O controle dos testes para substâncias hidrofílicas foi realizado de acordo com as técnicas já descritas nos protocolos utilizados para cada teste.

Para as análises em microscopia eletrônica de varredura as amostras foram secas em ponto crítico de CO<sub>2</sub>, afixadas em suportes metálicos (stubs) através de fita de carbono dupla face e metalizadas com camada de ouro de 20 nm de espessura, por 150 segundos em corrente de 25 mA. As eletromicrografias foram obtidas por captura em microscópio eletrônico de varredura (modelo Tescan, Mira 3, Tescan® Orsay Holding, República Tcheca), utilizando-se elétrons secundários, aceleração eletrônica de 15 Kv e alto vácuo, no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi.

## **RESULTADOS**

### **Aspectos morfológicos e distribuição**

As glândulas cróceas de *Polygala adenophora* DC. estão localizadas no caule, nas folhas, raque floral, sépalas externas inferiores, carena, ovário e na capsula do fruto (Figuras 1 e 2). Externamente, elas possuem coloração amarelada e pouco se diferenciam das demais células da epiderme, não possuindo nenhuma abertura para exsudação, sendo que os estômatos presentes não apresentam função de via de liberação do exsudado.

As cavidades estão presentes durante todo o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, desde os estágios iniciais dos órgãos (botões florais, flores, frutos, caule e folhas).

### **Aspectos anatômicos e desenvolvimento**

Em secção transversal e longitudinal, todas as cavidades são estruturalmente similares, apresentando células epiteliais achatadas, multisseriadas e lúmen oval a arredondado (Figuras 3–7).

O processo de diferenciação celular e formação das cavidades secretoras se inicia em uma única célula parenquimática com conteúdo citoplasmático denso e núcleo bem evidenciado, denotando intensa divisão celular, formando um aglomerado esférico ou oval. Em seguida, as células centrais do aglomerado aumentam seu volume citoplasmático e suas paredes se tornam extremamente delgadas. A partir daí, há o início da formação do lúmen por meio do afastamento das células centrais, observando-se o aparecimento de espaços intercelulares até que a formação do lúmen esteja completa, sendo realizada pelo processo de esquizogênese (Figura 3A–I).

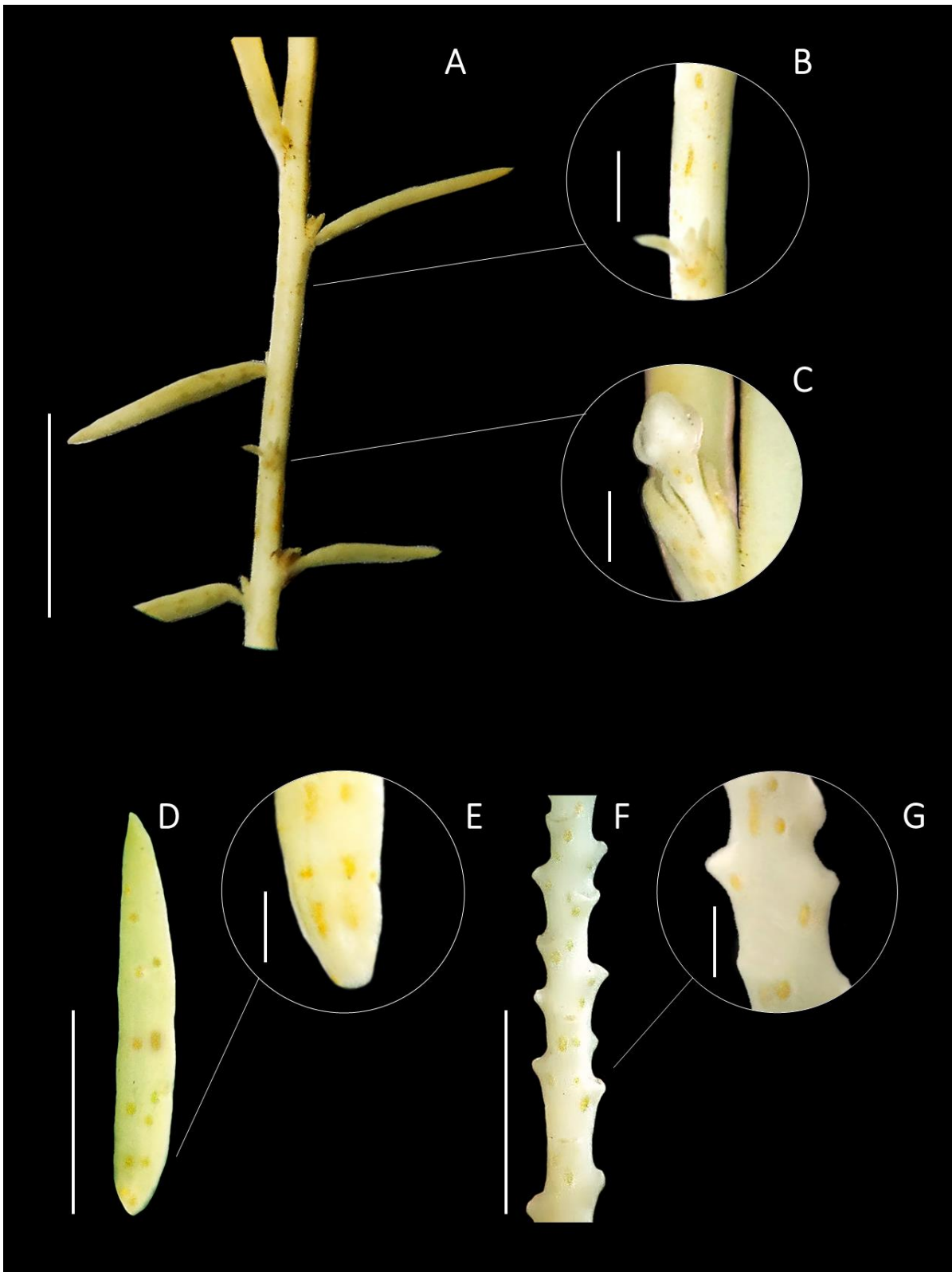
Nos órgãos vegetativos, as cavidades estão distribuídas por todo o caule, folhas e raque floral (Figura 1A–G). Internamente, estão localizadas no córtex caulinar e no parênquima esponjoso (Figuras 4A–F; 5A–E; 8D e E). Nos três órgãos, em secção transversal, as cavidades apresentam contorno esférico, com epitélio secretor multisseriado constituído por células de parede delgada, achatadas e alongadas concentricamente, delimitando o lúmen isodiamétrico (Figura 4A, B, D e E). Já em secção longitudinal, as cavidades do caule e da raque floral exibem lúmen estreito e alongado, esse formato ocorre provavelmente pela anastomose de duas ou mais cavidades (Figuras 4C; 5C e E), enquanto as cavidades foliares possuem lúmen arredondado a oval (Figura 4F).

Nos órgãos reprodutivos as cavidades são observadas nas sépalas inferiores externas, carena e ovário, sendo persistentes até o desenvolvimento do fruto (Figuras 6A–G e 7A–E). Nas partes reprodutivas, em secção transversal, as cavidades apresentam contorno arredondado, com epitélio secretor multisseriado de parede celular delgada, com células achatadas e alongadas de forma concêntrica, que delimitam o lúmen isodiamétrico,

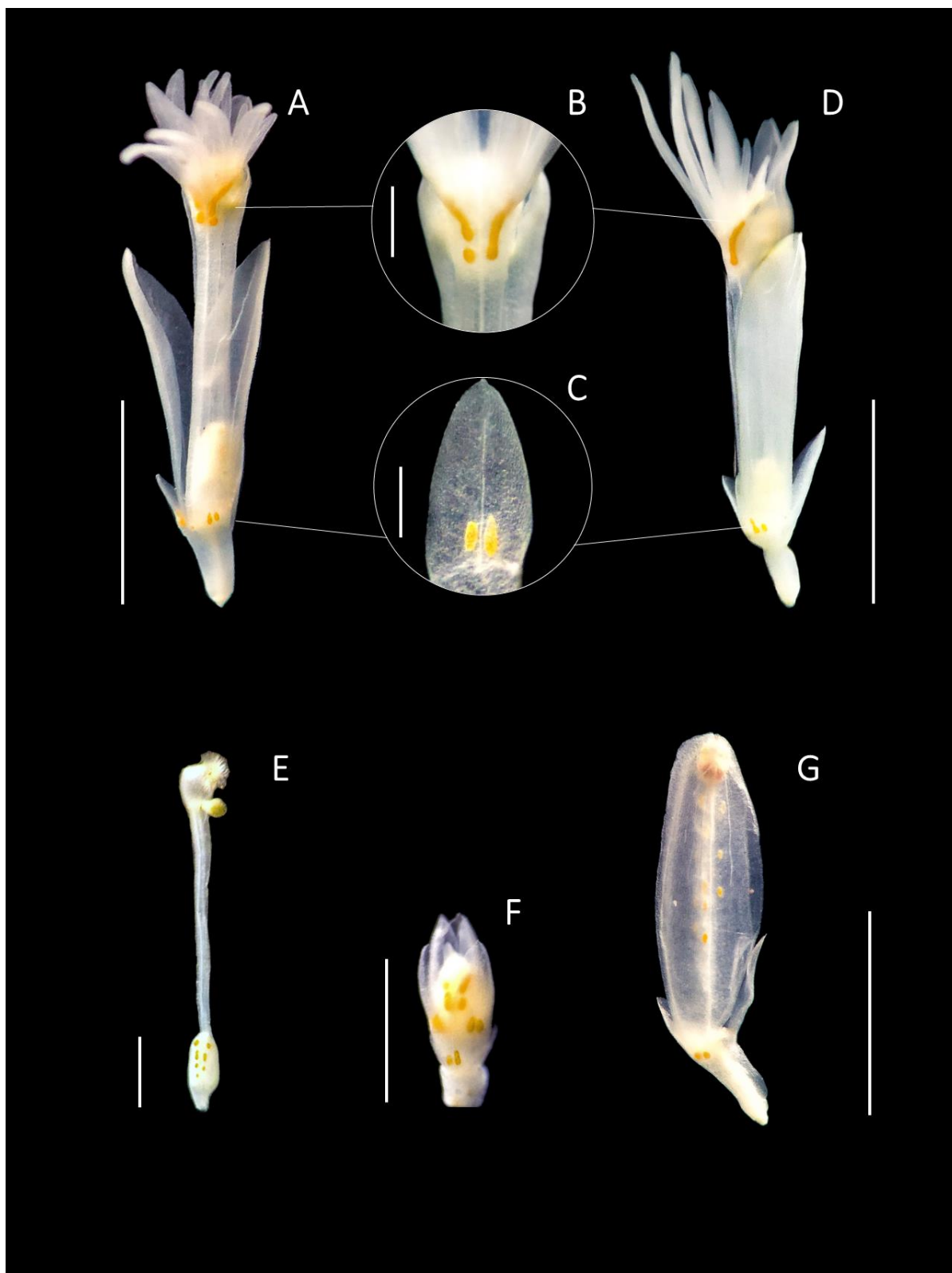
excetuando-se as cavidades do fruto que apresentam lúmen oval. Em secção longitudinal, as cavidades possuem lúmen oval a arredondado (Figuras 6B, D e G; 7C e E).

### **Composição da secreção**

Os testes histoquímicos realizados nas cavidades secretoras apresentaram resultados positivos apenas para os reagentes utilizados para detectar compostos lipofílicos. Compostos hidrofílicos e fenólicos não foram detectados, conforme evidenciado pela reação negativa aos reagentes PAS, Lugol, Dragendorff, Vanilina Clorídrica e Cloreto Férrico (Tabela 1). As cavidades, tanto dos órgãos vegetativos quanto reprodutivos, apresentaram secreção de natureza exclusivamente lipídica e terpenóide, reagindo de forma positiva para os testes Sudan Black B com coloração preto azulada (Figura 9A, E, I, M, Q e U) e Sudan III com coloração alaranjada para lipídios totais (Figura 9B, F, J, N, R e V); Sulfato Azul do Nilo com coloração azul para lipídios ácidos (Figura 9C, G, K, O, S e W); e Reagente de Nadi com coloração azulada para óleos essenciais (Figura 9D, H, L, P, T e X); (Tabela 1). O exsudato foi preservado somente no interior do células epiteliais, não sendo observado no lúmen (Figura 9A–X). Tais cavidades podem ser classificadas como oleíferas, por apresentarem exsudato composto por terpenos voláteis (Nadi) e lipídios (Sudan Black B, Sudan III e Sulfato Azul do Nilo).

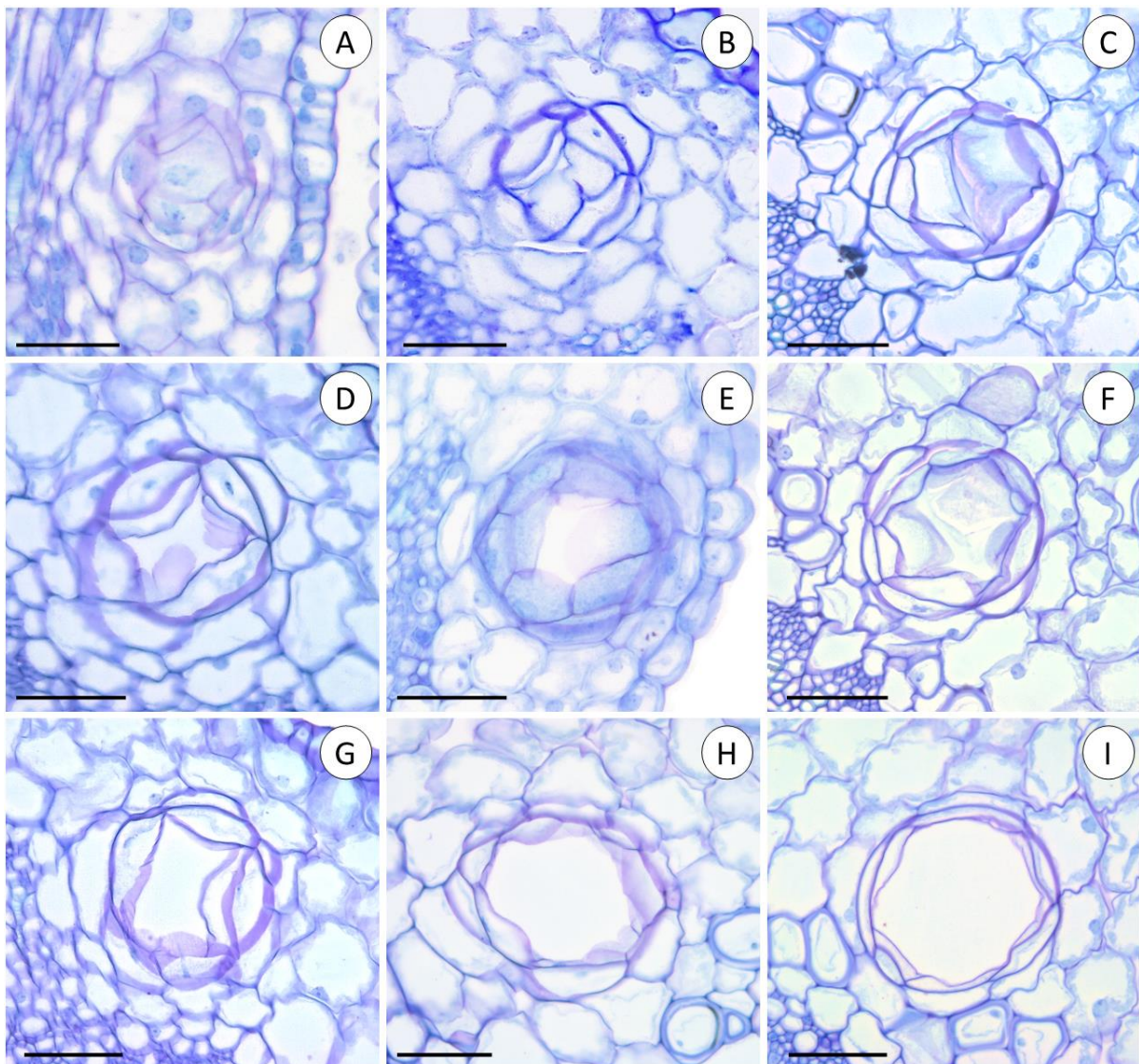


**Figura 1.** Morfologia externa dos órgãos vegetativos de *Polygala adenophora* DC. A. Caule; B. Detalhe das glândulas cróceas no caule; C. Detalhe das glândulas cróceas na gema lateral; D. Lâmina foliar; E. Detalhe das glândulas cróceas na lâmina foliar; F. Raque floral; G. Detalhe das glândulas cróceas na raque floral. Barras: A= 2cm; B, C, E e G= 3mm; D e F= 1cm.



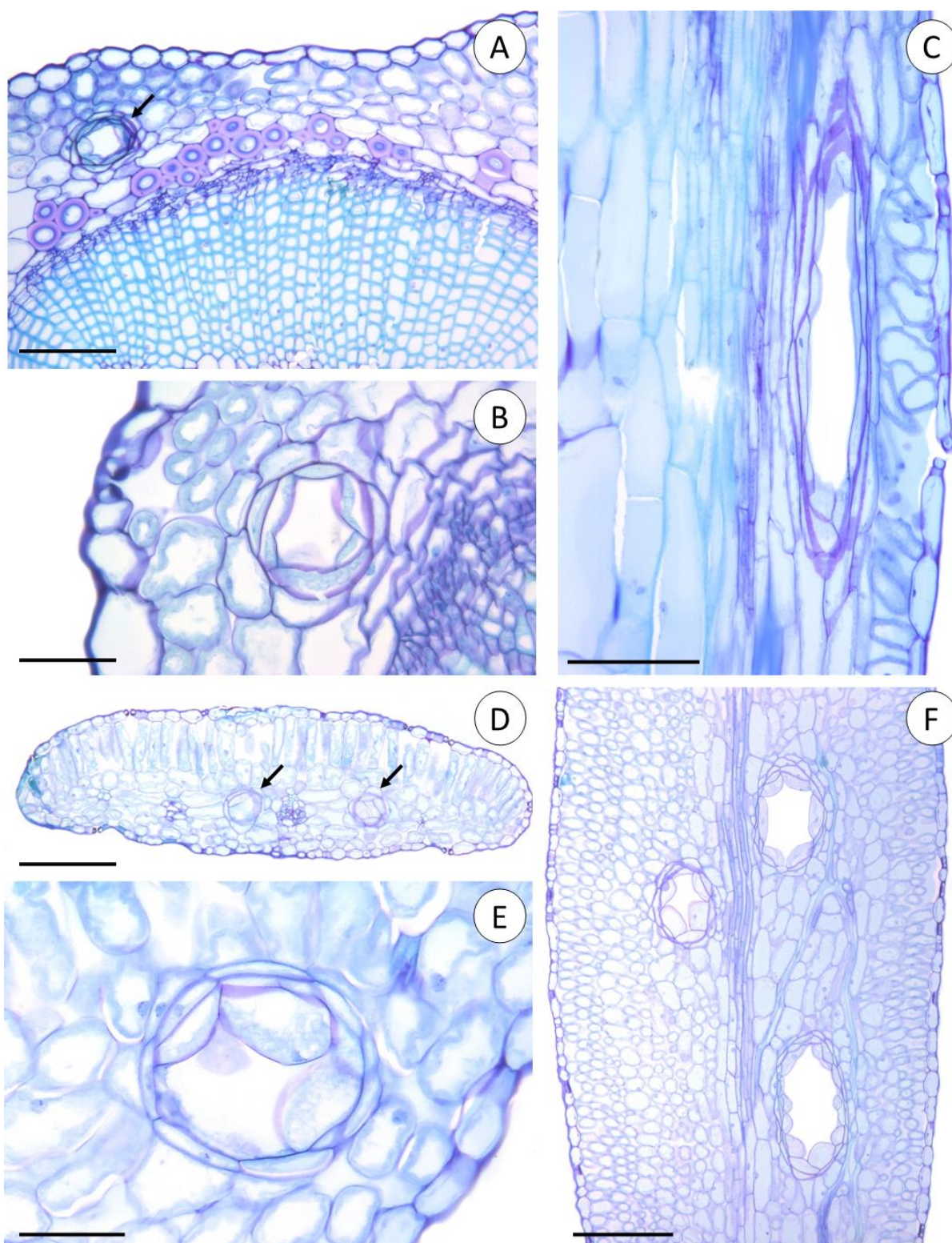
**Figura 2.** Morfologia externa dos órgãos reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A. Vista frontal da flor; B. Detalhe das glândulas cróceas na carena; C. Detalhe das glândulas cróceas na sépala externa inferior; D. Vista lateral da flor; E. Gineceu; F. Botão floral; G. Fruto do tipo cápsula. Barras: A, D e G= 3mm; B, C e E= 1mm; F= 2mm.





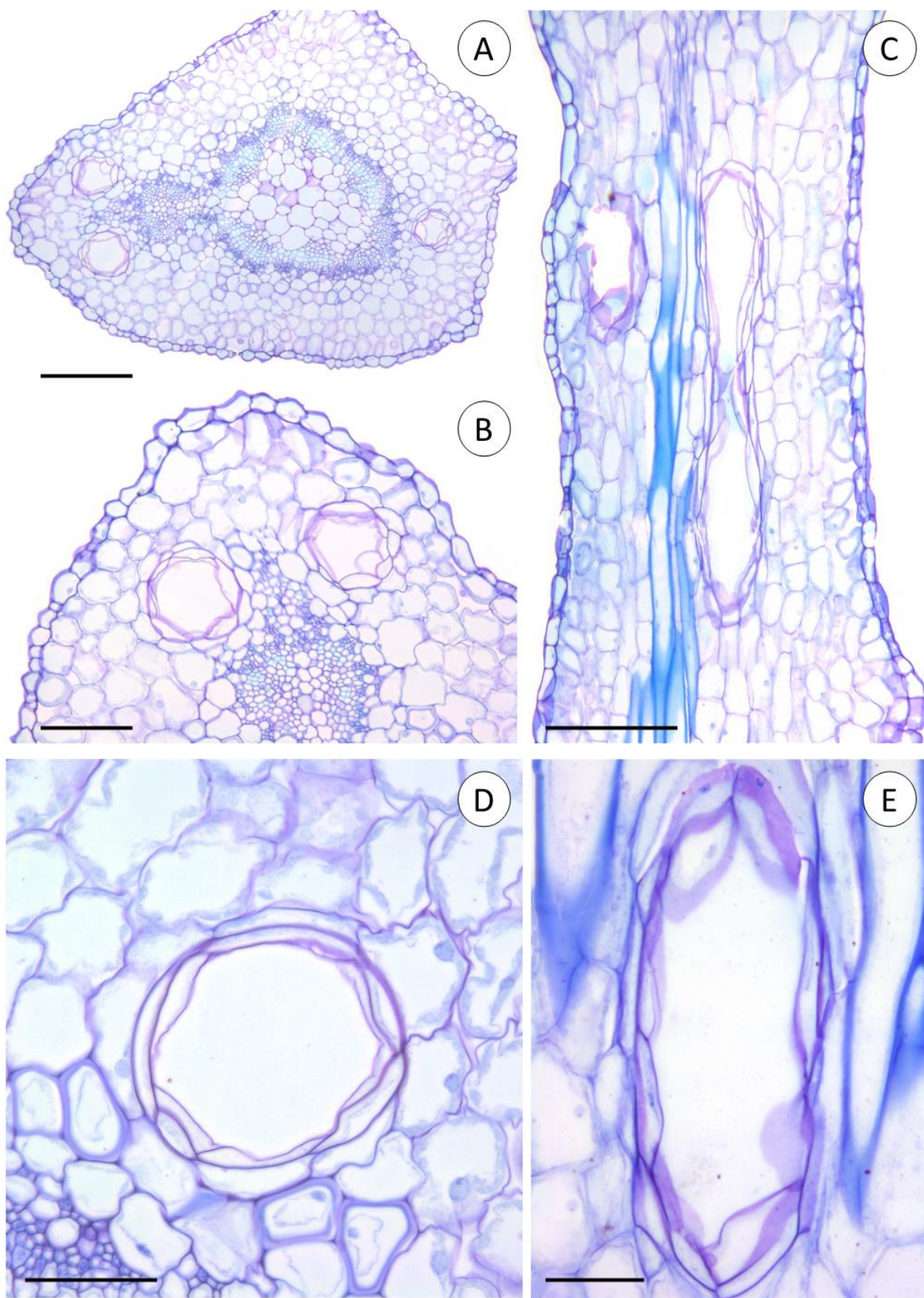
**Figura 3.** Desenvolvimento das cavidades secretoras na raque floral de *Polygala adenophora* DC. em secção transversal. A–C. Glândula em estágio inicial, evidenciando intensa divisão celular. D–F. Glândula com epitélio secretor em formação. G e H. Formação do lúmen da cavidade pelo afastamento das células em desenvolvimento. I. Cavidade em estágio de desenvolvimento final, com epitélio secretor multisseriado de células de parede delgada, achatadas e alongadas concentricamente, delimitando o lúmen isodiamétrico. Barras: A–I= 50µm





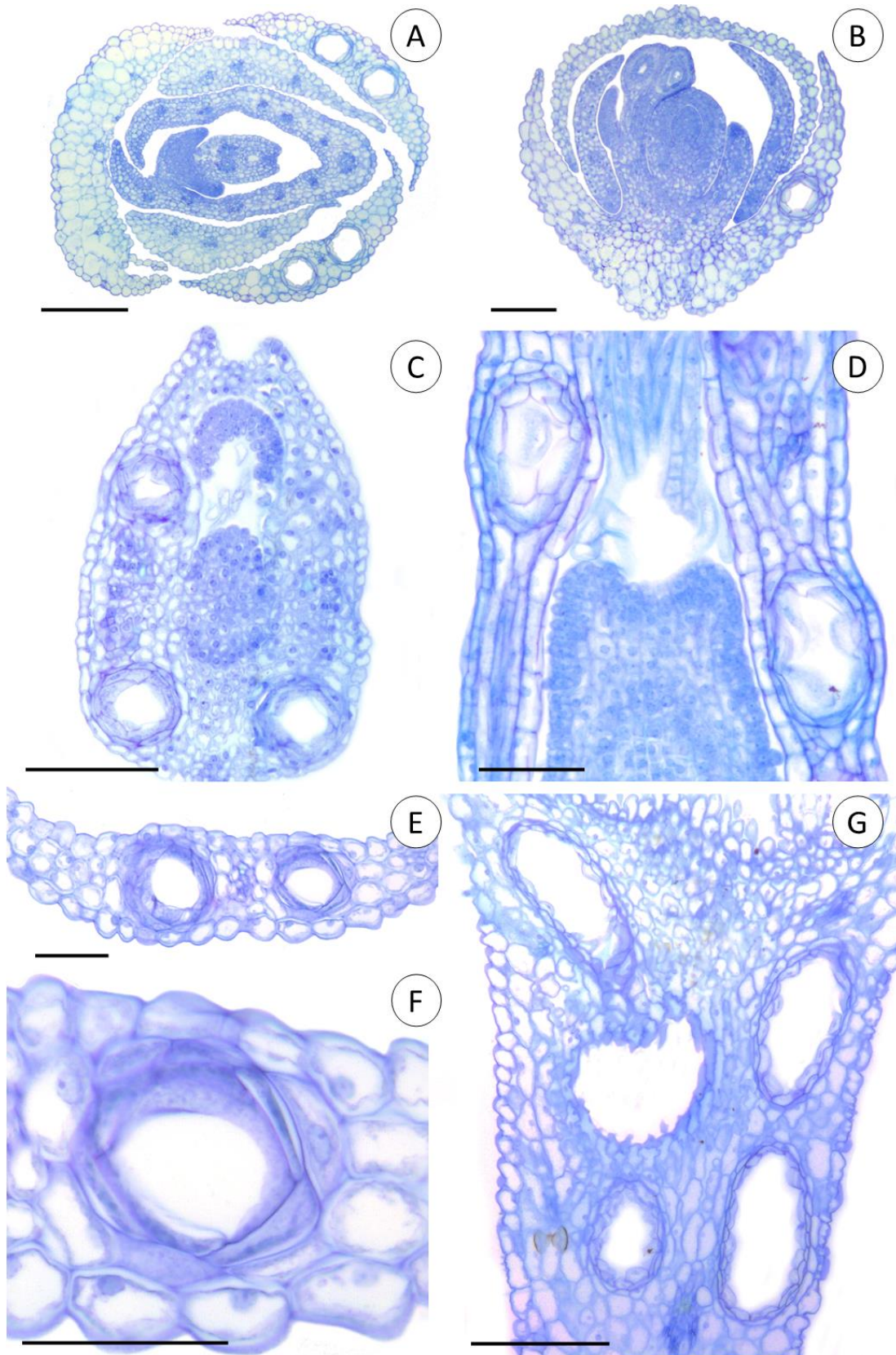
**Figura 4.** Cavidades secretoras nos órgãos vegetativos de *Polygala adenophora* DC. A e B. Caule em secção transversal; B. Detalhe das glândulas cróceas no caule; C. Caule em secção longitudinal; D e E. Lâmina foliar em secção transversal; E. Detalhe das glândulas cróceas na lâmina foliar; F. Lâmina foliar em secção longitudinal. Legenda: Setas= Cavidades secretoras. Barras: A e C= 100 $\mu$ m; B e E= 50 $\mu$ m; D e F= 200 $\mu$ m.



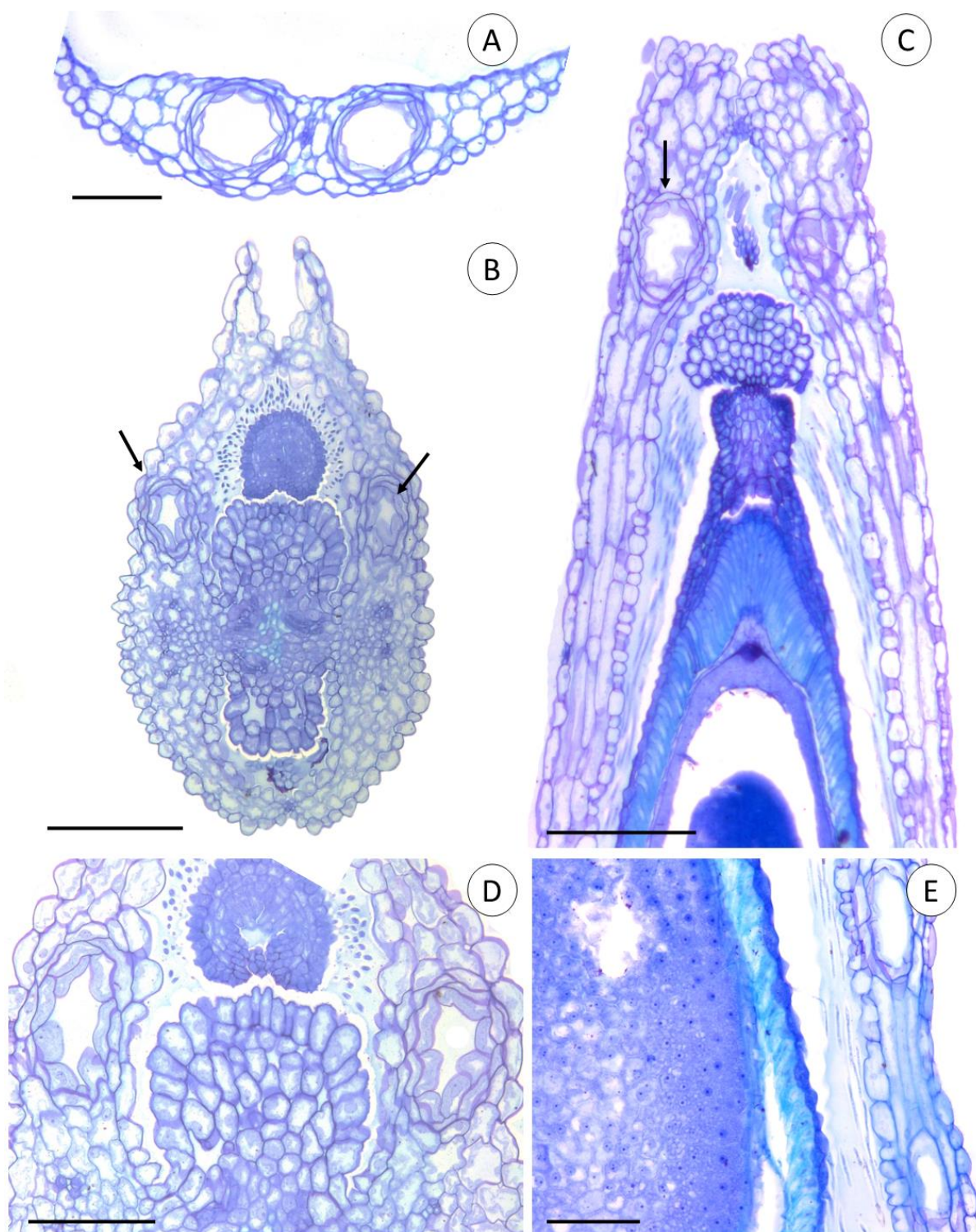


**Figura 5.** Cavidades secretoras na raque floral de *Polygala adenophora* DC. A, B e D. Raque floral em secção transversal; C e E. Raque floral em secção longitudinal. D e E. Detalhe das glândulas cróceas. Barras: A e C= 200 $\mu$ m; B=100 $\mu$ m; D e E= 50 $\mu$ m.



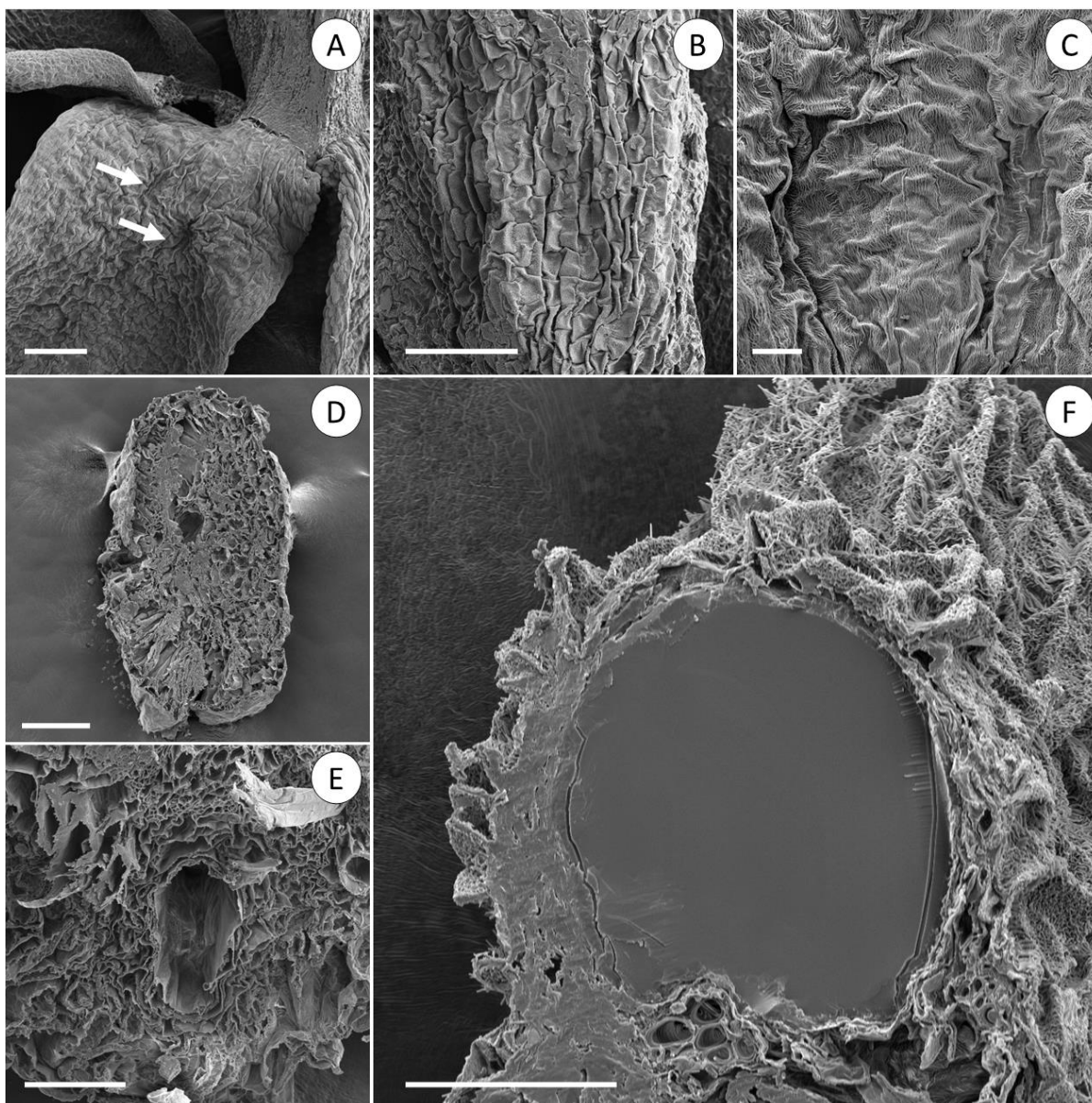


**Figura 6.** Cavidades secretoras nos órgãos reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A. Botão floral em secção transversal; B. Botão floral em secção longitudinal; C. Ovário em secção transversal; D. Ovário em secção longitudinal; E e F. Sépala inferior externa em secção transversal; F. Detalhe da cavidade secretora na sépala inferior externa; G. Carena em secção longitudinal. Barras: A e G=200 $\mu$ m; B e C=100 $\mu$ m; D–F= 50 $\mu$ m.

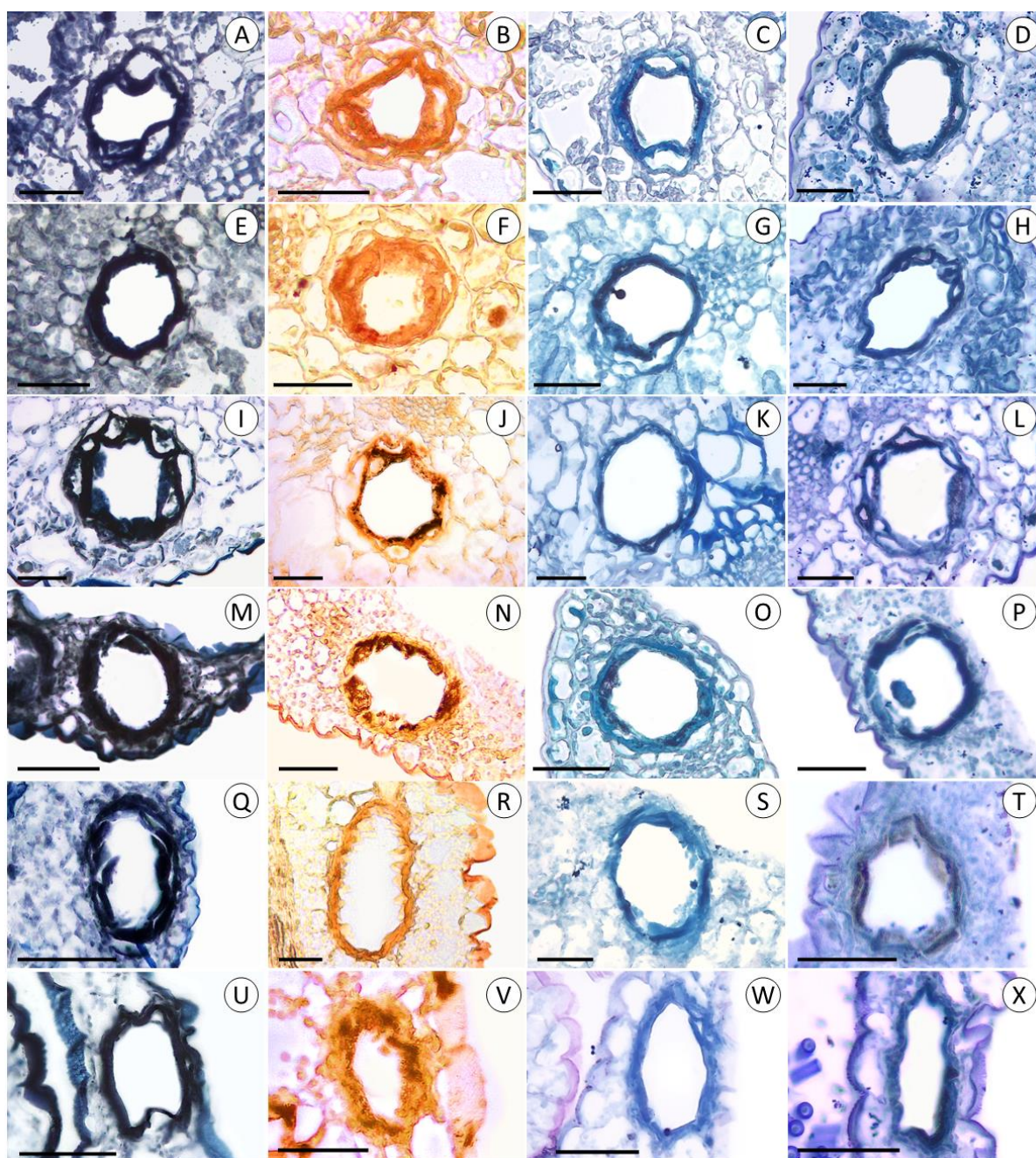


**Figura 7.** Cavidades secretoras nos órgãos reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A. Sépala inferior externa (cálice persistente no fruto) em secção transversal; B e D. Fruto em secção transversal; C e E. Fruto em secção longitudinal. Legenda: Setas= Cavidades secretoras. Barras: A, D e E=100 $\mu$ m; B e C= 200 $\mu$ m.





**Figura 8.** Eletromicrografias das cavidades secretoras nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A–C. Superfície; D–F. Corte transversal; A. Superfície da sépala inferior externa; B. Superfície da carena; C. Detalhe das glândulas cróceas na superfície da sépala inferior externa; D. Corte transversal da lâmina foliar; E. Corte transversal do caule; F. Corte transversal da sépala inferior externa evidenciando cavidade preenchida por conteúdo. Legenda: Setas= Cavidade. Barras: A, B e D= 100 $\mu$ m; C= 20 $\mu$ m; E e F= 50 $\mu$ m.



**Figura 9.** Reações histoquímicas das cavidades secretoras nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. A–D. Caule; E–H. Lâmina foliar; I–L. Raque floral; M–P. Botão floral; Q–T. Flor; U–X. Fruto; A, E, I, M, Q e U. Sudan Black B; B, F, J, N, R e V. Sudan III; C, G, K, O, S e W. Sulfato Azul do Nilo; D, H, L, P, T e X. Reagente de Nadi. Barras: A–X= 50µm.

**Tabela 1.** Resultados dos testes histoquímicos realizados nas glândulas cróceas de *Polygala adenophora*. SuB: Sudan Black B; SuIII: Sudan III; SAN: Sulfato Azul do Nilo; Nadi: Reagente de Nadi; PAS: Periodic Acid Schiff; Lu: Lugol; Drgff: Reagente de Dragendorff; ClFe: Cloreto Férrico. +: resultado positivo; -: resultado negativo.

Reagente	Metabólitos	Órgão					
		Caule	Folha	Raque	Botão	Flor	Fruto
SuB	lipídios totais	+	+	+	+	+	+
SuIII		+	+	+	+	+	+
SAN	lipídios ácidos e neutros	+	+	+	+	+	+
Nadi	óleos essenciais e óleo-resinas	+	+	+	+	+	+
PAS	polissacarídeos totais	-	-	-	-	-	-
Lu	amido	-	-	-	-	-	-
Drgff	alcalóides	-	-	-	-	-	-
VCl	taninos	-	-	-	-	-	-
ClFe	compostos fenólicos totais	-	-	-	-	-	-



## DISCUSSÃO

Das seções de *Polygala* L., a seção *Timutua* é caracterizada pela presença de glândulas cróceas, utilizadas em sua delimitação. Essas estruturas observadas nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. apresentam epitélio secretor multisseriado de células de parede delgada, achatadas e alongadas concentricamente, delimitando lúmen esférico que armazena exsudato, caracterizando a estrutura como cavidade secretora. Através dos resultados obtidos, tais cavidades serão aqui denominadas como cavidades cróceas.

Aguiar-Dias *et al.* (2012) relataram a ocorrência de cavidades lisígenas no mesófilo de *Polygala paniculata* L. Estas estruturas também foram citadas em folhas de espécies de *Polygala* por Chodat (1893), Solereder (1908), Metcalfe e Chalk (1950) e Eriksen (1993b), que salientaram a importância taxonômica das glândulas para os gêneros de Polygalaceae.

As cavidades cróceas acompanham todo o crescimento vegetativo e reprodutivo, estando presentes desde os estágios iniciais de desenvolvimento dos órgãos, já apresentando secreção desde estes estágios mais iniciais. Acredita-se que há uma motivação protetora para a existência de tais cavidades durante todo o desenvolvimento da planta. A diferenciação da cavidade secretora é evidenciada por conjuntos de células com citoplasma denso e núcleo bem visível, denotando intensa divisão celular. A formação do lúmen das cavidades cróceas ocorre através do afastamento das células em desenvolvimento, mostrando que as cavidades se desenvolvem por esquizogênese (Fahn, 1979), diferente das descritas por Aguiar-Dias *et al.* (2012) em *Polygala paniculata* L. onde a diferenciação das cavidades se deu pelo processo de lise (morte) celular.

As cavidades cróceas encontradas nos órgãos vegetativos e reprodutivos apresentaram variação morfológica, em sua maioria possuem lúmen isodiamétrico, porém

no caule e na raque floral apresentam lúmen ligeiramente alongado longitudinalmente, descrito por Thadeo *et al.* (2009) como “cavidades tubulares”; esse formato ocorre provavelmente devido ao processo de anastomose de duas ou mais cavidades contíguas. Apesar do formato mais alongado, tais estruturas não podem ser classificadas como ductos ou canais, pois estes tem por característica fundamental sua estrutura muito alongada.

Os testes histoquímicos realizados descartaram a presença de polissacarídeos totais com resultado negativo para PAS; amido com reação negativa para Lugol; alcaloides com resultado negativo para reagente de Dragendorff; taninos com resultado negativo para Vanilina Clorídrica e compostos fenólicos com reação negativa para Cloreto Férrico. As cavidades cróceas, tanto dos órgãos vegetativos quanto reprodutivos, apresentaram secreção exclusivamente lipídica e terpenóide. Substâncias de natureza lipofílica são comuns nesse tipo de estrutura (Fanh, 1979). O exsudato é composto por óleos essenciais, sendo terpenos de baixo peso molecular, conforme revelado pelo Reagente de Nadi; e por lipídios como evidenciado pelos reagentes Sudan Black B, Sudan III e Sulfato Azul do Nilo. Por tais resultados, as cavidades cróceas podem ser classificadas como cavidades oleíferas.

A secreção das cavidades é preservada no interior do células epiteliais, não sendo encontrado exsudato no lúmen, assim como observado por Aguiar-Dias *et al.* (2011) nos ductos mucilaginosos do caule de *Polygala angulata* DC. As cavidades cróceas não possuem nenhuma abertura para exsudação e os estômatos presentes, não apresentam função de via de liberação do exsudado.

Acredita-se que o exsudato secretado pelas glândulas cróceas, de composição lipídica e terpenica, apresente função protetora, tanto por sua composição quanto pela constância de sua ocorrência nos órgãos vegetativos e reprodutivos, atuando possivelmente no combate a ataques e à herbivoria. Para autopreservação, plantas produzem misturas de compostos

voláteis em resposta a danos e ataque de herbívoros, patógenos e parasitas (Dudareva *et al.*, 2006; Dudareva *et al.*, 2013).

## **CONCLUSÕES**

As glândulas cróceas observadas nos órgãos vegetativos e reprodutivos de *Polygala adenophora* DC. foram identificadas como cavidades secretoras de óleos essenciais. As cavidades estão presentes durante todo o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo. O exsudato fica retido no lúmen da estrutura, que não possui via de liberação. Acredita-se que o exsudato apresente função protetiva, atuando na defesa contra ataques e herbivoria, dada sua ocorrência de forma constante e em toda a planta. No entanto, destaca-se a importância de que investigações semelhantes continuem a ser realizadas nos demais táxons que possuem essas glândulas, para que haja melhor compreensão de sua função.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida a Augusto César Jorge; e aos Laboratórios de Anatomia Vegetal e Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi, onde foram realizadas análises morfoanatômicas. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

Abbott, J. R. 2009. *Phylogeny of the Polygalaceae and a revision of Badiera*. Tese de Doutorado, University of Florida, Florida. 291p.

Aguiar-Dias, A. C. A.; Cardoso-Gustavson, P. 2011. Ontogeny of the mucilage ducts of *Polygala angulata* DC. (Polygalaceae). *Journal of the Torrey Botanical Society*. 138: 255-261.

Aguiar-Dias, A. C. A.; Yamamoto, K.; Castro, M. M. 2012. Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* de restinga e cerrado. *Rodriguésia*. 63: 395–404.

APG IV - The Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 181: 1–20.

BFG - The Brazil Flora Group. 2015. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*. 66: 1085–1113.

Cain, A. J. 1947. The use of Nile blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science*. 88: 383–392.

Chodat, R. H. 1893. Monographia polygalacearum. *Memoires de la Société de physique et d'histoire naturelle de Genève*. 31 : 1–500.

Chodat, R. H. 1896. Polygalaceae. *In*: Engler, H. G. A.; Prantl, K. A. E. *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, 3: 323–345.

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 de l'Académie des Sciences Paris*. 258: 1338–1340.

Dudareva N., Klempien A., Muhlemann J.K., Kaplan I. 2013. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*. 198: 16–32.

Dudareva N., Negre F., Nagegowda D.A., Orlova I. 2006. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical reviews in plant sciences*. 25: 417–440.

Eriksen, B. 1993a. Floral anatomy and morphology in the Polygalaceae. *Plant Systematics and Evolution*. 186: 17–32.

Eriksen, B. 1993b. Phylogeny of the Polygalaceae and its taxonomic implications. *Plant Systematics and Evolution*. 186: 33–55.

Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. 1<sup>a</sup> ed. Academic Press, London, 1979, 302p.

Gerlach, D. 1977. *Botanische mikrotechnik*. 1<sup>a</sup> ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1977, 311 p.

High, O. B. 1984. *Lipid histochemistry*. 1ª ed. Oxford University Press, New York, 1984. 68 p.

Jensen, W. A. 1962. *Botanical histochemistry*. 1ª ed. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1962. 408 p.

Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. 1ª ed. McGraw–Hill Book Company, London, 1940. 530 p.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F.; Donoghue, M. J. 2009. *Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético*. 3ª ed. Artmed Editora, Porto Alegre. 2009. 632 p.

Lillie, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3ª ed. McGraw Hill, New York. 1965. 751p.

Lima, I. G.; Albuquerque, A. M. L.; Aguiar-Dias, A. C. A.; Loiola, M. I. B. 2018. Flora do Ceará, Brasil: Polygalaceae. *Rodriguésia*. 69: 673–692.

Mace, M. E.; Howell, C. R. 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. *Phytopathology*. 64: 1297–1302.

Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. 2da ed. Clarendon Press, Oxford. 1950. 724p.

Mota, M.; Abbott, J. R.; Salas, R. M.; Neubig, K. M.; Pastore, J. F. B. 2019. Three lonely Argentines: Toward a new generic delimitation in Polygalaceae. *Taxon*. 1: 1–15.

Pastore, J. F. B. 2018. *Polygala veadeiroensis* (Polygalaceae), a new species of *Polygala* endemic to Chapada dos Veadeiros, Goiás, Brazil. *Kew Bulletin*, 73: 37.

Pastore, J. F. B.; Harley, R. M. 2009. *Polygala taciana* (Polygalaceae), a new endemic species from Chapada dos Veadeiros region, Goiás state, Brazil. *Kew Bulletin*, 64: 705–708.

Pastore, J. F. B.; Ludtke, R.; Ferreira, D. M. C.; Kuntz, J. 2015. Polygalaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB195>). Acesso em: 16 de set. 2021.

Pastore, J. F. B.; Silveira, J. B. 2016. Flora of the cangas of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Polygalaceae. *Rodriguésia*. 67: 1451–1458.

Pearse, A. G. E. 1985. Histochemistry theoretical and applies. 2da ed. Livingstone, Edinburgh, 1985. 530 p.

Persson, C. 2001. Phylogenetic relationships in Polygalaceae based on plastid DNA sequences from the trnL-F region. *Taxon*. 50: 763–779.

Saint-Hilaire, A. F. C. P.; Moquin-Tandon, C. B. A. 1828. *Conspectus Polygacearum Brasiliae Meridionalis. Anais da Sociedade de Ciências, Belles-Lettres e Arts d'Orléans*. 9: 44–59.

Solereeder, H. 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied botany*. 1ª ed. Clarendon Press, Oxford. 1908. 1182p.

Svedsen, A. B; Verpoorte, R. 1983. *Chromatography of alkaloids*. 1ª ed. Elsevier Scientific Publish Company, New York. 1983. 531 p.

Thadeo, M.; Alves-Meira, R.M.S; Azevedo, A.A. & Araújo, J.M. 2009. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras da folha de *Casearia decandra* Jacq. (Salicaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. 32: 329–338.