



Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro
Escola Nacional de Botânica Tropical
Programa de Pós-graduação em Botânica

Dissertação de Mestrado

Estruturas secretoras foliares em *Ceiba*
(Malvaceae – Bombacoideae): ontogenia, anatomia e
histoquímica

Lívia Peixoto Gonçalves

Rio de Janeiro
2023



Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro
Escola Nacional de Botânica Tropical
Programa de Pós-graduação em Botânica

Estruturas secretoras foliares em *Ceiba*
(Malvaceae – Bombacoideae): ontogenia, anatomia e
histoquímica

Lívia Peixoto Gonçalves

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientadora: Karen Lúcia Gama De Toni
Coorientadores: Bruna Nunes de Luna e Massimo G. Bovini

Rio de Janeiro
2023

Título: Estruturas secretoras foliares em *Ceiba* (Malvaceae –
Bombacoideae): ontogenia, anatomia e histoquímica

Lívia Peixoto Gonçalves

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Escola Nacional de Botânica Tropical, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro - JBRJ, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre.

Aprovada por:

Profa. Karen L. Gama De Toni (Orientadora)

Profa. Cláudia F. Barros

Dra. Mariana Alves

em 05/04/2023.

Rio de Janeiro
2023

Gonçalves, Livia Peixoto.

G635e Estruturas secretoras foliares em Ceiba (Malvaceae – Bombacoideae): ontogenia, anatomia e histoquímica / Livia Peixoto Gonçalves. – Rio de Janeiro, 2023.

x, 45 f. : il. ; 28 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro / Escola Nacional de Botânica Tropical, 2023.

Orientadora: Karen Lúcia Gama De Toni.

Coorientadores: Bruna Nunes de Luna; Massimo G. Bovini.

Bibliografia.

1. Bombacaceae. 2. Ceiba. 3. Estrutura secretora. 4. Ontogenia. 5. Anatomia vegetal. 6. Idioblastos mucilaginosos. 7. Nectários extraflorais. I. Título. II. Escola Nacional de Botânica Tropical.

CDD 583.68

Agradecimentos

De maneira geral, agradeço a todos que me apoiaram e incentivaram de alguma forma a não desistir e a continuar com este trabalho. Por todas as palavras de afeto e motivação que recebi; pois além de desenvolver pesquisa atravessando uma pandemia, foram muitos os desafios em paralelo, impostos de maneira inesperada e desafiadora pela vida. Fazer mestrado era um sonho distante, e que com muita determinação, foi de fato posto em realidade. Um salto de fé e coragem. A todas essas pessoas que por mim cruzaram, por cada olhar atento e trocas genuínas que recebi, por cada "pequeno" grande momento, que para mim é o que carrego e considero como mais significativo no decorrer de todo este processo, meu muito obrigada.

Dedico em especial este trabalho ao meu pai, que hoje não pode mais acompanhar de perto a minha trajetória, mas que desde o começo me apoiou e encorajou; que sempre foi acima de tudo um grande amigo e admirador pessoal. A vontade de sentir de novo seu abraço apertado e ouvir de perto o som da sua gargalhada engraçada é imensa. Bem como, a saudade de sentarmos juntos e partilharmos boa música. Sei que em algum lugar deste universo, ele está vibrando sua energia boa por mim e coisas positivas.

Agradeço à minha mãe, a pessoa mais doce que já conheci, que acompanha fielmente minha caminhada e me ajuda a segurar as pontas das mais variadas formas possíveis. À minha irmã Flávia, por também ser um ponto de luz e alegria em minha vida. Em especial, agradeço à minha filha, que é a força motriz maior de todos os dias, que me faz sempre levantar e seguir adiante. Minha melhor amiga e parceira de vida. O ser mais lindo, e de certo, com muita convicção, a impressão mais importante que deixarei minha para este mundo. Te amo!

Agradeço à minha orientadora Karen De Toni, que desde o começo dessa minha grande aventura que foi o mestrado acadêmico, apostou todas suas fichas em mim e foi sempre muito precisa em seus conselhos; quando expus seguidas vezes a árdua travessia de um dos momentos pessoais mais difíceis e complicados da minha vida. Que me acolheu em sua sala e disse que desistir não era uma opção. Sou muito grata por tudo!

Agradeço muito também a minha amiga e coorientadora Bruna de Luna, que desde o início também me apoiou, conseguindo enxergar potencial em mim antes mesmo que eu o fizesse e muito ensinou. Tanto sobre conhecimentos técnicos quanto sobre a vida. Que desde o curso de Extensão em Anatomia Vegetal, conseguiu me cativar com suas aulas,

me fazendo apaixonar e querer trabalhar com estruturas tão peculiares, que são as estruturas secretoras em plantas. Sou muito grata por toda sua dedicação, paciência, amorosidade e atenção.

Ao também co-orientador Massimo Bovini, por todo auxílio e conhecimento disponibilizado sobre a família Malvaceae.

Um agradecimento especial à minha amiga querida Lauany Pelissari, que também muito me ensinou sobre Anatomia Vegetal e motivou a seguir. Me fez acreditar sobretudo que a ciência pode sim ser feita por mulheres como eu, que a academia é sim, afinal, um lugar para mim. Me ajudou a reconhecer e ressignificar o sentido de pertencimento. Um espaço que de fato comecei a galgar, a conquistar por minha conta e merecimento real. Saudades imensas das nossas resenhas, das ideias revolucionárias sobre como o mundo pode melhorar, de como podemos nele atuar para tal e das receitas veganas.

Aos amigos que fiz no Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, que me ensinaram tanto e motivaram. Agradeço por cada conversa, desabafo e risada. Estes amigos levarei para toda a vida em meu coração! Quantas pessoas incríveis, com histórias diferentes e interessantes. Alguns nomes em especial, como Wallace, Haíssa, Carlos, Talvanis, Sanny, Gabriel, Jamile e Jefferson.

À Escola Nacional de Botânica Tropical, por todo apoio e compreensão nesse meu processo intenso. A cada funcionário da escola e da DIPEQ, em especial à Dona Andrea da copa, sempre muito cuidadosa comigo, com o mais delicioso café, e à Celma, pela confiança e por facilitar o uso das salas da DIPEQ em dias não convencionais.

A todo pessoal do Laboratório de Botânica Estrutural e aos técnicos Rogério e Elaine, por todo suporte.

À Faperj, pelo auxílio financeiro e apoio para o desenvolvimento da minha pesquisa.

"Acredite no poder da palavra desistir

Tire o D, coloque o R

Que você tem Resistir" (Bráulio Bessa)

Resumo

Espécies do gênero *Ceiba* (Bombacoideae, Malvaceae) apresentam cavidades secretoras, canais/ductos e/ou idioblastos com conteúdo, principalmente, mucilaginoso. Os poucos registros encontrados para o gênero geram interpretações conflitantes, pois a descrição das estruturas secretoras não é consenso e, por vezes, estruturas secretoras distintas recebem classificações semelhantes. O presente estudo objetiva descrever a diversidade de estruturas secretoras nas folhas de espécies de *Ceiba*, incluindo sua ontogenia e histoquímica. Para tanto foram utilizados métodos usuais em microscopia ótica e eletrônica de varredura. Foram também realizados testes histoquímicos para a avaliação dos exsudatos. Nas espécies analisadas, *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa*, foram observados idioblastos mucilaginosos, cristalíferos e fenólicos. Estes estão dispostos aleatoriamente no mesofilo, na epiderme, no córtex do pecíolo, e no tecido parenquimático da nervura mediana. Porém, em *C. jasminodora* e *C. pentandra*, estão apenas no sistema vascular da nervura central. O desenvolvimento dos idioblastos mucilaginosos é assíncrono, e tem origem a partir de células do meristema fundamental, da protoderme, ou do procâmbio, e quando maduros se coalescem. A secreção encontrada é de origem mucilaginosa, com polissacarídeos ácidos e totais. Óleos essenciais, lipídios gerais e neutros também foram detectados. Além disso, foram identificados tricomas glandulares pluricelulares do tipo clavado, dispersos aleatoriamente em ambas as superfícies foliares. Tais tricomas caracterizam-se por uma célula basal, uma peduncular, e cerca de quatro a seis células apicais. Nestes tricomas, os testes histoquímicos evidenciaram a presença de substâncias lipofílicas e, em *C. speciosa*, também terpenos. Em todas as espécies estudadas, nectários extraflorais foram observados na região do terço médio na nervura central, na face abaxial dos folíolos. Quanto ao seu desenvolvimento, células protodérmicas dão origem à tricomas glandulares, enquanto células do meristema fundamental do córtex da nervura mediana, formam o tecido parenquimático nectarífero. Esta é a primeira descrição detalhada acerca da anatomia e ontogenia das estruturas secretoras em *Ceiba*, com destaque para o detalhamento dos nectários extraflorais. As análises ontogenéticas mostraram-se conclusivas à classificação dos idioblastos de mucilagem coalescerem, confrontando registros da literatura, que os definem como cavidades ou canais secretores. Em relação às demais estruturas secretoras encontradas, descrições detalhadas quanto à sua ontogenia também foram realizadas, as quais contribuem para ampliar o conhecimento em Malvaceae, reforçando seu uso como sinapomorfias para o grupo.

Palavras-chave: idioblastos mucilaginosos; nectários extraflorais; ontogenia; Bombacaceae.

Abstract

Species of *Ceiba* (Bombacoideae, Malvaceae) present secretory cavities, canals/ ducts, and/or idioblasts with contents mainly mucilaginous. The few records found for the genus can lead to conflicting interpretations because the description of secretory structures is not a consensus and, sometimes, the same types of structures receive different names. The present study aims to describe the diversity of secretory structures in the leaves of *Ceiba* species, including their ontogeny and histochemistry. For this purpose, usual methods in light and scanning electron microscopy were used. The histochemical tests were also performed to evaluate the exudates. In all the species analyzed, *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra*, and *C. speciosa*, mucilaginous, crystalliferous, and phenolic idioblasts were observed. These are randomly arranged in the mesophyll, the epidermis, the cortex of the petiole, and the parenchymatic tissue of the median vein. However, in *C. jasminodora* and *C. pentandra*, they are only in the vascular system of the central vein. The development of mucilaginous idioblasts is asynchronous and originates from cells of the fundamental meristem, the protoderm, or the procambium, and when mature they coalesce. The secretion found is of mucilaginous origin, with acidic and total polysaccharides. Essential oils, general and neutral lipids were also detected. In addition, clavate type pluricellular glandular trichomes were identified, scattered randomly on both leaf surfaces. Such trichomes are characterized by one basal cell, one on the peduncle, and about four to six apical cells. In these trichomes, the testes histochemicals evidenced the presence, mainly, of lipophilic substances and, in *C. speciosa*, also terpenes. In all species studied, extrafloral nectaries were observed in the region of the middle third in the central vein, on the abaxial side of the leaflets. As for its development of nectaries, protodermal cells give rise to glandular trichomes, while cells of the fundamental meristem of the midrib cortex were the nectariferous parenchymatic tissue. This is the first detailed description of the anatomy and ontogeny of secretory structures in *Ceiba*, highlighting the details of extrafloral nectaries. The ontogenetic analyzes proved to be conclusive for the classification of coalescing mucilage idioblasts, comparing literature records, that define them as secretory cavities or ducts. In relation to the others secretory structures found, detailed descriptions regarding their ontogeny were also carried out, which contribute to expanding knowledge in Malvaceae, reinforcing their use as synapomorphies for the group.

Key-words: mucilaginous idioblasts; extrafloral nectaries; ontogeny; Bombacaceae.

Sumário

Agradecimentos	3
Resumo	5
Abstract	6
Sumário	7
Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas	10
1. Introdução	1
1.1. <i>Estruturas secretoras em plantas</i>	1
1.2. <i>Malvaceae, Bombacoideae e o gênero Ceiba</i>	4
2. Material & Métodos	7
2.1. <i>Material botânico</i>	7
2.2. <i>Metodologia para microscopia ótica e eletrônica de varredura</i>	11
3. Resultados	13
3.1. <i>Anatomia e ontogênese das estruturas secretoras em Ceiba</i>	13
3.1.1. <i>Idioblastos</i>	13
3.1.2. <i>Tricomas glandulares</i>	19
3.1.3. <i>Nectários extraflorais</i>	21
4. Discussão	26
5. Conclusões	35
6. Referências Bibliográficas	36

Lista de Figuras

Figura 1 Filogenia de *Ceiba* e circunscrição das espécies (extraído de Carvalho-Sobrinho *et al.* 2016). I: grupo que apresenta espécies bem representadas no Brasil; II: grupo com distribuição Andina; III: grupo representado por uma única espécie, a qual é endêmica da Cadeia do Espinhaço-MG e ocorre somente em Campos Rupestres; IV: grupo Amazônico, representado principalmente pela *C. pentandra*; V: espécie que ocorrem na América-Central e no México. Em amarelo estão destacadas as espécies selecionadas para o desenvolvimento do presente trabalho.

Figura 2 Aspectos gerais das espécies analisadas no presente trabalho. (a, g-h) *Ceiba erianthos*. (b, f) *Ceiba jasminodora*. (c) *Ceiba speciosa*. (d-e) *Ceiba pentandra*. a-d. Hábito dos indivíduos no Arboreto do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. e-f. Detalhes das folhas completamente expandidas. g. Detalhe da folha adulta, evidenciando as nervuras. h. Inflorescências e flores. Barra de escala = 20 cm.

Figura 3 **Figura 3.** Anatomia e ontogenia dos idioblastos de mucilagem nas folhas de *Ceiba*. (a-b) *C. jasminora*; (d) *C. pentandra*; (e-j) *C. speciosa*; (c, k) *C. erianthos*. (a-b, d) folhas maduras; (c) pecíolo; (e-k) folhas jovens. a - aspecto geral da folha, evidenciando os idioblastos mucilaginosos distribuídos aleatoriamente pela lâmina (asteriscos brancos); b - detalhe do mesófilo da folha, evidenciando idioblastos contendo cristais (seta preta) e mucilaginosos no parênquima clorofiliano (seta amarela); c - aspecto geral do pecíolo, com destaque aos idioblastos mucilaginosos distribuídos aleatoriamente no córtex (seta amarela); d - detalhe dos idioblastos mucilaginosos (seta amarela), inseridos no tecido vascular da folha e próximos às células de xilema; e – primórdio foliar, com idioblastos em diferentes fases de desenvolvimento; f-k – ontogenia dos idioblastos; f – célula precursora do idioblasto, com maior adensamento citoplasmático; g-h– início do acúmulo de mucilagem na porção periférica do citoplasma (seta preta); i-j – acúmulo progressivo da secreção no idioblasto; j – secreção com reação positiva ao vermelho de rutênio para mucilagem e citoplasma reduzido no centro da célula (asterisco amarelo); k – idioblasto maduro, com a secreção ocupando toda porção do citoplasma. (a-k) secções transversais.

Figura 4 Coalescência dos idioblastos (setas amarelas). (a-d) folhas jovens de *Ceiba speciosa*. a-b - idioblastos maduros adjacentes em coalescência, coloração vermelho de rutênio e azul de toluidina, respectivamente; c-d - idioblastos após coalescerem, formando uma estrutura única similar. (a-b) secções transversais. (c-d) secções longitudinais.

Figura 5 Testes histoquímicos nas folhas maduras de *Ceiba*, evidenciando os idioblastos de mucilagem (a-b, e) *C. jasminodora*. (c-d, f) *C. erianthos*. a – detecção de mucilagem através do teste vermelho de rutênio. b – polissacarídeos gerais, marcados por PAS. c – presença de óleos essenciais (terpenóides), evidenciado por NADI. d – compostos fenólicos evidenciados com reação ao cloreto férrico. e – lipídios totais evidenciados pelo Sudan III. f – lipídios neutros evidenciados pelo azul do Nilo. (a-f) secções transversais de folhas maduras.

Figura 6 Anatomia e ontogenia dos tricomas glandulares em *Ceiba*. (a,c) *Ceiba jasminodora*. (d, g-h, j) *C. speciosa*. (b, e-f, i) *C. erianthos*. (a-c) folhas maduras; (d-j) folhas jovens. a – tricomas glandulares pluricelulares claviformes distribuídos aleatoriamente pela lâmina foliar na face abaxial, em diafanização; b – detalhe dos tricomas claviformes na superfície abaxial da folha, em MEV; c - tricomas pluricelulares claviformes na face abaxial, em diafanização; d - início do estabelecimento do tricoma com a protusão da célula protodérmica; e-f – resultado da primeira divisão periclinal, formação da célula basal e célula apical (seta amarela); g– tricoma com três células, após a divisão periclinal da célula apical, e estabelecimento da célula do pedúnculo; h – mitose na célula apical (asterisco) e célula apical; i – tricoma com quatro células apicais, após divisões periclinais; j – tricoma com porção apical com quatro células geradas a partir de divisões anticlinais (seta amarela); (a-c) vista frontal. (d-j) secções transversais.

Figura 7 Aspectos gerais, anatomia e ontogenia dos nectários extraflorais em *Ceiba*. (a-a', c-h, k-m) *Ceiba erianthos*. (b) *Ceiba jasminodora*. (i-j) *Ceiba speciosa*. (a-h, m) folhas maduras. (i-l) folhas jovens. a-a' – macroscopia do nectário extrafloral em evidência no terço médio da nervura mediana da folha; b – nectário extrafloral, onde são evidenciados os tricomas glandulares (seta preta) e os idioblastos com cristais do tipo drusa (seta amarela), folha diafanizada; c-d – nectário extrafloral em microscopia eletrônica de varredura, evidenciando tricomas claviformes (seta preta); e – porção da nervura principal, evidenciando as células isodiamétricas do meristema fundamental e epiderme com tricomas glandulares; f - detalhe da superfície abaxial na nervura principal, evidenciando tricomas glandulares e idioblasto cristalífero contendo drusa (seta branca); g-h – autofluorescência do terço médio da nervura mediana com o nectário extrafloral, evidenciando o bordo da estrutura ligeiramente projetado (retângulo) e em detalhe os tricomas clavados com maior espessamento da parede das células basais (seta branca); i – nectário extrafloral ativo em azul de toluidina, em folíolo do primórdio foliar (retângulo); j-k – células protodérmicas em divisão periclinal, dando origem a uma célula basal e outra apical; l-m – célula apical sofrendo divisões periclinais e, posteriormente, divisões anticlinais formando uma porção apical multicelular. (a-d) vista frontal. (e-m) secções transversais.

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Espécies coletadas, registro e data das coletas.	10
Tabela 2.	Testes histoquímicos realizados, indicando as substâncias por eles detectadas e as respectivas referências.	11
Tabela 3.	Estruturas secretoras identificadas nas espécies do presente trabalho, localização na folha e origem.	22
Tabela 4.	Testes histoquímicos realizados nas folhas maduras e de <i>C. erianthos</i> , <i>C. jasminodora</i> , <i>C. pentandra</i> e <i>C. speciosa</i> , com as estruturas secretoras analisadas e os respectivos reagentes utilizados. (+) = presente; (-) = ausente.	23

1. Introdução

1.1. Estruturas secretoras em plantas

As estruturas secretoras em plantas são constituídas por uma célula, ou um conjunto de células, comumente encontradas na maioria das plantas vasculares, e diferem entre si quanto à forma, localização e a capacidade de produzir exsudatos, os quais podem conter substâncias não modificadas, pouco modificadas ou modificadas (Fahn 1988). A formação da secreção compreende processos complexos, incluindo a síntese, o isolamento de substâncias em compartimentos do protoplasto da célula secretora, e sua consequente liberação para espaços intercelulares ou para a superfície externa do corpo do vegetal (Fahn 1979).

De maneira geral, toda célula vegetal pode ser considerada uma célula secretora, porém, algumas desenvolvem estruturas especializadas na produção, liberação e armazenamento de substâncias provenientes do metabolismo secundário vegetal (Metcalf & Chalk 1957a; Fahn 1988). Mesmo que tais metabólitos secundários não sejam requeridos para o funcionamento do organismo vegetal como um todo, estes possuem funções específicas importantes como, por exemplo: defesa química contra patógenos (p. ex. látex – Ramos 2019), atração de polinizadores e vetores na dispersão de sementes (p. ex. óleos florais – Oliveira 2016).

São inúmeras as classificações propostas para as estruturas secretoras (Metcalf & Chalk 1957a; Evert 2006), as quais são um reflexo da diversidade e complexidade destas estruturas. Merece destaque a classificação proposta por Fahn (1988), que relaciona estas estruturas, principalmente, quanto à função e tipo de material secretado. Este autor classifica as estruturas secretoras quanto à sua localização, tipo de armazenamento da secreção e sua morfologia.

Com relação à sua localização, as estruturas secretoras podem ser classificadas em internas, quando estão localizadas dentro do corpo do vegetal (canais/ductos e cavidades secretoras, idioblastos); ou externas, quando localizadas na superfície do corpo do vegetal (tricomas glandulares, nectários florais e extraflorais) (Fahn 1988). Com relação ao tipo de armazenamento, estas podem ser diferenciadas quanto à manutenção da secreção no interior da célula (canais/ductos e cavidades secretoras, idioblastos), ou quando a secreção é externalizada pela estrutura (tricomas glandulares). Quanto ao formato das estruturas secretoras, há bastante diversidade morfológica. Suas formas englobam desde estruturas elipsóides (canais/ductos) a ovais (cavidades secretoras, idioblastos), dentre outras. A variabilidade morfológica dos tipos de estruturas reflete na diversidade de metabólitos secretados e, dessa maneira, substâncias de uma mesma natureza química podem ser secretadas por estruturas distintas (Fahn 1988; Luna 2013).

É bastante diversificada a natureza química do material secretado pelas plantas e, dentre os componentes conhecidos, merecem destaque: terpenóides, compostos fenólicos (resinas e látex), polissacarídeos (gomas e mucilagem) e ácidos graxos (óleos e ceras) (Langenheim 2003; Luna *et al.* 2019). Evidências sugerem que evolutivamente, os tecidos secretores tenham se desenvolvido a partir de idioblastos secretores, que se apresentavam como células isoladas ou em grupos de células espalhados entre as células dos tecidos comuns e que, em sequência, diante dessa hipótese, teriam surgido os canais e cavidades, e depois os tricomas secretores (Fahn 1988). Lange (2015) cita que as estruturas secretoras internas parecem terem surgido nas plantas vasculares, como canais de resina e laticíferos, geralmente encontrados associados aos feixes vasculares; enquanto as cavidades secretoras na região epidérmica ou subepidérmica, juntamente com os tricomas glandulares.

Estruturas secretoras são encontradas em diversas famílias vegetais (Angiospermas e Gimnospermas), que muitas vezes não possuem relações filogenéticas entre si, apresentando morfologia semelhante, mas que secretam substâncias e desempenham funções diferentes (Metcalf & Chalk 1957a, b; Mauseth 1988). Algumas das mais relevantes de tais estruturas serão detalhadas a seguir.

Os idioblastos, de acordo com Foster (1956), foram descritos pela primeira vez por Sachs em 1874, para definir células secretoras hipertrofiadas. Tais células apresentam relevante valor taxonômico devido aos seus conteúdos diversos, como mucilagem, óleos essenciais e resinas, ou misturas destas três substâncias (Figueiredo *et al.* 2007). Sendo assim, os idioblastos podem ser classificados a partir do tipo de secreção, como: cristalíferos, litocistos, taniníferos, células de mirosina, oleíferos ou mucilaginosos (Matos 2021; Fahn 1979; Evert 2006; Crang *et al.* 2018). Os mais frequentes são os mucilaginosos e os oleíferos, que, apesar de serem morfológicamente idênticos, são de fácil distinção através de testes histoquímicos. Os idioblastos mucilaginosos, em geral, apresentam secreção lamelada, constituída por polissacarídeos ou por misturas de polissacarídeos, proteínas e taninos (Fahn 1988; Rocha *et al.* 2011). Já os oleíferos, possuem secreção homogênea, e rica em óleos essenciais ou misturas de terpenóides, ácidos graxos e agliconas flavonóidicas, com pequena fração de polissacarídeos (Fahn 1979; Bass & Gregory 1985; Ascensão 2007). Em alguns representantes da família Lauraceae, além do tipo de secreção, ambas as células diferem também em relação à composição das paredes celulares, a qual nos idioblastos mucilaginosos é predominantemente celulósica e nos oleíferos é suberificada (Bass & Gregory 1985).

Os canais/ductos e cavidades secretoras são estruturas internas aos tecidos vegetais, formados por um epitélio secretor, que produz e secreta substâncias para seu lúmen. Variam

quanto à forma, de circulares a elipsóides, apresentando formas alongadas e comprimentos variáveis; enquanto as cavidades, são estruturas mais ou menos isodiamétricas (Evert 2006). Usualmente, canais e cavidades são encontrados em folhas, caules, raízes e flores, e secretam mucilagem (Lersten & Curtis 1989; Ciccarelli *et al.* 2001; Sant'Anna-Santos *et al.* 2006). A mucilagem é um polímero complexo de natureza mista, constituída principalmente por polissacarídeos ácidos e/ou neutros, proteínas e substâncias fenólicas, que formam soluções coloidais, as quais ao entrarem em contato com a água tornam-se viscosas (Priolo de Lufrano & Caffini 1981; Gregory & Baas 1989; Roshchina & Roshchina 1993; Rocha *et al.* 2011). Podem ser secretadas por células solitárias (idioblastos mucilaginosos), tricomas secretores, canais ou cavidades (Schnepf 1968; Lersten 1975; Baas & Gregory 1985). Tal substância pode desempenhar diferentes funções nos vegetais, como: a proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento; retenção de água; reserva de carboidratos; redução da transpiração; proteção contra radiação, dispersando ou refletindo a luz incidente; proteção contra herbivoria; lubrificante do ápice das raízes; captura de insetos em plantas insetívoras; como adesivo na dispersão de sementes; regulação da germinação de sementes (Fahn 1979; Roshchina & Roshchina 1993; Clifford *et al.* 2002; Martini *et al.* 2003; Pimentel *et al.* 2011; Galloway *et al.* 2019; Caperta *et al.* 2020).

Além das estruturas secretoras já citadas, os tricomas secretores são estruturas também muito frequentes nas Angiospermas. São encontradas na epiderme de diversos órgãos, e apresentam tipos e funções variáveis (Fahn 1988). Estão amplamente distribuídos em: Asteraceae (Kellermann *et al.* 2016), Cannabaceae (Rodziewicz *et al.* 2019), Lamiaceae (Rocha *et al.* 2020; Tozin 2018; Oliveira *et al.* 2016), Leguminosae (Araujo 2019), Primulaceae (Luna *et al.* 2019), Rutaceae (Franco & Albiero 2018), Solanaceae (Sampaio 2019), Verbenaceae (Melo 2017), etc. Diversas propriedades atribuídas às plantas se devem ao tipo de secreção produzida pelos tricomas secretores, que são considerados sítios ativos de produção de metabólitos secundários e podem funcionar como reguladores do crescimento vegetal ou como produtos de defesa do organismo vegetal contra insetos fitófagos ou organismos patogênicos (Croteau & Johnson 1984; Fahn 1988). Ma *et al.* (2016) citam que estudos ontogenéticos sobre os tipos de tricomas, comumente classificados e agrupados como glandulares ou não glandulares, permitem validar e identificar a circunscrição de *taxa*. Em Malvaceae, os estudos que detalham os tricomas evidenciam seu valor como caractere útil na distinção entre espécies dos gêneros *Tilia* (Ramírez-Díaz *et al.* 2019), *Wissadula* (Bovini & Baumgratz 2016) e *Quararibea* (Ferreira *et al.* 2018).

Os nectários são caracterizados como uma estrutura glandular, constituído por células epidérmicas modificadas, que podem ser ou não por tricomas, e parênquima especializado (Fahn 1988). São classificados em florais e extraflorais, e podem ser não estruturados (a secreção é exsudada por um tecido sem diferenciação) ou estruturados (há um tecido nectarífero com características próprias, podendo ser a epiderme ou o parênquima modificado) (Fahn 1988; Pacini *et al.* 2007). Os nectários secretam néctar, que serve como fonte de alimento de grande valor nutricional, compondo parte da dieta de uma grande variedade de insetos e, sendo o néctar floral, o recurso mais oferecido pelas plantas aos polinizadores (Baker & Baker 1990; Rocha *et al.* 2010; Faegri & Van der Pijl 1980). A diversidade de formas e localização dos nectários, além do valor taxonômico, é de fundamental importância à compreensão das interações ecológicas inseto-planta, como, por exemplo, nas espécies de *Byttneria* (Sterculiaceae, Arbo 1972), *Triumfetta semitriloba* (Tiliaceae, Leitão *et al.* 2002), e *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Paiva & Machado 2006).

1.2. *Malvaceae, Bombacoideae e o gênero Ceiba*

Malvaceae é uma família com distribuição predominantemente pantropical, raramente encontrada em altas altitudes; seus representantes geralmente apresentam porte herbáceo e arbustivo (Fryxell 1988; Gregory & Bass 1989; Rocha *et al.* 2002; Bayer & Kubitzki 2003; Lima *et al.* 2019). Apresenta cerca de 4.300 espécies em 243 gêneros e, no Brasil, ocorrem 867 espécies em 81 gêneros, sendo 7 deles endêmicos (Malvaceae *in* Flora e Funga do Brasil 2023, continuamente atualizado). No Brasil, seus representantes são encontrados em todas as regiões e ambientes (Bayer & Kubitzki 2003). Quanto à importância econômica, possuem representantes utilizados na ornamentação, como as espécies de *Abutilon* Mill., *Alcea* L., *Hibiscus* L., *Malvaviscus* Fabr. E *Thespesia* Sol.; ou ainda, utilizados na indústria têxtil, como as espécies de *Gossypium* L. (algodão) e *Urena* L. (juta) (Bovini 2010).

Nos representantes de Malvaceae, uma das características de relevância taxonômica e ecológica é a presença de mucilagem, tanto em órgãos vegetativos como reprodutivos, produzida por estruturas secretoras distintas, como tricomas, idioblastos, nectários, canais e cavidades secretoras (Scott & Bystrom 1970; Gregory & Baas 1989; Sawidis 1991, 1998; Rocha *et al.* 2002; Pimentel *et al.* 2011; Rocha *et al.* 2011). A presença, o número e a distribuição dos canais e cavidades são considerados um valioso caráter taxonômico para a família (Solereeder 1908; Webber 1938; Metcalfe & Chalk 1957a; Esau 1974; Rocha & Neves 2000; Rocha *et al.* 2002). Alguns autores destacam que essas estruturas constituem sinapomorfias para a ordem

Malvales (Alverson *et al.* 1999; Judd *et al.* 2009), cuja primeira descrição anatômica foi feita para *Althaea* (L.) (Malvaceae) por Meyen em 1837 (Gregory & Bass 1989).

Atualmente são reconhecidas nove subfamílias em Malvaceae: Bombacoideae Burnett, Brownlowioideae Burret, Byttnerioideae Burnett, Dombeyoideae Beilschm., Grewioideae Dippel, Helicterioideae (Schott e Endl.) Meisn., Malvoideae Burnett, Sterculioideae Burnett e Tilioideae Arn. (Bayer & Kubitzky 2003). Destas destaca-se a subfamília Bombacoideae, que compreende 27 gêneros e cerca de 250 espécies com distribuição pantropical (Carvalho-Sobrinho *et al.* 2016). No neotrópico as espécies têm ocorrência desde o México, estendendo-se pela América Central, até o sul da América do Sul. A maior diversidade de gêneros e espécies é encontrada nas florestas úmidas da América do Sul (Bayer & Kubitzky 2003). Bombacoideae é um clado caracterizado, em geral, por árvores de médio a grande porte, caducifólias, com troncos e ramos inermes aculeados, os quais apresentam ventricosidade em sua porção mediana, em função do armazenamento de água nos tecidos parenquimáticos (Ferreira 2016). Suas folhas apresentam de três a nove folíolos obovados, com margens variando de inteiras a levemente serradas, e nervação reticulódroma. As flores contêm pedicelo com brácteas, cálice campanulado e cinco pétalas obovadas ou lineares (Yoshikawa *et al.* 2019). No que concerne aos tipos de estruturas secretoras comumente encontradas, Bombacoideae caracteriza-se pela presença de canais/ductos e/ou cavidades secretoras, idioblastos e tricomas (Metcalf & Chalk 1957a; Marzinek & Mourão 2003; Vasconcelos Bonifácio 2012; Yoshikawa *et al.* 2019). Em subfamílias estreitamente relacionadas à Bombacoideae, como Byttnerioideae (Arbo 1972), é comum encontrar nectários extraflorais nas partes vegetativas (Vogel 2000; Ferreira 2016). Em Bombacoideae são raros os registros de nectários extraflorais, porém, destaca-se o trabalho de Ferreira (2016), que cita a presença de tal estrutura em gêneros de Bombacoideae que ocorrem no Estado do Rio de Janeiro.

A partir da diversidade morfológica em Angiospermas, análises filogenéticas mostram-se relevantes para o entendimento das relações entre os táxons ao longo do curso evolutivo de suas espécies, além da compreensão das relações entre famílias e gêneros (e.g. Fougère-Danezan *et al.* 2010; Nogueira *et al.* 2013). Nas análises filogenéticas em Bombacoideae (Fig. 1), realizada por Carvalho-Sobrinho *et al.* (2016), a partir de dados moleculares e morfológicos, foram amostrados representantes de todos os gêneros relacionados ao grupo e cerca de 70% do número total de espécies. Este estudo delimitou três tribos para a subfamília (Adansonieae Horan., Bernoullieae Carv.-Sobr. e Bombaceae Kunth.). O estudo acima citado indica o monofiletismo do *core* Bombacoideae, e reforça a circunscrição de *Ceiba* Mill. na tribo Bombaceae, como anteriormente proposto por Gibbs & Semir (2003). *Ceiba*, gênero de interesse do presente

trabalho, apresenta 18 espécies de distribuição neotropical, as quais possuem porte arbóreo, e altura imponente, como por exemplo, *Ceiba pentandra*, que pode atingir em média 50 metros (Gibbs & Semir 2003; Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2008). De acordo com Carvalho-Sobrinho (2020, continuamente atualizado), para o Brasil foram descritas até o momento 11 espécies para o gênero, das quais seis são endêmicas. Apesar de poucos, como já mencionado, alguns trabalhos evidenciam a presença de estruturas secretoras no gênero, como: canais/ductos, idioblastos (Silva *et al.* 2016), tricomas glandulares (Perrotta *et al.* 2007; Kuruvilla & Anilkumar 2018), cavidades secretoras (Perrotta *et al.* 2007), e nectários extraflorais (Rocha & Machado 2009).

Apesar dos esforços recentes na tentativa de esclarecer a filogenia de Bombacoideae, e o gênero *Ceiba* ter sido reconhecido como monofilético, ainda não existem dados que permitam o melhor entendimento das relações interespecíficas do gênero (Fig. 1).

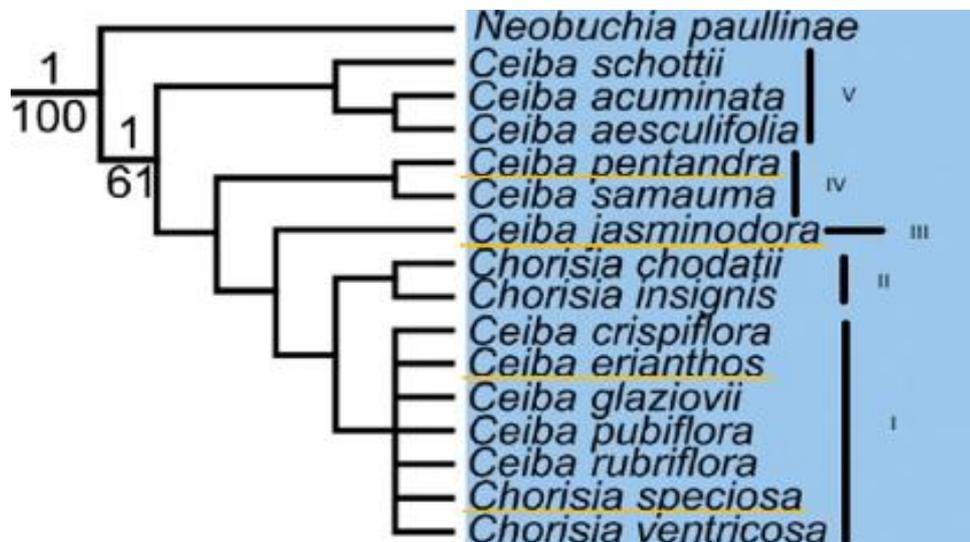


Figura 1. Filogenia de *Ceiba* e circunscrição das espécies (extraído de Carvalho-Sobrinho *et al.* 2016). I: grupo que apresenta espécies bem representadas no Brasil; II: grupo com distribuição Andina; III: grupo representado por uma única espécie, a qual é endêmica da Cadeia do Espinhaço-MG e ocorre somente em Campos Rupestres; IV: grupo Amazônico, representado principalmente pela *C. pentandra*; V: espécie que ocorrem na América-Central e no México. Em amarelo estão destacadas as espécies selecionadas para o desenvolvimento do presente trabalho.

Mesmo reconhecidas no que diz respeito a sua importância anatômica, taxonômica, ecológica e econômica (vide Metcalfe & Chalk 1957a; Lackey 1978; Ditsch *et al.* 1995), ainda são poucas as informações disponíveis sobre as estruturas secretoras, sua estrutura, desenvolvimento e constituição química de seus exsudatos em Bombacoideae. A presença de estruturas secretoras tem sido utilizada, por conta de seu caráter genético restrito, em estudos

relacionados à ontogenia, visando fornecer informações relevantes à taxonomia (p. ex. família, gênero e espécie) (Luna *et al.* 2019; Silva *et al.* 2019).

A variabilidade morfológica de cada organismo pode ser relacionada à particularidades de sua ontogenia, análises comparativas permitem inferir os mecanismos e as causas que promovem a diversidade morfológica entre os organismos (Li & Johnston 2000). São diversos os estudos evolutivos baseados nessas premissas, que buscam analisar diferentes estruturas vegetais reprodutivas e vegetativas, tanto as relacionadas à morfologia externa, por exemplo, partes florais (Simon *et al.* 2011), ou quanto à morfologia interna, como as estruturas secretoras (Feio *et al.* 2016).

Assim, o objetivo deste estudo foi analisar as diferentes estruturas secretoras presentes nas folhas das espécies selecionadas de *Ceiba*, com relação às suas características estruturais, diversidade, anatomia e ontogenia, buscando caracteres a fim de subsidiar a circunscrição do gênero ou de espécies do grupo. A histoquímica dessas estruturas também foi avaliada buscando fornecer caracteres para a discussão de circunscrição de espécies (vide Carvalho-Sobrinho *et al.* 2016) (Fig. 1). As espécies foram selecionadas a partir da filogenia proposta por Carvalho-Sobrinho *et al.* (2016) para Bombacoideae, a fim de representar os cladus existentes, buscando riqueza e diversidade de espécies.

2. Material & Métodos

2.1. Material botânico

Para realização deste estudo foram selecionadas quatro espécies de *Ceiba* (Bombacoideae - Malvaceae), conforme a filogenia de Carvalho-Sobrinho *et al.* (2016) (Fig.1): *Ceiba erianthos* (Cav.) K. Schum., *Ceiba jasminodora* (A. St. -Hil.) K. Schum., *Ceiba pentandra* (L.) Gaerth. e *Ceiba speciosa* (A. St. – Hil.) Ravenna (Fig. 2).

Ceiba erianthos (Fig. 2a) é uma árvore, com cerca de 10 m de altura, popularmente conhecida como paineira-das-pedras, com ramos e tronco aculeado. As folhas são alternas, compostas, digitadas, com cinco a sete folíolos elípticos de margem inteira, estípulas caducas e pecíolo glabro. Suas flores são axilares, com cálice esverdeado e corola alva, bastante pilosa e esbranquiçada na parte externa e máculas vináceas na parte interna. O fruto é verde, caracterizado por apresentar numerosas sementes, que ficam imersas em abundante paina alva. Floresce entre março e julho, e frutifica de julho a outubro (Gibbs & Semir 2003; Mattos *et al.* 2019). É uma espécie endêmica das regiões Nordeste e Sudeste, nos estados da Bahia, Ceará,

Sergipe, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. As fitofisionomias típicas são as da Caatinga e Mata Atlântica, e os tipos de vegetação característicos são Restinga e Vegetação sobre Afloramentos Rochosos (Carvalho-Sobrinho 2020, continuamente atualizado).

Ceiba jasminodora (Fig. 2b) é uma árvore, geralmente pequena, com 1 a 2 metros de altura, mas que pode chegar a cerca de 4 a 6 metros quando em cultivo. É popularmente conhecida como paineira-jasmin, com ramos e tronco aculeado. As folhas são alternas, compostas, digitadas, com três folíolos elípticos a ovados de margem inteira, estípulas caducas e pecíolo glabro. Suas flores são axilares, com cálice esverdeado e corola alva a amarelada. O fruto é verde, caracterizado por apresentar numerosas sementes, que ficam imersas em abundante paina alva. Floresce entre abril e julho (Gibbs & Semir 2003; Mattos *et al.* 2019). É uma espécie endêmica da região Sudeste, da Serra do Espinhaço em Minas Gerais, com fitofisionomia típica do Cerrado e o tipo de vegetação característico é Campo Rupestre (Carvalho-Sobrinho 2020, continuamente atualizado).

Ceiba pentandra (Fig. 2d) é uma árvore emergente, popularmente conhecida como sumaúma, com 50 a 70 metros de altura, ramos e tronco aculeado, destacada por suas grandes sapopemas ou raízes tabulares. As folhas são alternas, compostas, digitadas, com cinco a oito folíolos elípticos a lanceolados de margem inteira, às vezes levemente denticulada, com estípulas caducas e pecíolo glabro. Suas flores são fasciculadas, com cálice esverdeado e corola alva a levemente amarelada ou rosada externamente. O fruto é verde, caracterizado por apresentar numerosas sementes, que ficam imersas em abundante paina alva. Floresce entre agosto e setembro, e frutifica em outubro e novembro (Gibbs & Semir 2003; Mattos *et al.* 2019). Nativa de florestas úmidas, ocorre de forma nativa no Brasil nas regiões Norte e Nordeste, nos estados do Acre, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima e Maranhão. A fitofisionomia típica é a da Amazônia e o tipo de vegetação característico é a Floresta de Várzea (Carvalho-Sobrinho 2020, continuamente atualizado).

Ceiba speciosa (Fig. 2c) é uma árvore, com 10 a 30 metros de altura, popularmente conhecida como paineira-rosa, que possui ramos e tronco aculeados. As folhas são alternas, compostas, digitadas, com cinco a seis folíolos elípticos a lanceolados de margem serrada, estípulas caducas e pecíolo glabro. Suas flores apresentam cálice esverdeado, corola rosa no ápice e alva a amarelada na base, com máculas arroxeadas. O fruto é verde, caracterizado por apresentar numerosas sementes, que ficam imersas em abundante paina alva. Floresce entre janeiro e maio, e frutifica entre maio e agosto (Gibbs & Semir 2003; Mattos *et al.* 2019). Nativa da Bolívia, com ampla ocorrência confirmada no Brasil nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Sudeste, nos estados do Pará, Bahia, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Espírito

Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. As fitofisionomias típicas são as da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, e os tipos de vegetação característicos são Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Ombrófila (Floresta Pluvial) (Carvalho-Sobrinho 2020, continuamente atualizado).

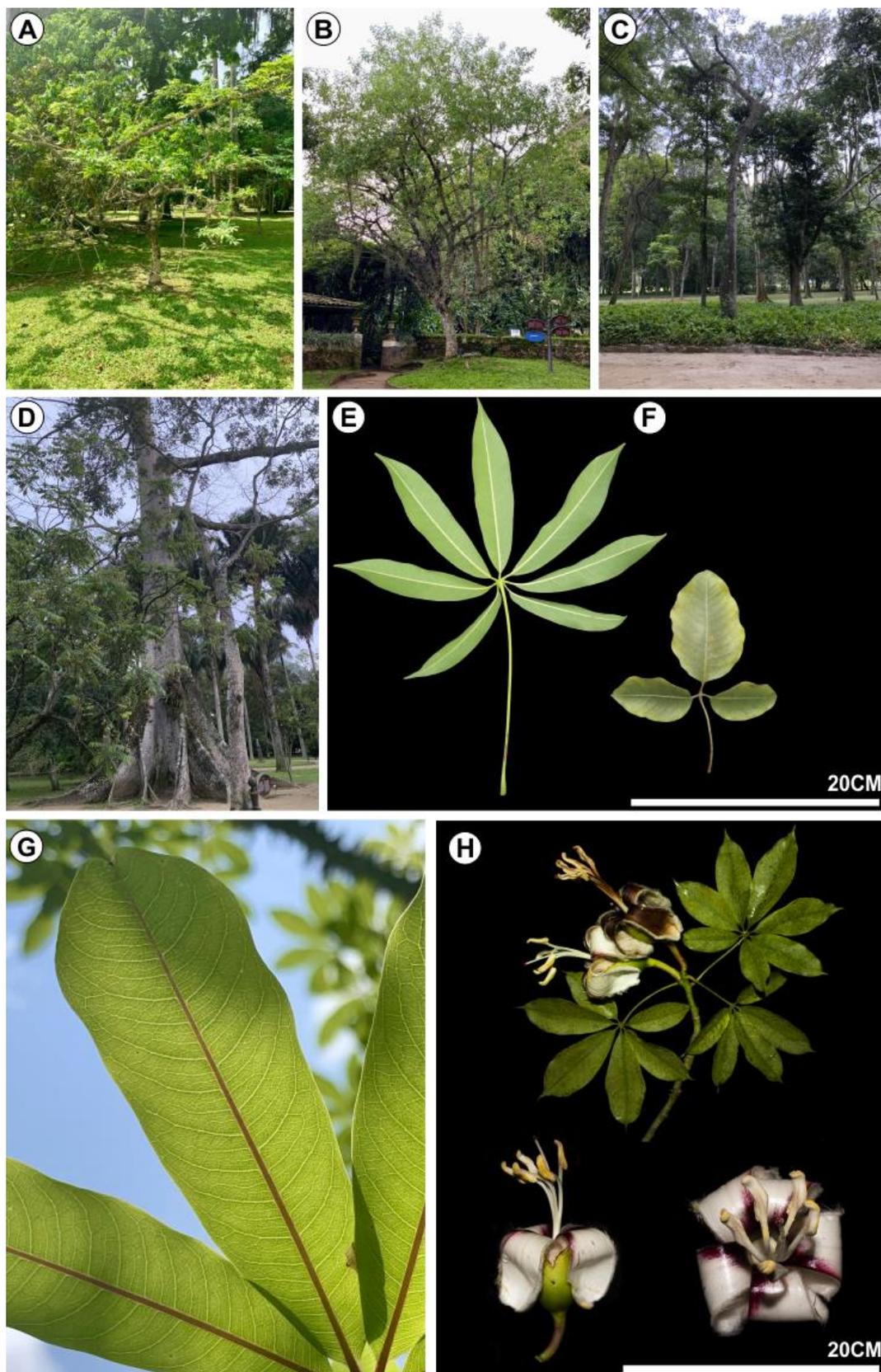


Figura 2. Aspectos gerais das espécies analisadas no presente trabalho. (a, g-h) *Ceiba erianthos*. (b, f) *Ceiba jasminodora*. (c) *Ceiba speciosa*. (d-e) *Ceiba pentandra*. a-d. Hábito dos indivíduos no Arboreto do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. e-f. Detalhes das folhas completamente expandidas. g. Detalhe da folha adulta, evidenciando as nervuras. h. Inflorescências e flores. Barra de escala = 20 cm.

2.2. Metodologia para microscopia ótica e eletrônica de varredura

Para o desenvolvimento deste estudo foram coletados primórdios foliares, folíolos jovens e completamente expandidos, e pecíolos das espécies citadas anteriormente. Conforme descrito no item 2.1 acima, as folhas de *Ceiba* são formadas por folíolos, os quais em uma mesma folha podem estar em diferentes fases de desenvolvimento. Em geral, o desenvolvimento dos folíolos se dá das extremidades para a porção central da folha, portanto, os folíolos mais jovens são aqueles localizados na porção central da folha. A coleta de material botânico foi realizada no Arboreto do Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, as espécies coletadas e informações de coleta estão sumarizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Espécies coletadas, registro e data das coletas.

Espécies	Herbário	Coleção Viva	Mês da Coleta (JBRJ)
<i>Ceiba erianthos</i>	RB646494	RBV 741	outubro - 2020
<i>Ceiba jasminodora</i>	RB354350	RBV 3140	outubro - 2020
<i>Ceiba pentandra</i>	RB841529	RBV 936	março - 2021
<i>Ceiba speciosa</i>	RB645506	RBV 6824	outubro - 2020

Após a coleta, as amostras foram fixadas por 48 horas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 7,2 (Gabriel 1982), sob vácuo. Para as análises em microscopia óptica (MO), as amostras fixadas, foram desidratadas em série etílica ascendente (10%, 20%, 30%..., 100%), incluídas em hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983), seccionadas em micrótomo rotativo Leica RM2245, com auxílio de navalha de vidro na espessura de 1-4 μ m e aderidas à lâmina de vidro com auxílio de placa aquecedora. As secções obtidas foram coradas com Azul de Toluidina 0,05% (O'Brien & Mc Cully 1981), e observadas ao microscópio óptico Olympus BX-50 com câmera digital Olympus DP-73 acoplada.

As amostras já fixadas de acordo com a metodologia descrita acima, foram também diafanizadas. Para o tanto, o material foi colocado em hidróxido de sódio a 5%, mantido em estufa a 60° C, e após esse processo, transferido para solução de hipoclorito de sódio 100% durante 1 a 14 dias, dependendo da amostra. Após o clareamento, as folhas ainda opacas foram lavadas em água destilada, e em seguida mantidas em média de 2 a 5 horas em cloral hidratado a 5%, e após isso, novamente lavadas em água destilada, e posteriormente coradas com safranina 1% (Johansen 1940) e montadas em glicerina 50% para posterior observação em MO.

As análises histoquímicas foram realizadas em folhas frescas seccionadas à mão livre. As secções foram observadas ao microscópio Olympus BX-50 e as imagens obtidas através de câmera acoplada DP-73, em microscopia de campo claro ou de fluorescência. Parte das amostras foi seccionada à mão-livre e observada ao microscópio de fluorescência Olympus BX-50 sem o uso de fluoróforos, para a análise da autofluorescência das estruturas em filtro UV. Alguns dos testes histoquímicos, quando necessário, foram aplicados em material fixado e incluído em hidroxietilmetacrilato, como descrito anteriormente. Os reagentes utilizados e os materiais testados estão listados na Tabela 2. Os controles foram realizados de acordo com as referências mencionadas.

Para análises mais detalhadas, folhas frescas e completamente expandidas foram coletadas, e observadas ao microscópio estereoscópico Olympus SZ61 com câmera acoplada Olympus SC30 e ao microscópio eletrônico de varredura de baixo vácuo Hitachi TM4000 Plus II.

A descrição anatômica e a identificação das estruturas secretoras foi realizada a partir de literatura especializada, como Fahn (1979), Bass & Gregory (1985), Payne (1978), Pacini *et al.* (2007).

Tabela 2 – Testes histoquímicos realizados, indicando as substâncias por eles detectadas e as respectivas referências.

Reagente	Substância detectada	Referência
Cloreto férrico	Compostos fenólicos	Johansen (1940)
Oil red	Látex	Pearse (1968) modificado por Jayabalan & Shah (1986)
PAS (Ácido periódico de Schiff)	Polissacarídeos totais	McManus (1948)
Azul de alcian	Polissacarídeos ácidos	Pearse (1980)
Vermelho de rutênio	Mucilagem	Gregory & Baas (1989)
Sudan III	Lipídios gerais	Johansen (1940)
Azul do Nilo	Lipídios ácidos e neutros	Pearse (1980)
Reagente de NADI	Óleos essenciais/ Resinas	David & Carde (1964)

3. Resultados

3.1. Anatomia e ontogênese das estruturas secretoras em *Ceiba*

As folhas compostas de *Ceiba erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa* apresentam idioblastos, tricomas glandulares e nectários. A Tabela 3 apresenta um sumário das estruturas secretoras encontradas em cada espécie analisada, bem como sua localização e origem, já a Tabela 4 resume os resultados dos testes histoquímicos realizados. A seguir, são detalhadas as estruturas secretoras identificadas.

3.1.1. Idioblastos

Nas folhas maduras de todas as espécies analisadas, foram observados idioblastos com conteúdo mucilaginoso, os quais estão distribuídos aleatoriamente pela lâmina foliar, incluindo a região da nervura mediana, e pecíolo (Fig. 3a-c), e ocorrem tanto nas faces adaxial e abaxial das folhas. Em ambas as faces eles estão presentes na epiderme, interrompendo o estrato hipodérmico de forma intrusiva (Fig. 3b), e também nos tecidos parenquimáticos (Fig. 3a-b) e vasculares da folha (Fig. 3d) e do pecíolo (Fig. 3c). Em secção transversal, estes possuem paredes pectocelulósicas espessas e formato circular a oval (Fig. 3e-k).

O desenvolvimento dos idioblastos mucilaginosos é assíncrono, ou seja, em um mesmo primórdio foliar são encontrados idioblastos em estágios precoces do desenvolvimento e outros já maduros (Fig. 3e). Os idioblastos podem ter origem a partir da protoderme, de células do meristema fundamental ou do procâmbio (Fig. 3b, d-e). No primeiro estágio do desenvolvimento, as células precursoras dos idioblastos diferenciam-se das demais por serem mais volumosas, terem núcleos mais evidentes e por apresentarem citoplasma mais denso (Fig. 3f). No estágio subsequente ocorre o início do acúmulo de secreção na porção periférica do citoplasma (Fig. 3g-h). Em seguida, em decorrência desse acúmulo contínuo e progressivo da secreção, o citoplasma é gradativamente reduzido e fica confinado a uma pequena porção da célula (Fig. 3i-j). Na maturidade, o idioblasto é então completamente preenchido pela secreção (Fig. 3k). Ao longo do desenvolvimento foi observado que muitos deles surgem muito próximos uns aos outros (Fig. 4a). Esta proximidade, faz com que os idioblastos adjacentes se coalesçam (Fig. 4b), formando uma estrutura única, a qual se assemelha à morfologia de cavidades secretoras (Fig. 4c-d). Os idioblastos maduros se caracterizam por serem volumosos, com formato predominantemente isodiamétrico, contendo secreção densa mucilaginosa. Além dos idioblastos de mucilagem, são também encontrados idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa em seu interior (Fig. 3b), e idioblastos com conteúdo fenólico (Fig. 4b).

Após a realização dos testes histoquímicos, foi verificado que a secreção interna dos idioblastos é mucilaginosa (Fig. 4a, 5a), porém, apresenta também outras substâncias como polissacarídeos (Fig. 5b), óleos essenciais (Fig. 5c), lipídios totais (Fig. 5e) e neutros (Fig. 5f). Nota-se que em todas as espécies analisadas, os idioblastos mucilaginosos são mais frequentes e numerosos que os demais. Idioblastos com conteúdo fenólico são mais frequentes no tecido parenquimático da nervura mediana (Fig. 3e, 5d). Detalhes quanto a presença ou ausência de exsudatos estão reunidos na Tabela 4.

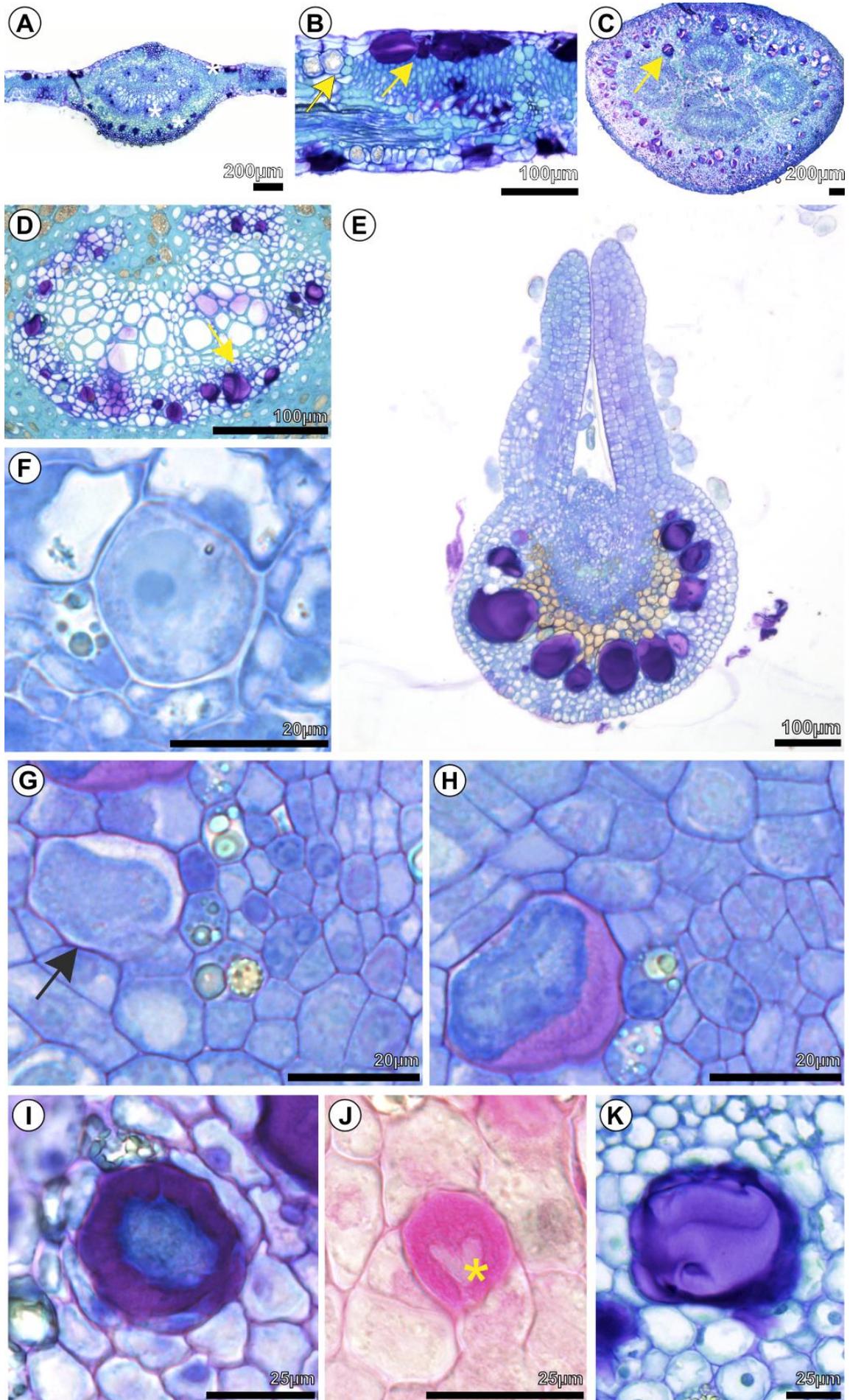


Figura 3. Anatomia e ontogenia dos idioblastos de mucilagem nas folhas de *Ceiba*. (a-b) *C. jasminora*; (d) *C. pentandra*; (e-j) *C. speciosa*; (c, k) *C. erianthos*. (a-b, d) folhas maduras; (c) pecíolo; (e-k) folhas jovens. a - aspecto geral da folha, evidenciando os idioblastos mucilaginosos distribuídos aleatoriamente pela lâmina (asteriscos brancos); b - detalhe do mesofilo da folha, evidenciando idioblastos contendo cristais (seta preta) e mucilaginosos no parênquima clorofiliano (seta amarela); c - aspecto geral do pecíolo, com destaque aos idioblastos mucilaginosos distribuídos aleatoriamente no córtex (seta amarela); d - detalhe dos idioblastos mucilaginosos (seta amarela), inseridos no tecido vascular da folha e próximos às células de xilema; e – primórdio foliar, com idioblastos em diferentes fases de desenvolvimento; f-k – ontogenia dos idioblastos; f – célula precursora do idioblasto, com maior adensamento citoplasmático; g-h – início do acúmulo de mucilagem na porção periférica do citoplasma (seta preta); i-j – acúmulo progressivo da secreção no idioblasto; j – secreção com reação positiva ao vermelho de rutênio para mucilagem e citoplasma reduzido no centro da célula (asterisco amarelo); k – idioblasto maduro, com a secreção ocupando toda porção do citoplasma. (a-k) secções transversais.

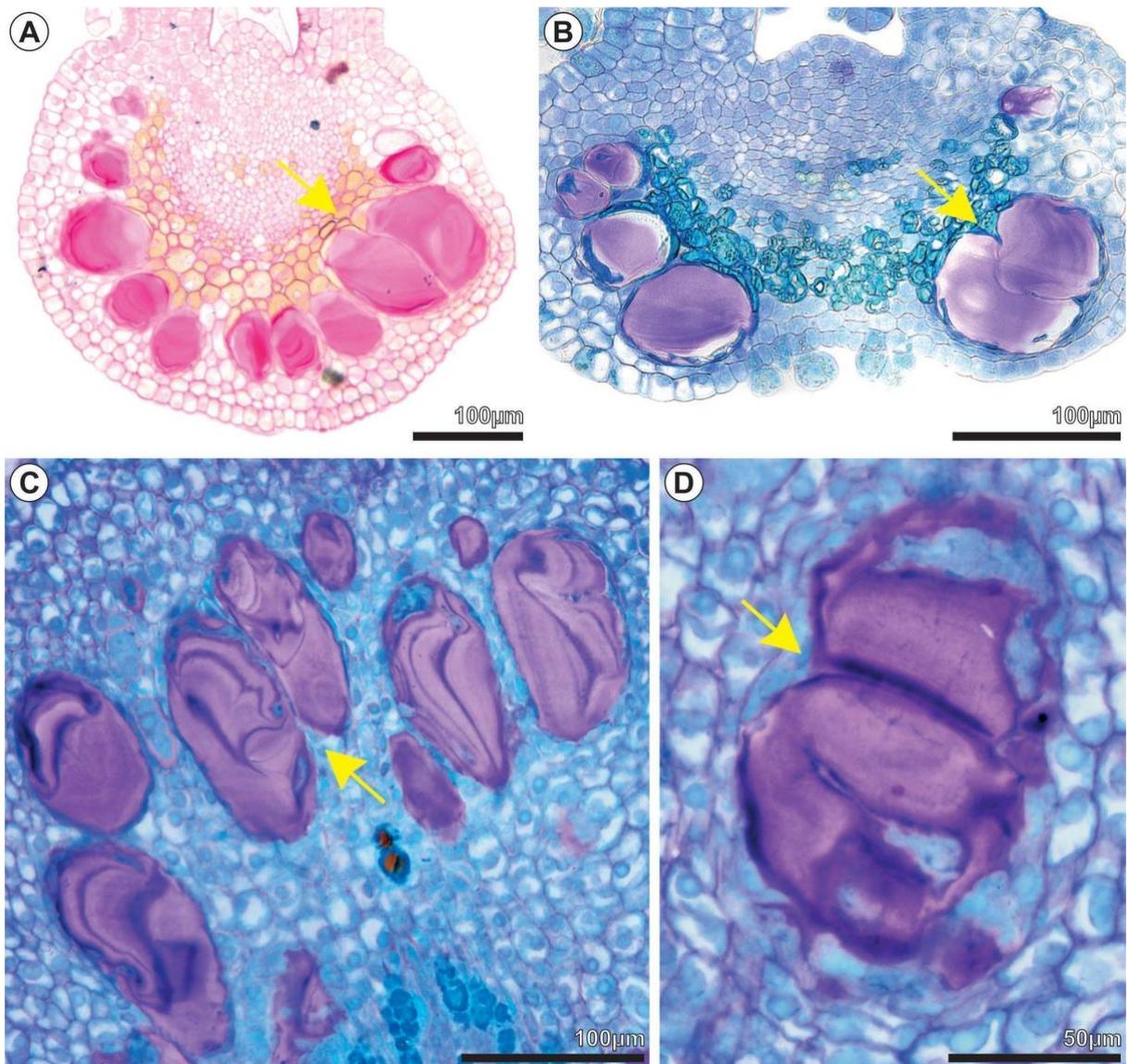


Figura 4. Coalescência dos idioblastos (setas amarelas). (a-d) folhas jovens de *Ceiba speciosa*. a-b - idioblastos maduros adjacentes em coalescência, coloração vermelho de rutênio e azul de toluidina, respectivamente; c-d - idioblastos após coalescerem, formando uma estrutura única similar. (a-b) secções transversais. (c-d) secções longitudinais.

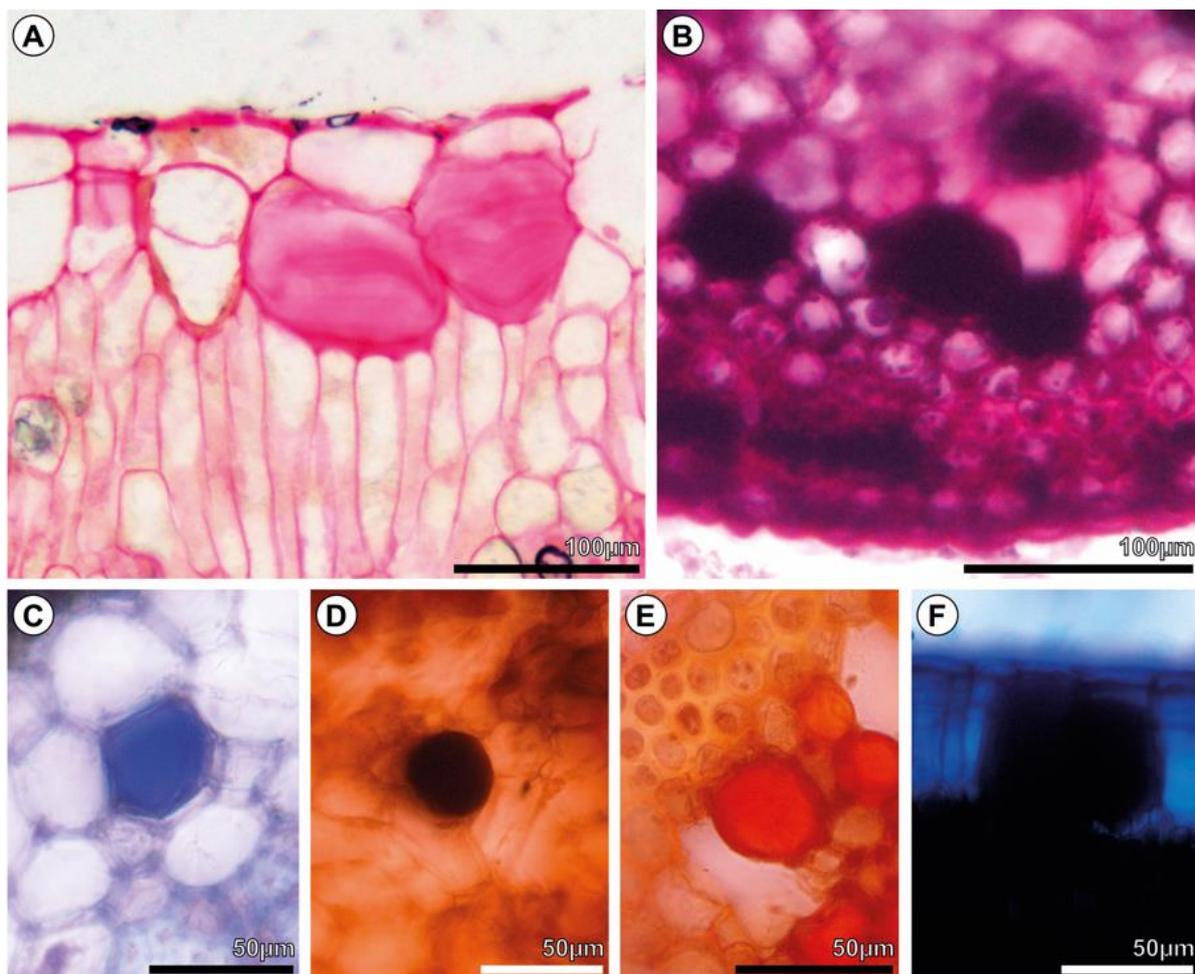


Figura 5. Testes histoquímicos nas folhas maduras de *Ceiba*, evidenciando os idioblastos de mucilagem (a-b, e) *C. jasminodora*. (c-d, f) *C. erianthos*. a – detecção de mucilagem através do teste vermelho de rutênio. b – polissacarídeos gerais, marcados por PAS. c – presença de óleos essenciais (terpenóides), evidenciado por NADI. d – compostos fenólicos evidenciados com reação ao cloreto férrico. e – lipídios totais evidenciados pelo Sudan III. f – lipídios neutros evidenciados pelo azul do Nilo. (a-f) secções transversais de folhas maduras.

3.1.2. *Tricomas glandulares*

Tricomas glandulares pluricelulares claviformes típicos foram observados nas folhas de todas as espécies estudadas. Estes encontram-se dispersos aleatoriamente na epiderme de ambas as faces das folhas, ocorrendo de forma isolada ou aos pares (Fig. 6a-c). Os tricomas são classificados do tipo claviforme e são constituídos de uma célula basal, um pedúnculo celular e por uma porção apical pluricelular (Fig. 6c). Nas folhas jovens são observados tricomas jovens e também tricomas já completamente desenvolvidos; nas folhas maduras, apenas tricomas completamente desenvolvidos foram observados.

O início do estabelecimento dos tricomas glandulares acontece ainda no primórdio foliar, e se dá a partir da projeção de uma célula protodérmica (Fig. 6d) e sua posterior divisão periclinal, estabelecendo uma célula basal e uma apical (Fig. 6e-f). Em seguida, a célula apical passa por mais uma divisão periclinal (Fig. 6g), definindo sua porção apical e o pedúnculo. Esta nova célula apical passa por cerca de quatro a cinco divisões periclinais (Fig. 6h-i). Destas células destaca-se a mais apical, a qual divide-se cerca de duas vezes no sentido anticlinal (Fig. 6j), estabelecendo o tricoma maduro, com uma célula basal, uma do pedúnculo e as demais células apicais em formato de clava (Fig. 6c, j).

Os tricomas maduros foram submetidos aos testes histoquímicos, que evidenciaram que a natureza da secreção destas estruturas é constituída por substâncias lipofílicas e fenólicas em todas as espécies, como detalhado na Tabela 4. Em *C. speciosa*, além de substâncias lipofílicas, a secreção também é marcada pela presença de terpenos (Tabela 4).

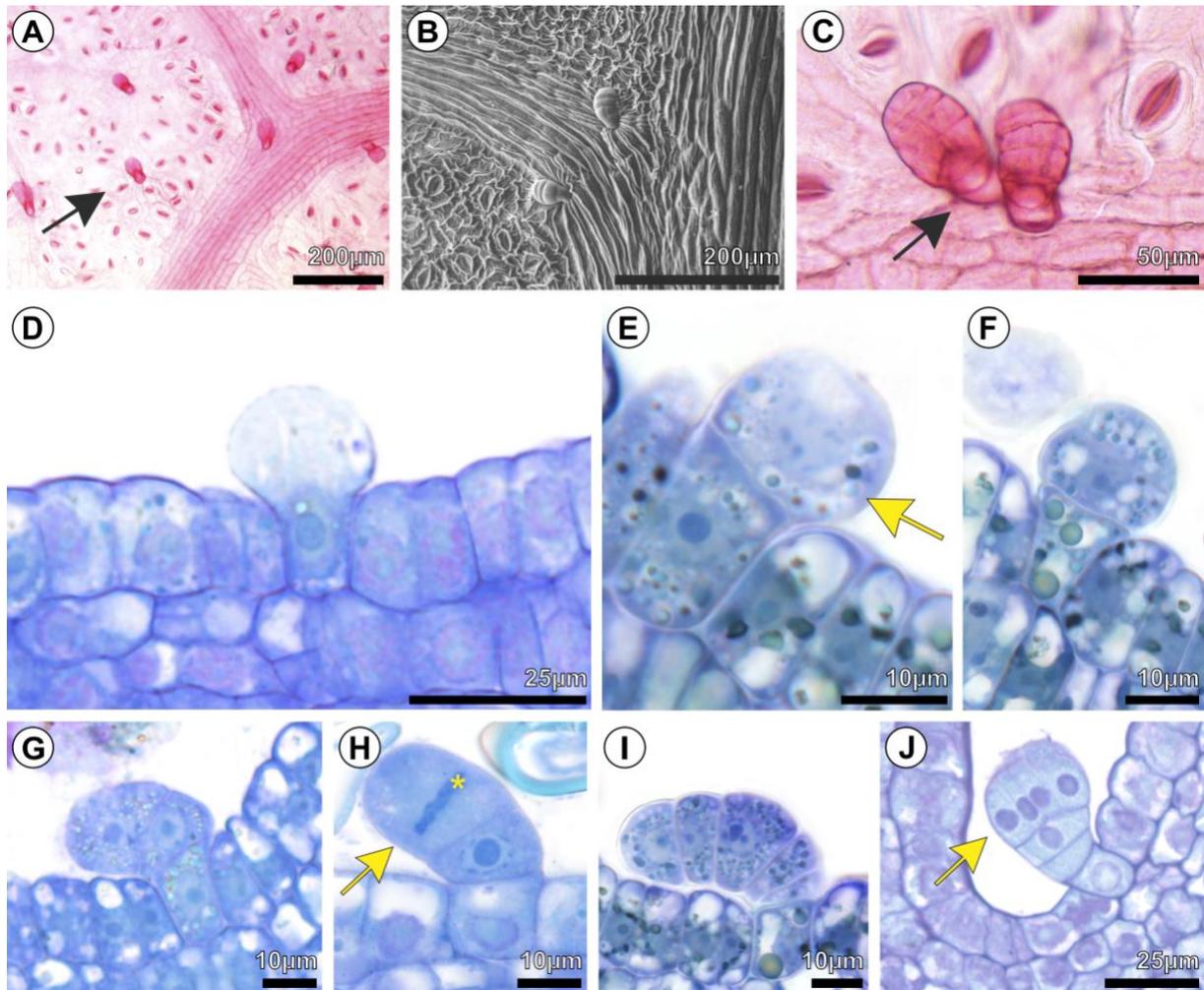


Figura 6. Anatomia e ontogenia dos tricomas glandulares em *Ceiba*. (a,c) *Ceiba jasminodora*. (d, g-h, j) *C. speciosa*. (b, e-f, i) *C. erianthos*. (a-c) folhas maduras; (d-j) folhas jovens. a – tricomas glandulares pluricelulares claviformes distribuídos aleatoriamente pela lâmina foliar na face abaxial, em diafanização; b – detalhe dos tricomas claviformes na superfície abaxial da folha, em MEV; c - tricomas pluricelulares claviformes na face abaxial, em diafanização; d - início do estabelecimento do tricoma com a protusão da célula protodérmica; e-f – resultado da primeira divisão periclinal, formação da célula basal e célula apical (seta amarela); g– tricoma com três células, após a divisão periclinal da célula apical, e estabelecimento da célula do pedúnculo; h – mitose na célula apical (asterisco) e célula apical; i – tricoma com quatro células apicais, após divisões periclinais; j – tricoma com porção apical com quatro células geradas a partir de divisões anticlinais (seta amarela); (a-c) vista frontal. (d-j) secções transversais.

3.1.3. *Nectários extraflorais*

Os nectários extraflorais (NEF) estão localizados na face abaxial na porção do terço médio da nervura mediana dos folíolos (Fig. 7a-a'). Nem todos os folíolos de uma mesma folha possuem nectários extraflorais. Quando visíveis, ou em fase secretora, são tumescentes localizando-se apenas na nervura central (Fig. 7b-c), na região do terço médio da folha já expandida. Em todas as espécies analisadas, o nectário extrafloral é constituído por duas regiões distintas: (i) tricomas glandulares pluricelulares claviformes (Fig. 7d-h) presentes na superfície; e (ii) tecido parenquimático nectarífero subepidérmico (Fig. 7e-h), organizados em um sulco contínuo que se estende ao longo da porção mediana da nervura central (Fig. 7a). Apesar de não ser observada vascularização direta, o nectário extrafloral está próximo ao sistema vascular da nervura mediana (Fig. 7e, g).

A ontogênese dos nectários extraflorais envolve a presença tanto de células protodérmicas, que são as precursoras dos tricomas glandulares, quanto de células do meristema fundamental, que darão origem ao parênquima nectarífero (Fig. 7i-m). A ontogenia dos tricomas claviformes no NEF segue as mesmas etapas de desenvolvimento daquelas já descritas para os mesmos tricomas encontrados em outras regiões do folíolo que não estão relacionadas ao NEF (Fig. 7j-m). Destaca-se que a célula basal do tricoma glandular permanece no mesmo nível das demais células epidérmicas e apresenta espessamento lignificados nas paredes laterais (Fig. 7g-h).

Na porção subepidérmica, as células do meristema fundamental dividem-se em diferentes planos e formam o tecido parenquimático nectarífero. Em seção transversal, o referido tecido é formado por células parenquimáticas isodiamétricas (Fig. 7f). Cabe destacar que inúmeros idioblastos cristalíferos contendo drusas ocorrem circundando o parênquima nectarífero (Fig. 7b, f).

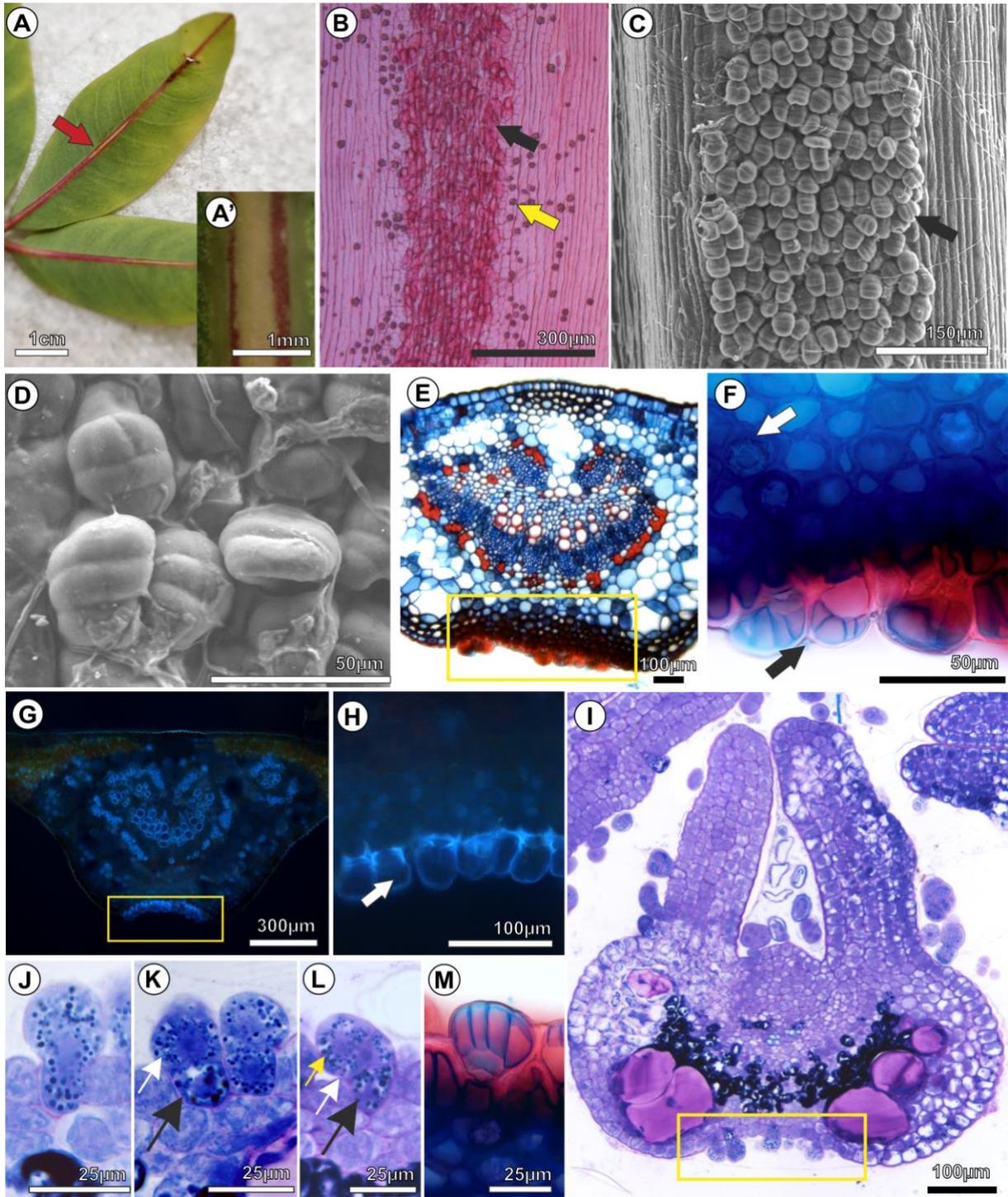


Figura 7. Aspectos gerais, anatomia e ontogenia dos nectários extraflorais em *Ceiba*. (a-a', c-h, k-m) *Ceiba erianthos*. (b) *Ceiba jasminodora*. (i-j) *Ceiba speciosa*. (a-h, m) folhas maduras. (i-l) folhas jovens. a-a' – macroscopia do nectário extrafloral em evidência no terço médio da nervura mediana da folha; b – nectário extrafloral, onde são evidenciados os tricomas glandulares (seta preta) e os idioblastos com cristais do tipo drusa (seta amarela), folha diafanizada; c-d – nectário extrafloral em microscopia eletrônica de varredura, evidenciando tricomas claviformes (seta preta); e – porção da nervura principal, evidenciando as células isodiamétricas do meristema fundamental e epiderme com tricomas glandulares; f - detalhe da superfície abaxial na nervura principal, evidenciando tricomas glandulares e idioblasto cristalífero contendo drusa (seta branca); g-h – autofluorescência do terço médio da nervura mediana com o nectário extrafloral, evidenciando o bordo da estrutura

ligeiramente projetado (retângulo amarelo) e em detalhe os tricomas clavados com maior espessamento da parede das células basais (seta branca); i – nectário extrafloral ativo em azul de toluidina, em folíolo do primórdio foliar (retângulo em amarelo); j-k – células protodérmicas em divisão periclinal, dando origem a uma célula basal e outra apical; l-m – célula apical sofrendo divisões periclinais e, posteriormente, divisões anticlinais formando uma porção apical multicelular. (a-d) vista frontal. (e-m) secções transversais.

Tabela 3. Estruturas secretoras identificadas nas espécies do presente trabalho, localização na folha e origem. * ontogenia não analisada.

Estrutura secretora	Localização	Origem	Espécies			
			<i>Ceiba erianthos</i>	<i>Ceiba jasminodora</i>	<i>Ceiba pentandra</i>	<i>Ceiba speciosa</i>
Idioblasto mucilaginoso	mesofilo, córtex e porção central da nervura mediana	protoderme, células do meristema fundamental e procâmbio	(+)	(+)	(+)	(+)
	inseridos na porção central do sistema vascular, próximos às células de xilema		(-)	(+)	(+)	(-)
Idioblasto cristalífero	mesofilo, córtex e porção central da nervura mediana	*	(+)	(+)	(+)	(+)
Idioblasto com conteúdo fenólico	córtex e porção central da nervura mediana	*	(+)	(+)	(+)	(+)
Tricoma glandular pluricelular claviforme	dispersos aleatoriamente em ambas as faces da epiderme da folha	protoderme	(+)	(+)	(+)	(+)
Nectário extrafloral	face abaxial da folha, na porção do terço médio da nervura mediana	protoderme e células do meristema fundamental	(+)	(+)	(+)	(+)

Tabela 4. Testes histoquímicos realizados nas estruturas secretoras das folhas maduras de *Ceiba erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa*. (+) = exsudato presente; (-) = exsudato ausente.

Testes histoquímicos realizados		Estruturas secretoras e espécies analisadas							
		<i>Ceiba erianthos</i>		<i>Ceiba jasminodora</i>		<i>Ceiba pentandra</i>		<i>Ceiba speciosa</i>	
Substâncias	Reagentes utilizados	Idioblastos	Tricomas glandulares	Idioblastos	Tricomas glandulares	Idioblastos	Tricomas glandulares	Idioblastos	Tricomas glandulares
Lipídios gerais e neutros	Sudan III e Azul do Nilo	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
Compostos fenólicos	Cloreto férrico	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Óleos essenciais e resinas	NADI	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
Politerpenos	Oil red	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
Polissacarídeos gerais e ácidos	Azul de Alcian e PAS	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Mucilagem	Vermelho de rutênio	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)

4. Discussão

No presente trabalho, as estruturas secretoras identificadas nas folhas compostas de *Ceiba* – *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa*, foram: idioblastos de mucilagem, fenólicos e cristalíferos, tricomas glandulares pluricelulares e nectários extraflorais (Tab. 3). Apesar de tais estruturas serem frequentes tanto em Malvaceae quanto em Bombacoideae (Gregory & Baas 1989; Rocha & Machado 2009; Pimentel *et al.* 2011; Rocha *et al.* 2011), destaca-se aqui o primeiro registro detalhado de nectários extraflorais para o gênero, incluindo detalhes de sua morfologia, anatomia e ontogenia.

As características gerais das estruturas secretoras são amplamente estudadas em diversas famílias botânicas como características diagnósticas, como em Rutaceae (Muntoreanu *et al.* 2011), Malvaceae (Rocha *et al.* 2011), Lamiaceae (Salmaki *et al.* 2009), entre outras. A organização estrutural tanto das células quanto dos tecidos, bem como, a natureza química da secreção, possibilitam sua utilização para a classificação e circunscrição de táxons (Luna *et al.* 2013).

Na família Malvaceae são encontrados diferentes tipos de estruturas secretoras, como canais/ductos e cavidades secretoras, idioblastos de diversos tipos, tricomas glandulares e nectários (Rocha & Neves 2000; Lattar *et al.* 2009; Rocha & Machado 2009; Rocha *et al.* 2011). Para os representantes da subfamília Bombacoideae, as estruturas secretoras frequentemente relacionadas e descritas na literatura são canais/ductos e cavidades secretoras, idioblastos e tricomas glandulares (Kuruvilla & Anilkumar 2018; Silva *et al.* 2016). Particularmente para *Ceiba* são poucos os estudos que descrevem e relacionam os tipos de estruturas secretoras e seu desenvolvimento. Tem-se registros para *Ceiba glaziovii* (Kuntze) K. (Silva *et al.* 2016), *C. pentandra* (L.) Gaertn. (Kuruvilla & Anilkumar 2018), *C. chodattii* e *C. speciosa* (Perrotta *et al.* 2007) de canais/ductos e cavidades secretoras, idioblastos e tricomas glandulares.

A partir das análises das folhas de espécies de *Ceiba*, as principais características diagnósticas relacionadas à família Malvaceae identificadas e reportadas são: idioblastos contendo mucilagem distribuídos aleatoriamente nas faces adaxial e abaxial das folhas, mesofilo, córtex e porção central da nervura mediana; tricomas glandulares claviformes, ocorrendo isolados ou aos pares, em ambas as faces da epiderme das folhas; nectários extraflorais em formato de sulco, revestidos por inúmeros tricomas glandulares também claviformes, localizados na face abaxial da nervura mediana.

O termo idioblasto é utilizado para definir células que se diferem das demais pelo seu formato, tamanho ou conteúdo (Fahn 1979; Crang *et al.* 2018). Dentre os diferentes tipos de

idioblastos, destacam-se aqui os idioblastos de mucilagem. Sobre esse tipo celular, há também registro do uso do termo células de mucilagem, para descrever os idioblastos que contém conteúdo mucilaginoso (Fahn 1979; Bass & Gregory 1985), porém, com relação à funcionalidade e às características morfoanatômicas, ambos os termos significam e são utilizados para designar a mesma estrutura.

Idioblastos mucilaginosos foram observados distribuídos aleatoriamente pela lâmina foliar, nervura mediana e pecíolo, ocorrendo na epiderme, se projetando para o estrato hipodérmico, e no tecido parenquimático de todas as espécies analisadas. Assim como aqui observado, há também registros de idioblastos ocorrendo aleatoriamente de forma isolada e/ou agrupados e/ou ocorrendo aos pares (Bakker *et al.* 1991; Bakker & Gerritsen 1992; Pimentel *et al.* 2011). Porém, segundo Gregory & Bass (1989), as células de mucilagem nas folhas de Eudicotiledôneas, ocorrem com maior frequência na face adaxial e, mais raramente, na abaxial do mesofilo e tecido fundamental da nervura central e pecíolo. Entretanto, nas espécies aqui analisadas, discordando de Gregory & Bass (1989), a frequência de ocorrência destas células é em ambas as faces da folha, estando também presentes no mesofilo, córtex e porção central da nervura mediana e do pecíolo. Corroborando com o trabalho de Spegg (1959), o qual reconheceu e descreveu, três padrões de distribuição diagnósticos das células de mucilagem nas folhas de espécies de Malvaceae, que podem estar localizadas: (i) na epiderme adaxial; (ii) na epiderme adaxial e abaxial; (iii) bem como no mesofilo. O padrão de distribuição destas estruturas nas folhas das espécies de *Ceiba* ora analisadas estão de acordo com os caracteres diagnósticos já reconhecidos para Malvaceae. Particularmente, no presente trabalho, a presença ou ausência de idioblastos mucilaginosos próximos às células de xilema mostrou-se uma característica útil à distinção e caracterização das espécies aqui analisadas.

Com relação à presença de mucilagem, alguns autores sugerem que esta pode reduzir a transpiração e a perda de água (Volkens 1887; Gregory & Bass 1989; Rocha *et al.* 2002). Já Fahn (1979) ressalta que a mucilagem, por constituir um complexo de polissacarídeos, pode aumentar a capacidade de retenção de água pelas células, e se destaca por ser uma substância hidrofílica que se torna viscosas ao menor grau de contato com a água, evidenciando grande relevância contra a perda deste recurso (Scott & Bystrom 1970; Eames & McDaniels 1925). Porém, no presente trabalho, apesar da mucilagem ser uma característica marcante, este tipo de relação não ficou evidente, sendo necessárias mais análises que visem esclarecer este aspecto. Nos idioblastos mucilaginosos, também foram observadas outras substâncias, como: polissacarídeos gerais, óleos essenciais, lipídios gerais e neutros. De acordo com as definições de mucilagem, este resultado era esperado. Rocha *et al.* (2011) relatam que os testes

histoquímicos revelaram que a mucilagem dos idioblastos encontrados em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae) é constituída predominantemente por polissacarídeos ácidos e neutros, lipídios e substâncias fenólicas.

Considerando o desenvolvimento e acúmulo de mucilagem nos idioblastos, os resultados aqui obtidos estão de acordo com a classificação de Bass & Gregory (1985), pois estes acumulam mucilagem progressivamente, até que fiquem totalmente preenchidos pela secreção e o citoplasma seja completamente obliterado. Os padrões de acúmulo de mucilagem podem variar, porém, o padrão de acúmulo de secreção e desenvolvimento identificado é similar ao reportado por Bakker & Gerritsen (1992) para as células de mucilagem encontradas em *Hibiscus schizopetalus* (Dyer) Hook. f. Já Bakker *et al.* (1991) descrevem o acúmulo de mucilagem, de forma a ocupar todo o espaço periplasmático produzindo forças multidirecionais, que empurram e comprimem o protoplasto no centro da célula, o qual é posteriormente degenerado. Bass & Gregory (1985) e Bakker *et al.* (1991) relatam que o acúmulo de mucilagem se dá, na maioria dos casos, a partir de vesículas preenchidas por polissacarídeos provenientes do complexo de Golgi, que se movem em direção à plasmalema, fundindo-se a ela, tornando a mucilagem acumulada ou retida entre a plasmalema e a parede celular. Já Mastroberti & Mariath (2008) descrevem em *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze., por exemplo, outro tipo de acúmulo de mucilagem, que ocorre no interior do citoplasma. Tal comportamento também foi observado em espécies de Laurales, porém nos idioblastos oleíferos, a secreção é armazenada no interior do citoplasma, em um vacúolo central ou numa cavidade de óleo, em uma estrutura revestida por membrana (Bakker & Gerritsen 1990; Marinho *et al.* 2011). Mais recentemente, segundo Matos (2021), nos idioblastos mucilaginosos de espécies de Laurales, especificamente de (2021) para *Nectandra membranacea* (Sw.) Griseb., a secreção é armazenada dentro de um vacúolo central, em uma estrutura revestida por membrana. Quanto à parede celular, existem hipóteses que sugerem que nas Angiospermas basais a parede celular desses idioblastos é constituída por duas camadas de celulose separadas por uma camada de suberina e formam um padrão trilamelar (Bass & Gregory 1985; Bakker *et al.* 1991). Bakker *et al.* (1991) demonstraram que os idioblastos oleíferos e mucilaginosos compartilhavam o mesmo tipo de desenvolvimento inicial quando ocorriam na mesma espécie. West (1969), por sua vez, demonstrou que em algumas espécies de Lauraceae, Hernandiaceae e Illiaceae, as células de mucilagem poderiam ser formadas a partir de células oleíferas. Já nas espécies analisadas no presente trabalho, a ontogenia dos idioblastos mucilaginosos se dá a partir de células do meristema fundamental, da protoderme ou do procâmbio, como já descrito para órgãos vegetativos em outras Eudicotiledôneas

(Gregory & Bass 1989). Não foram identificadas células oleíferas tornando-se células mucilaginosas nas espécies de *Ceiba* analisadas, corroborando com os registros existentes de que estes tipos de idioblastos, não são comuns e/ou não ocorrem em Malvaceae.

Além da presença de mucilagem, os idioblastos podem apresentar conteúdo principalmente fenólicos. Os idioblastos que apresentam compostos fenólicos foram mais frequentemente observados na região parenquimática da nervura mediana. Alguns autores mencionam que a presença de fenóis pode estar relacionada com a proteção contra herbivoria, microrganismos, excesso de radiação ultravioleta e ainda com a manutenção do protoplasto, quando a planta é sujeitada a situações de estresse hídrico (Taiz & Zeiger 2006; Paiva & Machado 2006). Nas espécies analisadas, a presença de fenóis na secreção pode estar relacionada com a proteção destas plantas contra patógenos e organismos fitófagos, pois foi observada herbivoria por insetos diversos, principalmente, formigas (observação pessoal). No entanto, o papel específico da secreção dos idioblastos para as espécies aqui analisadas ainda carece de maior aprofundamento.

Apesar dos idioblastos de mucilagem e com compostos fenólicos, foram também observados idioblastos com cristais do tipo drusa em todas as espécies analisadas. Nos idioblastos contendo ráfides, a mucilagem pode ser acumulada de modo a envolver os cristais, que ficam armazenados e localizados em um grande vacúolo central (Bass & Gregory 1985; Kausch & Horner 1984). Diferente do que acontece com os idioblastos cristalíferos com drusas observados no presente estudo, não foram identificados e registrados acúmulo simultâneo de mucilagem com cristais. Idioblastos cristalíferos já foram descritos para Malvaceae por Pimentel *et al.* (2011), que citam sua presença em *Pavonia alnifolia* A. St.-Hil., além da presença de idioblastos contendo mucilagem. Outros trabalhos também citam a presença destes dois tipos de idioblastos de maneira muito semelhante ao que foi observado no presente estudo, como em *Hibiscus* por Rocha *et al.* (2002, 2011) e em *Apeiba* por Barros *et al.* (2017). Estes autores relatam ainda que no geral tais células possuem paredes pectocelulósicas espessas e que, em secção transversal, apresentam formato que varia de circular a oval; aspecto similar aos tipos de idioblastos identificados no presente trabalho. Perrotta *et al.* (2007) em seu trabalho também relatam a presença de células de mucilagem e células contendo cristais do tipo drusa nas folhas de *Ceiba chodatii* e *C. speciosa*.

Nas espécies analisadas, idioblastos maduros adjacentes podem coalescer e formar uma grande estrutura repleta de mucilagem. Bakker & Gerritsen (1992) já mencionaram estrutura semelhante para *Hibiscus schizopetalus*, afirmando que na maturidade, as paredes celulares de idioblastos que ocorrem lado a lado podem se desintegrar resultando na formação de grandes

estruturas semelhantes às “cavidades” que são circundadas por células alongadas e contendo densa secreção mucilaginosa. O uso do termo “cavidade” para tal estrutura pode induzir à interpretações equivocadas, uma vez que o termo é designado para descrever outro tipo de estrutura secretora também muito comum em Malvaceae, mas que difere dos idioblastos por serem constituídas de células epiteliais e possuírem um lúmen formado pelo arranjo destas células (Bakker & Gerritsen 1992). Perrotta *et al.* (2007) relatam a presença de cavidades secretoras em *C. speciosa*, no entanto, nos resultados ontogenéticos aqui obtidos não foi observada tal estrutura na referida espécie, e também não nas demais analisadas. Já é bem conhecido na literatura que o desenvolvimento dos canais/ductos e cavidades secretoras envolve um padrão particular de divisões mitóticas, de lises entre as paredes celulares e afastamento e/ou lise celular (Fahn 1988; Evert 2006; Luna 2013), o que difere completamente da ontogenia dos idioblastos e do resultado de sua coalescência. Apesar dos registros anatômicos apresentados na literatura indicarem para Malvaceae a presença de cavidades secretoras, nas folhas de *Ceiba* analisadas tal estrutura não foi detectada. Os resultados aqui obtidos confirmam a presença de apenas idioblastos mucilaginosos os quais se coalescem quando maduros. Tal conclusão foi embasada pelos estudos ontogenéticos aqui realizados, pois apenas a anatomia e a composição química da secreção se mostraram insuficientes na distinção entre tais estruturas, visto terem morfologia semelhante quando maduras. Apenas os estudos ontogenéticos podem esclarecer tais conflitos, já que estes permitem a observação completa da origem e desenvolvimento, possibilitando o estabelecimento ou não de homologias. Em Malvaceae, e também em *Ceiba*, são raros os estudos ontogenéticos de estruturas secretoras.

Os tricomas secretores pluricelulares do tipo clavado foram observados em todas as espécies analisadas, em ambas as superfícies foliares, dispersos pela lâmina foliar, e/ou próximos à nervura central e laterais. Tricomas são estruturas bastante diversas morfologicamente, que podem ser classificadas como unicelulares ou pluricelulares, simples ou compostas, secretores e não secretores (Metcalf & Chalk 1957 a,b; Fahn 1988). A diversidade morfológica destas estruturas é um valioso atributo taxonômico na circunscrição de táxons, como observado para espécies de Rubiaceae (Kocsis *et al.* 2004), Leguminosae (Jordão *et al.* 2020), Primulaceae (Luna *et al.* 2017). Em Malvaceae, os estudos ressaltam sua relevância como caráter valioso para a circunscrição de táxons. Por exemplo, Garcia *et al.* (2014) descrevem as características anatômicas das folhas de *Theobroma grandiflorum* Schum., *T. speciosum* Willd. ex Spreng. e *T. subincanum* Mart., as quais apresentam tricomas glandulares dos tipos: séssil pedunculado, digitiforme e claviforme. Em *Ceiba*, uma característica marcante é que os tricomas clavados ocorrem isolados ou em pares, porém,

quando em pares. Além disso, com relação à composição química do exsudado destas estruturas, destaca-se que apenas em *C. speciosa* foi detectada a presença de terpenos, um caráter importante que pode auxiliar na distinção e classificação das espécies do grupo. A diversidade destes tricomas nas espécies citadas auxiliou na distinção entre as mesmas. Em alguns casos ainda, quando os tricomas encontram-se plenamente desenvolvidos, apenas a morfoanatomia não é suficiente e somente estudos ontogenéticos permitem validar corretamente a presença de alguns tipos de tricomas em alguns táxons (Ma *et al.* 2016). A ontogenia dos tricomas encontrados nas espécies de *Ceiba* analisadas mostrou-se relevante, para reforçar sua identificação e classificação como do tipo clavado, por meio de análises detalhadas de seus estágios de desenvolvimento.

Quanto ao seu desenvolvimento, os tricomas nas espécies de *Ceiba* têm origem protodérmica e surgem no início do desenvolvimento dos primórdios foliares, estando presentes também nas folhas maduras. A secreção destas estruturas é composta, principalmente, por substâncias lipofílicas, evidenciadas através dos testes histoquímicos. Em *C. speciosa*, além destas substâncias, foi evidenciada presença de óleos essenciais, que no presente trabalho foi relacionada a um possível mecanismo de defesa destas plantas, como já reportado por alguns trabalhos de Malvaceae (*Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl. – Frankenberger 2022). A ontogenia dos tricomas glandulares aqui descritos segue padrão de desenvolvimento semelhante ao observado por Ramírez-Díaz *et al.* (2019) para *Tilia caroliniana* subsp. *floridana* (Sm.) A.E. Murray (Malvaceae), quando uma célula da protoderme inicial se expande, formando uma protuberância e que posteriormente sofre divisão periclinal. Os resultados aqui obtidos e analisados sugerem um padrão para o desenvolvimento de tais tricomas em Malvaceae. Tricomas do tipo clavado também foram reportados nas superfícies foliares de outros táxons de Malvaceae. Lersten (1997), em *Dombeya*, observou que os tricomas clavados eram acompanhados por tricomas não glandulares em ambas as superfícies foliares, e que a forma clavada ocorreu em pelo menos 69 espécies do gênero. Já os tricomas clavados observados nas espécies selecionadas para este trabalho, podem ocorrer isolados ou acompanhados por outros tricomas também clavados. Garcia *et al.* (2014) também relataram a ocorrência destes tricomas nos primórdios e nas folhas expandidas de *Theobroma grandiflorum* Schum. e *T. subincanum* Mart. Além destes, destaca-se também os estudos de Rocha *et al.* (2011), que descrevem tricomas clavados em *Hibiscus pernambucensis*, e estes foram considerados pelos autores estruturas análogas a coléteres. Embora, coléteres sejam considerados tricomas secretores por alguns autores (Horner & Lersten 1968), a origem das referidas estruturas geralmente se dá a partir de células da protoderme, do meristema fundamental e, até mesmo em alguns casos raros,

de células do procâmbio (Thomas 1991; Klein *et al.* 2004). Segundo a terminologia proposta por Fahn (1988), para serem tricomas secretores, estas estruturas devem possuir origem única e exclusivamente protodérmica. Sendo assim, as estruturas identificadas como coléteres citadas por Rocha *et al.* (2011), também encontradas no presente no trabalho, foram aqui identificadas como tricomas secretores pluricelulares claviformes e não coléteres; uma vez que a origem destas estruturas nas espécies analisadas, se dá exclusivamente a partir de células da protoderme.

Nectários extraflorais (NEFs) foram identificados e descritos pela primeira vez quanto à sua morfoanatomia e ontogênese em *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa*. Este é o primeiro estudo com descrição anatômica, histoquímica e ontogenética para *Ceiba* e Bombacoideae. Os nectários extraflorais localizados na face abaxial da nervura mediana ou nas nervuras laterais foram descritos em Malvaceae por: Soederer (1908), Metcalfe & Chalk (1950), Lewton (1925), Cogni & Freitas (2002), Rocha *et al.* (2002) e Vogel (2000). No entanto, diante da alta representatividade de Malvaceae nos ecossistemas tropicais (Rocha & Machado 2009), são poucos os trabalhos que investigam a anatomia dos nectários extraflorais na família, destes destacam-se os estudos em *Abutilon* (Findlay *et al.* 1971; Gunning & Hughes 1976), *Gossypium* (Wergin *et al.* 1975; Eleftheriou & Hall 1983), e *Hibiscus* (Santos 1959; Sawidis 1998; Rocha & Machado 2009). Em linhas gerais, estes trabalhos descrevem nectários extraflorais (NEFs) como um tipo de depressão contendo inúmeras papilas ou tricomas secretores pluricelulares compactados, que não recebe aporte direto de um tecido vascular especializado, similar aos NEFs no presente estudo observados e descritos.

Do ponto de vista ecológico, os nectários extraflorais, que ocorrem principalmente nas plantas tropicais, possuem grande relevância, pois são estruturas secretoras que costumam estar relacionadas às interações de mutualismo (Pacini *et al.* 2007). Geralmente, a secreção exsudada atrai funcionalmente insetos, como formigas (Lawton 1985; Heads 1986), e estas por exemplo, promovem a defesa da planta contra outros tipos de insetos e demais organismos fitófagos. Contudo, o benefício da associação entre formigas e nectários extraflorais nem sempre é óbvio. No presente trabalho essa relação ecológica não ficou clara ou bem estabelecida, muito embora, em todos os momentos de contato com as espécies *in situ*, tenha sido possível notar a presença frequente de formigas visitando as espécies e também alguns sinais evidentes de herbivoria. Pode-se sugerir, portanto, algum tipo de relação mutualística específica entre formigas e estas plantas.

Além da importância ecológica, a diversidade de formas e localização desta estrutura, assim como acontece com os tricomas secretores, é considerada taxonomicamente valiosa

(Bentley 1977; Bentley & Elias 1983; Koptur 1992). Segundo a classificação proposta por Zimmermann (1932), os NEFs observados nas folhas das espécies de *Ceiba* analisadas são “nectários do tipo oco”. Tais nectários são caracterizados pela presença de numerosos tricomas secretores multicelulares alojados no fundo de um sulco e, que para a ordem Malvales, representam uma característica diagnóstica marcante (Sawidis *et al.* 1987; Rocha & Machado 2009). Estes tricomas possuem um maior espessamento em suas células basais, característica normalmente relacionada ao controle do fluxo do material secretado através do protoplasto, além de também promover o isolamento gradual desses tricomas, os quais posteriormente sofrem degeneração quando o nectário deixa de ser ativo (Fahn 1988; Schnepf 1969; Shimony *et al.* 1973; Rocha *et al.* 2011).

Cristais do tipo drusa foram observados no tecido nectarífero das espécies estudadas e são comuns em diferentes *taxa*, incluindo Malvaceae (Sawidis 1998; Castro *et al.* 2001; Paiva *et al.* 2001; Rocha *et al.* 2002; Rocha 2004; Paiva & Machado 2006; Paiva 2008; Melo *et al.* 2010; Pimentel *et al.* 2011). Segundo estes autores, essa presença pode estar relacionada com processos metabólicos diferenciais, corroborando com as observações feitas por Böhmker & Koernicke (1917, 1918 *apud* Arbo 1972), as quais estabeleceram uma possível relação entre a secreção de néctar e a presença de cristais de oxalato de cálcio em células nectaríferas.

Em Malvaceae, Rocha & Machado (2009) descrevem o nectário extrafloral de *H. pernambucensis* como apresentando sulcos profundos com bordo saliente sobre as nervuras da face abaxial da lâmina foliar, constituídos por numerosos tricomas secretores multicelulares, células epidérmicas dispostas em paliçada e parênquima não vascularizado, padrão similar ao descrito para *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa* no presente trabalho. No entanto, ainda em relação às espécies aqui analisadas, os NEFs, quando visíveis ou em fase secretora, são tumescentes localizando-se apenas na nervura central, na região do terço médio da folha já expandida e definida morfológicamente. Cabe ainda destacar que nem todos os folíolos de uma mesma folha possuem nectários extraflorais ativos, o que leva ao surgimento de tais estruturas de maneira tão randômica carece de maior investigação e análise. Com relação ao aspecto anatômico, os nectários extraflorais podem variar amplamente em ontogenia, morfologia e estrutura (Fahn 1988; Rocha & Machado 2009). Contudo, no presente estudo, esta estrutura quando presente, possui mesma a morfoanatomia e ontogênese, não apresentando variações significativas entre as espécies analisadas.

Como bem definido na literatura, os nectários são tecidos especializados, que secretam solução açucarada e estão envolvidos nas interações da planta com os animais. Porém, o termo não indica uma estrutura uniforme ou bem definida (Fahn 1979; Pacini *et al.* 2003). Em linhas

gerais, os nectários estruturados apresentam epiderme, com ou sem estômatos e tricomas, por onde o néctar é liberado, e parênquima especializado, que produz ou armazena solutos de néctar (Fahn 1979; Pacini *et al.* 2003). Além disso, os nectários podem ser abastecidos por tecido vascular especializado ou, simplesmente, estar em contato com o sistema vascular dos órgãos nos quais eles ocorrem (Fahn 1979). Nas espécies de *Ceiba* aqui analisadas não foi observado um tecido vascular especializado ligado ao nectário, mas como tais estruturas estão localizadas na nervura mediana, sugere-se que o sistema vascular da própria nervura participe da produção da secreção, que será exsudada pelos tricomas secretores, após passar pelo parênquima nectarífero.

A partir do exposto acima destaca-se, neste estudo, os primeiros registros de idioblastos coalescentes e nectários para espécies de *Ceiba*, além do primeiro registro de tricomas secretores claviformes. Os dados aqui obtidos são relevantes para entender a evolução das estruturas secretoras em Malvaceae, e, especialmente, em Bombacoideae, os quais podem ser utilizados futuramente como um recurso adicional à filogenia do grupo, complementando as informações até então disponíveis na literatura. Apesar da morfoanatomia e a histoquímica serem consideradas importantes para a classificação e identificação das estruturas secretoras nas espécies estudadas, a ontogênese mostrou-se conclusiva e indispensável na interpretação e análise final dos resultados. Particularmente, considerando que algumas destas estruturas apresentam morfologia e composição química muito semelhantes, a distinção entre as mesmas só foi possível por meio de análises detalhadas dos estágios de desenvolvimento destas células.

5. Conclusões

- As estruturas secretoras foliares observadas em *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa* são idioblastos mucilaginosos, fenólicos e cristalíferos, tricomas pluricelulares claviformes e nectários extraflorais.
- Dentre os caracteres anatômicos identificados, *C. jasminodora* e *C. pentandra* se diferenciam de *C. erianthos* e *C. speciosa*, pela presença de idioblastos mucilaginosos nos feixes vasculares da nervura central dos folíolos das folhas. Ademais, com relação à composição química da secreção dos tricomas glandulares, as quatro espécies apresentam substâncias lipofílicas, e apenas em *C. speciosa*, também foi evidenciada a presença de terpenos.
- Reporta-se aqui pela primeira vez a morfoanatomia e ontogenia de nectários extraflorais, tanto para Bombacoideae, quanto para o gênero *Ceiba*.
- Embora, canais/ ductos e cavidades secretores sejam de comum ocorrência nos escassos registros morfoanatômicos existentes para Bombacoideae (Malvaceae), através da ontogênese verificou-se que não há tais estruturas secretoras em *C. erianthos*, *C. jasminodora*, *C. pentandra* e *C. speciosa*, mas sim idioblastos que se coalescem quando maduros.
- Idioblastos maduros adjacentes podem coalescer ou se unir e formar uma grande estrutura contendo secreção densa mucilaginosa; alguns autores chamam esta estrutura de “cavidade”. No entanto, apesar de parecerem cavidades secretoras anatomicamente, estas foram identificadas como idioblastos devido ao padrão de acúmulo de secreção e o desenvolvimento observado; que de acordo com o que está muito bem estabelecido na literatura, são característicos de células de mucilagem.
- Apesar da morfoanatomia e a composição química da secreção serem importantes no que concerne à classificação das estruturas secretoras, somente estas características mostraram-se insuficientes no presente trabalho para fazer a determinação mais precisa, de presença e/ou ausência de alguns tipos de estrutura, nas espécies analisadas. As análises ontogênicas mostram-se de extrema relevância e importância para a conclusão

deste estudo. Principalmente, no que concerne à diferenciação de células com anatomia semelhante, como idioblastos e cavidades secretoras, com conteúdo mucilaginoso.

6. Referências Bibliográficas

- Alverson WS, Whitlock BA, Nyffeler R, Bayer C & Baum DA (1999) Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *Amer. J. Bot.* 86(10):1774- 1486.
- Ascensão L (2007) Estruturas secretoras em plantas: uma abordagem morfo- anatômica. Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais. Lisboa: Faculdade de Ciências de Lisboa, 19-28.
- Araujo WDV (2019) Filogenia, biogeografia e evolução de estruturas secretoras de representantes da subtribo Cajaninae (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae). Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo. 130p.
- Arbo MM (1972) Estructura y ontogenia de los nectarios foliares del género *Byttneria* (Sterculiaceae). *Darwiniana*: 104-158.
- Baas P & Gregory M (1985) A survey of oil cells in the dicotyledons with comments on their replacement by and joint occurrence with mucilage cells. *Israel Journal of Botany* 34: 167-186.
- Bakker ME & Gerritsen AF (1992) The development of mucilage cells in *Hibiscus schizopetalus*. *Acta Botanica Neerlandica* 41: 31-42.
- Bakker ME, Gerritsen AF & Van Der Schaaf PJ (1991) Development of oil and mucilage cells in *Cinnamomum burmanni*. An ultrastructural study. *Acta Botanica Neerlandica* 40: 339-356.
- Barros MCR, Schlieve MA & Paula J (2017) Morfo-anatomia de folhas de *Apeiba tibourbou* Aubl. Malvaceae”. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science* 6: 212-29.
- Bayer C & Kubitzki K (2003) Malvaceae. *In*: Kubitzki, K. (ed). *The Families and Genera of Vascular Plants, Malvales, Capparales and Non-Betalain Caryophyllales*. Vol. 5. Springer, Berlin. Pp. 225- 311.
- Bovini MG (2010) Malvaceae s. str. na Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 61: 289-301.

- Bovini MG & Baumgratz JFA (2016) Taxonomic revision of *Wissadula* (Malvoideae, Malvaceae) in Brazil. *Phytotaxa* 243: 201-234.
- Carvalho-Sobrinho JG (2020 continuously updated) *Ceiba in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB9032>>. Acesso em: 27 fev 2023.
- Carvalho-Sobrinho JG, Alverson WS, Alcantara S, Queiroz LP, Mota AC & Baum DA (2016) Revisiting the phylogeny of Bombacoideae (Malvaceae): Novel relationships, morphologically cohesive clades, and a new tribal classification based on multilocus phylogenetic analyses. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 101: 56-74.
- Carvalho-Sobrinho JG & de Queiroz LP (2008) *Ceiba rubriflora* (Malvaceae: Bombacoideae), a new species from Bahia, Brazil. *Kew Bulletin* 63: 649-653.
- Castro MA, Vega AS & Múlgura ME (2001) Structure and ultrastructure of leaf and calyx glands in *Galphimia brasiliensis* (Malpighiaceae). *American Journal of Botany* 88: 1935-1944.
- Ciccarelli D, Andreucci AC & Pagni AM (2001) Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. *Annals of Botany* 88: 637-644.
- Clifford SC, Arndt SK, Popp M & Jones HG (2002) Mucilages and polysaccharides in *Ziziphus* species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. *Journal of Experimental Botany* 53: 131-138.
- Crang R, Lyons-Sobaski S & Wise R (2018) *Plant anatomy: a concept-based approach to the structure of seed plants*. Springer, Cham. Pp. 443-475.
- Cogni R & Freitas AV (2002) The ant assemblage visiting extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae) in a mangrove forest in southeast Brazil (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 40: 373-384.
- Croteau R & Johnson MA (1984) Biosynthesis of terpenoids in glandular trichomes. *In*: Rodriguez E, Healey PL, Metha J (eds.) *Biology and chemistry of plant trichomes*. Plenum Press, New York. Pp. 133–185.
- David R & Carde JP (1964) Coloration différentielle dès inclusions lipidique et terpeniques dès pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris, Série D* 258: 1338-1340.
- Ditsch F, Patha H & Barthlott W (1995) Micromorphology of epicuticular waxes in Fabales and its systematic significance. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 68: 297-310.

- Eames AJ & MacDaniels LH (1925) An introduction to plant anatomy. McGraw-Hill Book Company Incorporated, Cambridge. Pp. 264-278.
- Eleftheriou EP & Hall JL (1983) The extrafloral nectaries of cotton: I. Fine structure of the secretory papillae. *Journal of Experimental Botany* 34: 103-119.
- Esau K (1974) Anatomia das plantas com sementes. Editora Blucher, São Paulo. Pp. 125-134.
- Evert RF (2006) Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey. Pp 447-495.
- Faegri K & Van der Pijl L (1980) The principles of pollination ecology. Pergamon Press Ltd., Oxford. Pp. 164-168.
- Fahn A (1979) Secretory tissues in plants. London, Academic Press 302: 247-277.
- Fahn A (1988) Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* 108: 229-257.
- Feio AC, Riina R & Meira RMSA (2016) Secretory structures in leaves and flowers of two dragon's blood Croton (Euphorbiaceae): new evidence and interpretations. *International Journal of Plant Sciences* 177(6): 511–522.
- Ferreira CDM (2016) Estudos Taxonômicos em Bombacoideae (Malvaceae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro. 104p.
- Ferreira CD, De Toni KL & Bovini MG (2018) Miscellaneous additions to *Quararibea* (Malvaceae) from the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Systematic Botany*, 43: 1011-1019.
- Figueiredo AC, Barroso JG & Pedro LG (2007) Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-Prático. Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal. Pp. 175-182.
- Findlay N, Reed ML & Mercer FV (1971) Nectar production in *Abutilon* III. Sugar secretion. *Australian Journal of Biological Sciences* 24: 665-676.
- Fougère-Danezan M, Herendeen PS, Maumont S & Bruneau A (2010) Morphological evolution in the variable resin-producing *Detarieae* (Fabaceae): do morphological characters retain a phylogenetic signal? *Annals of Botany* 105: 311-325.
- Foster AS (1956) Plant idioblasts: remarkable examples of cell specialization. *Protoplasma* 46: 184-193.
- Flora e Funga do Brasil (2023). *Malvaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB156>>. Acesso em: 08 mar. 2023.

- Franco MJCS & Albiero ALM (2018) Estruturas secretoras em folha e caule de *Esenbeckia febrifuga* (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. e *Esenbeckia grandiflora* Mart.(Rutaceae). *Hoehnea* 45: 468-483.
- Fryxell PA (1988) Malvaceae of México. *Systematic Botany Monographs* 25:1-522.
- Gabriel BL (1982) *Biological electron microscopy*. Van Nostrand Reinhold, New York. 186p.
- Garcia TB, Potiguara RCV, Kikuchi TYS, Demarco D & Aguiar-Dias ACA (2014) Leaf anatomical features of three *Theobroma* species (Malvaceae *s.l.*) native to the Brazilian Amazon. *Acta Amazonica* 44: 291-300.
- Gerrits PO & Smid L (1983) A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132: 81-85.
- Gibbs PE & Semir J (2003) A Taxonomic revision of the genus *Ceiba* Mill. (Bombacaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 60:259-300.
- Gunning BES & Hughes JE (1976) Quantitative assessment of symplastic transport of pre-nectar into the trichomes of *Abutilon* nectaries. *Functional Plant Biology* 3: 619-637.
- Gregory M & Baas P (1989) A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38: 125-174.
- Heads PA (1986) Bracken, ants and extrafloral nectaries. IV. Do wood ants (*Formica lugubris*) protect the plant against insect herbivores? *The Journal of Animal Ecology* 55: 795-809.
- Horner Júnior HT & Lersten NR (1968) Development, structure and function of secretory trichomes in *Psychotria bacteriophila* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*: 55: 1089-1099.
- Jayabalan M & Shah JJ (1986) Histochemical techniques to localize rubber in guayule (*Parthenium argentatum* Gray) Biotech. *Histochemistry* 61: 303-308.
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. MacGrawHill, New York. 523p.
- Jordão LSB, Morim MP & Baumgratz JFA (2020) Trichomes in *Mimosa* (Leguminosae): towards a characterization and a terminology standardization. *Flora* 272: 151702.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF & Donoghue MJ (2009) *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. Artmed, Porto Alegre. 612p.
- Kausch AP & Horner HT (1984) Differentiation of raphide crystal idioblasts in isolated root cultures of *Yucca torreyi* (Agavaceae). *Canadian journal of Botany* 62: 1474-1484.
- Karabourniotis G, Liakopoulos G, Nikolopoulos D & Bresta P (2020) Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: structure–function coordination. *Journal of Forestry Research* 31: 1-12.

- Kellermann B, Bona C & Souza LAD (2016) Morfoanatomia da plântula e comparação da folha nas fases juvenis e adulta de *Piptocarpha angustifolia* (Asteraceae). *Rodriguésia* 67: 627-638.
- Klein DE, Moreira Gomes V, Da Silva-Neto SJ & Da Cunha M (2004) The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Annals of Botany* 94: 733-740.
- Kocsis M, Darók J & Borhidi A (2004) Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. *Plant Systematics and Evolution* 248: 205-218.
- Koptur S (1992) Plants with extrafloral nectaries and ants in Everglades habitats. *Florida Entomologist* 75: 38-50.
- Kuruvilla J & Anilkumar M (2018) Pharmacognostical studies in the leaves of *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7: 46-54.
- Lackey JA (1978) Leaflet anatomy of Phaseoleae (Leguminosae: Papilionoideae) and its relation to taxonomy. *Botanical Gazette* 139: 436-446.
- Frankenberger, L. (2022). Obtenção e caracterização de óleos essenciais de *Dysphania ambrosioides* L. (Amaranthaceae), *Cola nitida* (Vent.) Schott & Endl. (Malvaceae) e *Mentha pulegium* (Lamiaceae) para avaliação de atividade repelente e inseticida. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 158p.
- Lange VM (2015) The Evolution of Plant Secretory structures and emergence of terpenoid chemical diversity. *Annual Review of Plant Biology* 66: 139-159.
- Langenheim JH (2003) Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany. Timber Press, Oregon, US. Pp. 23-50.
- Lattar EC, Solís SM, Avanza MM & Ferrucci MS (2009) Estudios morfo-anatómicos en nectarios florales y extraflorales de *Triumfetta rhomboidea* (Malvaceae, Grewioideae). *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 44: 33 - 41.
- Lawton MP (1985) The elderly in context: Perspectives from environmental psychology and gerontology. *Environment and Behavior* 17: 501-519.
- Leitão CAE, Meira RMSA, Azevedo AA & Araújo JM (2002) Ontogenia dos nectários extraflorais de *Triumfetta semitriloba* (Tiliaceae). *Planta Daninha* 20: 343-351.
- Lersten NR (1975) Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Botanical Journal of the Linnean Society* 71: 311-319.
- Lersten NR (1997) Occurrence of endodermis with a casparian strip in stem and leaf. *The Botanical Review* 63: 265-272.

- Lersten NR & Curtis JD (1989) Foliar oil reservoir anatomy and distribution in *Solidago canadensis* (Asteraceae, tribe Astereae). *Nordic Journal of Botany* 9: 281-287.
- Lewton FL (1925) The value of certain anatomical characters in classifying the Hibisceae. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 15: 165-172.
- Li P & Johnston MO (2000) Heterochrony in plant evolutionary studies through the twentieth century. *Botanical Review* 66: 57 -88.
- Lima JB, Bovini MG & Conceição AS (2019) Bombacoideae, Byttnerioideae, Grewioideae and Helicterioideae (Malvaceae s.l.) in the Raso da Catarina Ecoregion, Bahia, Brazil. *Biota Neotropica* 19: e20180569.
- Luna BN (2013) Anatomia foliar, ontogenia das estruturas secretoras foliares e composição do óleo essencial de *Myrsine coriacea* (Sw.) R.Br. ex Roem. & Shult. e *Myrsine venosa* A. DC. (Myrsinoideae – Primulaceae). Dissertação de mestrado. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Escola Nacional de Botânica Tropical, Rio de Janeiro. 35p.
- Luna BN, Carrijo TT, Freitas MF & Barros CF (2013) Comparative leaf anatomy of Neotropical *Stylogyne* species. *Rodriguésia* 64: 717–726.
- Luna BN, Freitas MF, Baas P, De Toni KLG & Barros CF (2017) Leaf anatomy of five neotropical genera of Primulaceae. *International Journal of Plant Science* 178: 362–377.
- Luna BN, Freitas MF & Barros CF (2019) Diversity of leaf secretory structures in five neotropical genera of Primulaceae: ecological aspects and evolutionary significance. *Botany* 97: 35-51.
- Ma D, Hu Y, Yang C, Liu B, Fang L, Wan Q, Liang W, Mei G, Wang L, Wang H, Ding L, Dong C, Pan M, Chen J, Wang S, Chen S, Cai C, Zhu X, Guan X, Zhou B, Zhu S, Wang J, Guo W, Chen X & Zhang T (2016) Genetic basis for glandular trichome formation in cotton. *Nature Communications* 7: 1-9.
- Martini MH, Lenci CG & Tavares DQ (2003) Mucilage pockets in cotyledon tissue of *Theobroma speciosum*. *Acta Microscopica* 12: 65-69.
- Marzinek J & Mourão KS (2003) Morphology and anatomy of the fruit and seed in development of *Chorisia speciosa* A. St.-Hil.-Bombacaceae. *Brazilian Journal of Botany* 26: 23-34.
- Matos LS (2021) Ontogênese e secreção dos idioblastos de *Nectandra membranaceae* (Sw.) Griseb. e *Nectandra puberula* (Chott) Nees (Lauraceae). Dissertação de mestrado. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Escola Nacional de Botânica Tropical, Rio de Janeiro. 47p.

- Mattos JR, Ferreira CDM, Bovini MG, Coelho MAN (2019) Malvaceae, cultivada no arboreto do Jardim Botânico do Rio de Janeiro: a família do hibisco [livro eletrônico] 1 ed. Rio de Janeiro, Vertente edições 29-35.
- Mauseth JD (1988) Plant Anatomy, Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Melon Park. Pp. 141-167.
- McManus JFA (1948). Histological and histochemical uses of periodic acid. Stain Technology 23: 99–108.
- Melo JB (2017) Aspectos da anatomia foliar e caulinar de *Glandularia peruviana* (L.) Small (Verbenaceae). Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo. 34p.
- Melo Y, Córdula E, Machado SR & Alves M (2010) Morfologia de nectários em Leguminosae senso lato em áreas de caatinga no Brasil. Acta Botanica Brasilica 24: 1034-1045.
- Metcalf CR & Chalk L (1950) Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood, in relation to taxonomy, with notes on economic uses. 2 ed. Oxford, Clarendon Press., London. Pp. 1500.
- Metcalf CR & Chalk L (1957a) Anatomy of the Dicotyledons. 2 ed. Vol. 1. Oxford, Clarendon Press., London. Pp 1459.
- Metcalf CR & Chalk L (1957b) Anatomy of the Dicotyledons. 2 ed. Vol. 2. Oxford, Clarendon Press., London. Pp. 1459.
- Meyen FJF (1837) Ueber die Secretions-Organen der Pflanzen. F.H. Morin, Berlin. 99 p.
- Muntoreanu TG, da Silva Cruz R & Melo-de-Pinna GF (2011) Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical Rutaceae: *Pilocarpus* Vahl and related genera. Plant systematics and evolution 296: 87-99.
- Nogueira A, El Ottra JHL, Guimaraes E, Machado SR & Lohmann LG (2013) Trichome structure and evolution in Neotropical lianas. Annals of Botany 112: 1331- 1350.
- O'Brien TP & McCully ME (1981) The study of plant structure. Principles and selected methods. Termarcaphi Pty Ltd., Melbourne. Pp. 344.
- Oliveira FS (2016) Ecologia da polinização e análise da composição química do óleo floral de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) e sua importância na atração dos visitantes florais. Tese de doutorado. Universidade do Maranhão, São Luís. 136 p.
- Oliveira VC, Santos AR, Souza GS, Lima GR, Alves PB & Santos HV (2016) Metabólitos secundários e características anatômicas de folhas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) cultivado sob malhas coloridas. Revista de Ciências Agrárias 39: 170-177.

- Pacini E, Nepi M & Nicolson SW (2007) Nectaries and nectar. Springer, Dordrecht. Pp. 129-167.
- Pacini E, Nepi M & Vesprini JL (2003) Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution* 238: 7–21.
- Paiva EAS (2019) Are calcium oxalate crystals a dynamic calcium store in plants? *New Phytologist* 223:1707–1711.
- Paiva EAS (2021) Do calcium oxalate crystals protect against herbivory? *The Science of Nature* 108: 24.
- Paiva EAS & Machado SR (2006) Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasilica* 20: 471-482.
- Paiva EAS (2008) The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. *Annals of Botany* 101: 125-133.
- Paiva EAS, Morais HCD, Isaias RMDS, Rocha DMSD & Oliveira PE (2001) Occurrence and structure of extrafloral nectaries in *Pterodon pubescens* Benth. and *Pterodon polygalaeiflorus* Benth. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 219-224.
- Payne WW (1978) A glossary of plant hair terminology. *Brittonia* 30: 239-255.
- Pearse AGE (1968) *Histochemistry: theoretical and applied*. Vol. 1. 3rd ed. Churchill Livingstone, Edinburgh. 759p.
- Pearse AGE (1980) *Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology*. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 439 p.
- Perrotta VG, Stenglien SA & Arambarri AM (2007) Leaf anatomy of *Ceiba chodatii* and *C. speciosa* (Bombacaceae). *Kurtziana* 33: 17-25.
- Pimentel RR, Machado SR & Rocha JF (2011) Estruturas secretoras de *Pavonia alnifolia* (Malvaceae), uma espécie ameaçada de extinção. *Rodriguésia* 62: 253- 262.
- Priolo de Lufrano NS & Caffini NO (1981) Mucílagos foliares de *Chorisia* H.B.K. (Bombacaceae): análisis fitoquímico e enfoque quimiotaxonômico. *Phyton* 40: 13- 20.
- Ramírez-Díaz M, Terrazas T, Aguilar-Rodríguez S, Rojas-Leal A & Martínez-Cabrera D (2019) Ontogenia de los tricomas foliares de *Tilia caroliniana* subsp. *floridana* (Malvaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidade* 90: e902779.
- Ramos MV, Demarco D, Costa Souza IC & de Freitas CDT (2019) Laticifers, latex, and their role in plant defense. *Trends in Plant Science* 24: 553-567.

- Rocha JF (2004) *Estruturas secretoras em Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): anatomia, desenvolvimento, histoquímica e ultra-estrutura. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 110p.
- Rocha JF & Machado SR (2009). Anatomy, ultrastructure and secretion of *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae) extrafloral nectary. *Brazilian Journal of Botany* 32: 489-498.
- Rocha JF & Neves LJ (2000) Anatomia foliar de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae). *Rodriguésia* 51: 113-132.
- Rocha JF, Neves LJ & Pace LB (2002) Estruturas secretoras em folhas de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda. *Revista Universidade Rural, Série Ciências de Vida* 22: 43-55.
- Rocha JF, Pimentel RR & Machado SR (2011) Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. *Acta Botanica Brasilica* 25: 751-763.
- Rocha JF, Pimentel RR, Rosa MMT & Machado SR (2010) Anatomia e histoquímica dos nectários florais de *Dombeya wallichii* (Lindl.) K. Schum. e *Dombeya natalensis* Sond. (Malvaceae). *Revista de Biologia Neotropical* 7: 27-36.
- Rocha VLP, Fagundes OS, Rocha VAP, Vicente RE, Ribeiro Júnior NG, Yamashita OM & Silva IV (2020) Anatomia comparada, histoquímica e fitoquímica dos órgãos vegetativos de espécies do gênero *Ocimum* L. (Lamiaceae). *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais* 11: 266-277.
- Rodziewicz P, Lorocho S, Marczak Ł, Sickmann A & Kayser O (2019) Cannabinoid synthases and osmoprotective metabolites accumulate in the exudates of *Cannabis sativa* L. glandular trichomes. *Plant Science* 284: 108-116.
- Roshchina VV & Roshchina VD (1993) The excretory function of higher plants. Springer-Verlag, Berlin. 314p.
- Salmaki Y, Zarre S, Jamzad Z & Bräuchler C (2009) Trichome micromorphology of Iranian *Stachys* (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication. *Flora* 204: 371-381.
- Sant'Anna-Santos BF, Thadeo M, Meira RMSA & Ascensão L (2006) Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). *Revista Árvore* 30: 481-489.
- Santos CFDO (1959) Anatomia dos nectários de algumas espécies da flora apícola. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz* 16: 87-100.

- Sawidis TH (1991) A histochemical study of nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. Journal of Experimental Botany 24: 1477-1487.
- Sawidis TH (1998) The subglandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectaries. Flora 193: 327-335.
- Sawidis T, Eleftheriou EP & Tsekos I (1987) The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis* L. II. Plasmodesmatal frequencies. Phytion 27: 155-164.
- Schnepf E (1968) Zur Feinstruktur der schleimsezernierenden Drüsenhaare auf der Ochrea von *Rumex* und *Rheum*. Planta 79: 22-34.
- Schnepf E (1969) Sekretion und Exkretion bei Pflanzen. Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung 8: 1-181.
- Scott FM & Bystrom BG (1970) Mucilaginous idioblasts in okra, *Hibiscus esculentus* L. In: Robson, N.K.B., Cutler, D.F. & Gregory, M. (eds) News research in plant anatomy. Academic Press, London. Pp. 15-24.
- Shimony C, Fahn A & Reinhold L (1973) Ultrastructure and ion gradients in the salt glands of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. New Phytologist 72: 27-36.
- Silva KMM, Luna BN, Joffily A, Paiva SR & Barros CF (2019) Revealing the development of secretory structures in the leaves of *Clusia fluminensis* and *Clusia lanceolata* (Clusiaceae). Flora 256: 69-78.
- Silva PKS, Santos EAV, Anjos CS & Silva KN (2016) Anatomia foliar de *Ceiba glaziovii* k. Schum.(Malvaceae-Bombacoideae), uma espécie medicinal da caatinga. In I Congresso Internacional da Diversidade do Semiárido. 6p
- Simon MF, Grether R, Queiroz LP de, Sarkinen TE, Dutra VF, Hughes CE (2011) The evolutionary history of Mimosa (Leguminosae): towards a phylogeny of the sensitive plants. American Journal of Botany 98(7): 1201-1221.
- Solereder H (1908) Systematic anatomy of dicotyledons. A hand- book for laboratories of pure applied botany. 2nd ed. Claren- don Press, Oxford, UK. Pp. 1182.
- Spegg H (1959) Untersuchungen zur lage, ausbildung und funktion der schleimführenden gewebe bei malvageen und tiliageen. Planta Medica 7: 8-23.
- Taiz L & Zeiger E (2006) Fisiologia vegetal. Castelló de la Plana: Publicacions de la Universitat Jaume I., D. L., Castelló de la Plana. Pp. 1265.
- Thomas V (1991) Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. Annals of Botany 68: 287-305.
- Tozin LRS (2018) Morfologia, funcionamento e influência de fatores exógenos no sistema secretor de óleo em espécies vegetais com ênfase no papel do citoesqueleto no processo

- de secreção. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Botucatu, São Paulo. 135 p.
- Vasconcelos Bonifácio SK (2012) Estrutura e ontogênese de sementes de *Ceiba samauma* (Mart.) Shumann (Bombacoideae, Malvaceae). Anais do Enic, [S. l.] 1: 4. Disponível em: <https://anaisonline.uems.br/index.php/enic/article/view/1753> Acesso em: 8 mar. 2023.
- Vogel S (2000) Floral nectaries of the Malvaceae sensu lato – a conspectus. Kurtziana 28:155-171.
- Volkens G (1887) Die flora der Aegyptisch-Arabischen Wüste auf Grundlage Anatomisch-Physiologischer Forschungen. Kessinger Publishing, German. 198p.
- Webber IE (1938) Anatomy of the leaf and stem of *Gossypium*. Journal of Agricultural Research 57: 269.
- Wergin WP, Elmore CD, Hanny BW & Ingber BF (1975) Ultrastructure of the subglandular cells from the foliar nectaries of cotton in relation to the distribution of plasmodesmata and the symplastic transport of nectar. American Journal of Botany 62: 842-849.
- West WC (1969) Ontogeny of oil cells in woody Ranales. Bulletin of the Torrey Botanical Club 96: 329-344.
- Yoshikawa VN, Esteves GL & Duarte MC (2019) Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Bombacoideae (Malvaceae). Boletim de Botânica 37: 49-58.
- Zimmermann J (1932) Über die extrafloralen Necktarien der Angiospermen. Beihefte zum botanischen Centralblatt 49: 99, 196.