



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Marcos José Gomes Pessoa

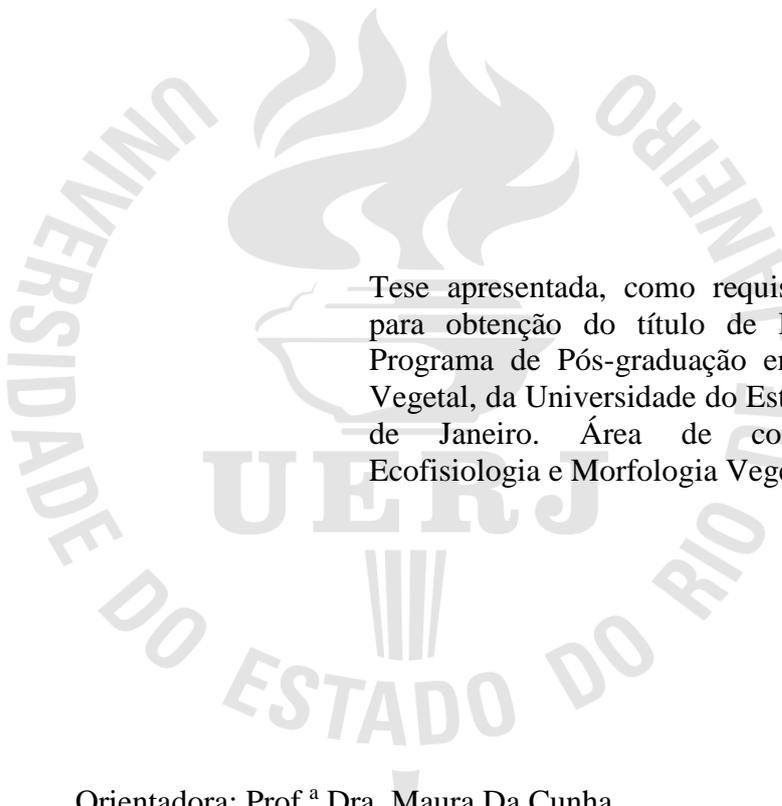
**Atributos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades:
Uma abordagem funcional, ecológica e taxonômica em savanas
amazônicas**

Rio de Janeiro

2022

Marcos José Gomes Pessoa

**Atributos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades:
Uma abordagem funcional, ecológica e taxonômica em savanas
amazônicas**



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ecofisiologia e Morfologia Vegetal.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maura Da Cunha

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

P475 Pessoa, Marcos José Gomes.
Atributos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades: uma abordagem funcional, ecológica e taxonômica em savanas amazônicas/ Marcos José Gomes Pessoa – 2022.
112 f. : il.

Orientadora: Maura da Cunha
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Savanas - Mato Grosso - Teses 2. Cerrados - Mato Grosso - Teses. 3. Morfologia vegetal - Teses. 4. Anatomia vegetal - Teses. I. Cunha, Maura da. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 581.526.53 (817.2)

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 - Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Marcos José Gomes Pessoa

**Atributos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades:
Uma abordagem funcional, ecológica e taxonômica em savanas
amazônicas**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ecofisiologia e Morfologia Vegetal.

Aprovada em 27 de janeiro de 2022.

Orientadora:

Prof.^a Dra. Maura da Cunha

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Élder Antônio Sousa e Paiva

Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof.^a Dra. Elisabeth Emília Augusta Dantas Tölke

Universidade de São Paulo - USP

Prof.^a Dra. Helena Regina Pinto Lima

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

Prof.^a Dra. Ivone Vieira da Silva

Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Dedico àquela que é cheia de Deus, Nossa Senhora de Lourdes, que um dia se revelou para mim no Grupo de Oração e confirmou que o meu doutorado seria no estado do Rio de Janeiro e a minha família pelo grande exemplo e pelos sacrifícios para que eu pudesse estudar.

AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre me amou, cuidou, protegeu, fortaleceu e me fez um servo forte e fiel mesmo diante das minhas limitações.

À Nossa Senhora de Lourdes pelo seu amor incondicional de mãe, por me conduzir, por me acalmar nos momentos de aflições, incertezas e de solidão e por ser meu refúgio.

À minha coordenação diocesana, do Ministério Universidades Renovadas – MUR por ser canal de benção na minha vida, em especial ao Grupo de Oração Halam da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF.

Aos meus coordenadores de Grupo de Oração e aos servos pela amizade, comprometimento, zelo e pela vida espiritual de cada um.

À Universidade do estado do Rio de Janeiro - UERJ, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pela infraestrutura, secretariado e apoio financeiro concedido para a realização desta pesquisa.

Agradeço aquela que um dia aceitou me orientar sem sequer saber quem eu era que me deixou executar o projeto que eu queria, que um dia em plena pandemia chegou ao meu apartamento com álcool gel, máscaras e com recomendações para me cuidar com o COVID 19 ao retornar para o Mato Grosso no período em que ficamos com as universidades fechadas. Neste dia, minha admiração por ela aumentou mais. Eu já tinha a certeza que Deus e Nossa Senhora estavam cuidando de mim. Neste dia, minha certeza foi além. Cheguei até falar com Deus, ela não é apenas uma orientadora, é uma mãe. Maura você é um exemplo de simplicidade, compreensão, competência, uma excelente gerenciadora de pessoas, pesquisadora e não mede esforços para ajudar seus alunos, não me recordo de ter escutado um não de ti nestes anos em que trabalhamos juntos. Obrigado pela amizade, conselhos, confiança, paciência e pelas oportunidades que me proporcionou junto a UENF.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal por todo conhecimento científico transmitido, em especial à profa. Dra. Helena Regina Pinto Lima pela amizade e por sempre me auxiliar tirando dúvidas e fornecendo informações importantes para a elaboração desta pesquisa.

À profa. Dra. Cátia Callado e toda a equipe do Laboratório de Anatomia Vegetal da UERJ, pela amizade e por disponibilizar da infraestrutura do laboratório quando precisei.

À Vera Varejão secretária do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pelo exemplo de funcionária pública a ser seguido, pela competência, comprometimento e por sempre estar disposta em sanar todas as dúvidas que tive durante o doutorado.

À profa. Dra. Ivone Vieira da Silva da Universidade do estado de Mato Grosso – UENMAT, que me ensinou a desvendar a mundo fascinante da anatomia vegetal, por ter sido referência para que eu continuasse lutando pelas minhas conquistas pessoais e profissionais e por ter fornecido a infraestrutura do seu laboratório quando foi preciso. Obrigado por sua ajuda, orientações e amizade.

Aos membros da minha banca de qualificação, profa. Dra. Helena Regina Pinto Lima da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, ao prof. Dr. Saulo Pireda da UENF e a profa. Dra. Cláudia Franca Barros do Jardim Botânico do Rio de Janeiro - JBRJ pelas excelentes contribuições que ajudaram a construir essa pesquisa.

À profa. Dra. Elisabeth Emília Augusta Dantas Tölke da Universidade de São Paulo – USP e ao prof. Dr. Élder Antônio Sousa e Paiva da Universidade Federal de Minas Geral – UFMG por não medir esforços para sanar minhas dúvidas quando os procurei.

Ao setor de Biologia Vegetal do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual do Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, local ao qual forneceu toda infraestrutura e apoio financeiro por meio de projetos aprovados pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro FAPERJ, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Ao corpo docente da UENF, em especial ao prof. Dr. Renato DaMatta, prof. Dr. Fábio Olivares, prof. Dr. Sergio Seabra e a profa. Dra. Valdirene Moreira pela amizade e toda troca de saberes.

À Beatriz Ferreira Ribeiro técnica do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual – LBCT da UENF pelos saberes transmitidos e orientações e pela amizade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual não seria possível concluir meus estudos.

A todos os pesquisadores do Brasil, que mesmo diante do desmonte da ciência e das instituições públicas, se mantêm dedicados às suas pesquisas.

À Priscila Simioni por ter me incentivado a sair do meu emprego e fazer o doutorado na UERJ, pela amizade, troca de experiências, pelos conselhos e ajuda nesta reta final de escrita.

Aos meus alunos de iniciação científica Nicolly Bautz, Guilherme Zanetti Moscon, Lucas Lima dos Reis, Alexandra Rosa Martins e Tayssa Pinheiro pelo comprometimento, pelo zelo e por continuar trabalhando comigo.

À minha primeira aluna de iniciação científica, Nicolly Bautz por ser dedicada, assídua, por não medir esforços para aprender, transmitir, por ter me ajudado muito nos testes histoquímicos, pela amizade, conselhos compartilhados, angústias e alegrias, nunca irei esquecer-me de você princesa.

Ao Guilherme Zanetti Moscon por ter me ajudado na realização dos testes histoquímicos, pela amizade sincera, pelas confidências, angústias, alegrias e por ter me proporcionado muitos incríveis com sua família em Vila Velha e pela vivência que tivemos em Campos dos Goytacazes.

Aos meus amigos e colegas do LBCT Vanessa e seu esposo Tariq, Camilla, Renata, Fernanda Trindade, Fernanda Vidal, Saulo, Gabriel Amaral e sua esposa Gleice, Gabriel Oliveira, Dhiego e sua esposa Patrícia, Neilor, Leticia e seu esposo Everton, Marcela, Guilherme Moscon, Guilherme Rabelo, Nicolly, Ana Luiza, Gabriela, Lucas, Pamela, Lais, Kathlyn, Warlen, Rodrigo, João Victor, Glaziele, Alexandra, Tayssa e ao meu brother Tio Gil que compartilharam comigo seus conhecimentos tanto na pesquisa como na vida. Obrigado pela ajuda, pelos almoços no bandeirão, pelas conversas jogadas fora, conselhos, risos, brincadeiras, pela companhia e pelos desentendimentos que foram necessários para a formação profissional e pessoal de cada um.

Ao Marcelo Zortéa pelo auxílio na coleta do material botânico no enclave de Cerrado de Alta Floresta e pela amizade de anos.

Aos meus amigos que estão espalhados pelo Mato Grosso e pelo Brasil que sempre me incentivaram, em especial, a Sônia Ferrarezi Dassoller, Nilso Dassoller, Tiago Ferrarezi Dassoller, Juliene Giacomini Cruz, Jonas Cruz, Karin Paggi, Luis Paggi, Mariana Paggi, Francisca Irisdânia, Juliete Daguarda, Aline Lopes, Micaela Celanti e seu esposo Márcio, dentre tantos outros que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação.

Ao Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ por ceder de sua infraestrutura e dos seus técnicos em plena pandemia para fazer as imagens de microscopia eletrônica de varredura e de transmissão do segundo capítulo desta tese.

À FAPERJ pela concessão da bolsa de formação de pesquisador apoiado a pesquisa no estado do Rio de Janeiro

"Até aqui o Senhor nos ajudou". Em outras palavras, até aqui o Senhor tem me sustentado e continuará me sustentando.

(1 Samuel 7:12)

RESUMO

PESSOA, Marcos José Gomes. **Atributos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades**: uma abordagem funcional, ecológica e taxonômica em savanas amazônicas. 2022. 112 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Savanas amazônicas são fitofisionomias tropicais abertas, sujeitas a elevados índices de radiação solar, de precipitação, a solos arenosos com baixa disponibilidade de nutrientes e a um período prolongado de estiagem. Os atributos anatômicos de suas plantas têm sido estudados, no entanto, informações sobre o sistema secretor destas plantas são escassos. Neste sentido, foi realizada uma intensa investigação da ocorrência de possíveis estruturas secretoras em 76 espécies lenhosas, pertencentes a 29 famílias botânicas em duas savanas amazônicas no extremo norte do estado de Mato Grosso. Em seguida foram selecionadas duas famílias como objeto de estudo, sendo Calophyllaceae e Anacardiaceae. Calophyllaceae e Anacardiaceae são representantes importantes de diferentes fitofisionomias da Amazônia e do Cerrado. As duas famílias são conhecidas pela produção de substâncias bioativas. Em Calophyllaceae, essas substâncias podem ser produzidas em estruturas especializadas denominadas de ductos secretores e com menos frequência por cavidades, enquanto em Anacardiaceae podem ser produzidas principalmente por ductos. Este trabalho teve como objetivo caracterizar aspectos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais de ductos secretores e cavidades em folhas de quatro espécies de Calophyllaceae, *Kielmeyera rubriflora* Cambess, *Kielmeyera coriacea* Mart. e Zucc, *Calophyllum brasiliense* Cambess e *Caraipa densifolia* Mart. e de ductos secretores em três espécies de Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* L., *Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl., e *Tapirira obtusa* (Benth.) J. D. Mitch. em duas savanas amazônicas, a fim de analisar aspectos funcionais, ecológicos e taxonômicos. Amostras do material botânico foram processadas de acordo com técnicas usuais para anatomia e ultraestrutura vegetal. Os resultados mostram que o tipo de estrutura secretora, o padrão de distribuição, a quantidade, o tamanho e o formato do lúmen são distintos, podendo estes atributos serem usados como caracteres diagnósticos para delimitar as espécies. Na maioria das espécies, os metabólitos da secreção são semelhantes e consistem de substâncias fenólicas, lipídios, oleorresina, mucilagem, polissacarídeos, proteínas, alcaloides, exceto em *K. coriacea* que não contém oleorresina. A produção destes metabólitos pelas duas estruturas secretoras revela possíveis interações planta-micróbio, planta-inseto, planta-planta e planta animal. A saída dos produtos da atividade secretora para o espaço periplasmático é mediada pelo mecanismo écrino, granulócrino e holócrino. Associamos que as propriedades do solo, os elevados índices de radiação solar, temperatura, a proliferação de micro-organismos, herbívoros e o próprio histórico evolutivo das savanas são indicativos de filtros ambientais que mais contribuíram para que as espécies investissem em defesa física e química. Em Anacardiaceae, *A. occidentale* investiu mais na organização anatômica dos ductos. Este estudo fornece informações inéditas e úteis para compreender a anatomia, o funcionamento e o papel ecológico e taxonômico de ductos e cavidades em espécies de savanas amazônicas e representa o primeiro trabalho com estruturas secretoras em savanas amazônicas.

Palavras-chaves: Atividade secretora. Estruturas secretoras. Filtros ambientais. Interação planta-ambiente. Mecanismo de secreção. Metabólitos.

ABSTRACT

PESSOA, Marcos José Gomes. **Structural and histochemical attributes of secretory ducts and cavities**: a functional, ecological and taxonomic approach in Amazonian savannas. 2022. 112 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Amazonian savannas are open tropical phytophysiognomies, subject to high levels of solar radiation, precipitation, sandy soils with low availability of nutrients, and a prolonged period of drought. The anatomical attributes of its plants have been studied; however, information about the secretory system of these plants is scarce. In this sense, an intense investigation was carried out into the occurrence of possible secretory structures in 76 woody species belonging to 29 botanical families in two Amazonian savannas in the extreme north of the state of Mato Grosso. Then two families were selected as objects of study, being Calophyllaceae and Anacardiaceae. Calophyllaceae and Anacardiaceae are essential representatives of different phytophysiognomies of the Amazon and Cerrado. Both families are known for producing bioactive substances. In Calophyllaceae, these substances can be produced in specialized structures called secretory ducts and less frequently by cavities, while in Anacardiaceae, they can be produced mainly by ducts. This work aimed to characterize anatomical, histochemical, and ultrastructural aspects of secretory ducts and cavities in leaves of four species of Calophyllaceae, *Kielmeyera rubriflora* Cambess, *Kielmeyera coriacea* Mart. and Zucc, *Calophyllum brasiliense* Cambess and *Caraipa densifolia* Mart. and secretory ducts in three species of Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* L., *Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl., and *Tapirira obtusa* (Benth.) J. D. Mitch. in two Amazonian savannas, to analyze functional, ecological, and taxonomic aspects. Samples of the botanical material were processed according to usual techniques for plant anatomy and ultrastructure. The results show that the type of secretory structure, distribution pattern, quantity, size, and shape of the lumen are different. These attributes can be used as diagnostic characters to delimit the species. In most species, secretion metabolites are similar and consist of phenolic substances, lipids, oleoresin, mucilage, polysaccharides, proteins, alkaloids, except in *K. coriacea*, which does not contain oleoresin. The production of these metabolites by the two secretory structures reveals possible plant-microbe, plant-insect, plant-plant, and plant-animal interactions. The exit of secretory activity products to the periplasmic space is mediated by the eccrine, granulocrine, and holocrine mechanisms. We associate that the soil properties, the high levels of solar radiation, temperature, the proliferation of microorganisms, herbivores, and the evolutionary history of the savannas are indicative of environmental filters that contributed the most for the species to invest in physical and chemical defense. In Anacardiaceae, *A. occidentale* invested more in the anatomical organization of the ducts. This study provides new and helpful information to understand the anatomy, functioning, and ecological and taxonomic role of ducts and cavities in Amazonian savanna species and represents the first work with secretory structures in Amazonian savannas.

Keywords: Secretory activity. Secretory structures. Environmental filters. Plant-environment interaction. Secretion mechanism. Metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fitofisionomias do Cerrado brasileiro segundo a classificação de Ribeiro e Walter (2008).....	22
Figura 2 -	Aspecto geral das folhas adultas de <i>Kielmeyera rubriflora</i> , <i>Caraipa densifolia</i> , <i>Calophyllum brasiliense</i> e <i>Kielmeyera coriacea</i> em suas respectivas fitofisionomias de ocorrência.....	41
Figura 3 -	Secções paradérmicas (a-c) e transversais (d-r) de ductos e cavidades na nervura central e mesofilo de <i>Kielmeyera rubriflora</i> (a, b, d, g, q), <i>Kielmeyera coriacea</i> (h, j, m), <i>Calophyllum brasiliense</i> (i, k, l) e <i>Caraipa densifolia</i> (c, e, f, n, o, p, r).....	46
Figura 4 -	Secções transversais (a-i, k-o) e paradérmicas (j) do padrão de distribuição de ductos na nervura central e mesofilo de <i>Kielmeyera rubriflora</i> (a, e, f, g, m, n), <i>Calophyllum brasiliense</i> (b, h, j), <i>Caraipa densifolia</i> (c, i, o) e <i>Kielmeyera coriacea</i> (d, k, l)	49
Figura 5 -	Ultraestrutura (a, b, d-l) e microscopia eletrônica de varredura (c) de ductos na nervura central de <i>Calophyllum brasiliense</i> (a, b, d, e, k, l), <i>Kielmeyera coriacea</i> (c, f, h, i, j) e <i>Kielmeyera rubriflora</i> (g).....	52
Figura 6 -	Localização da savana amazônica de Alta Floresta – SAF e de Nova Canaã do Norte – SNC no extremo norte do estado de Mato Grosso....	63
Figura 7 -	Aspecto geral das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> , <i>Anacardium giganteum</i> e <i>Tapirira obtusa</i> em suas respectivas fitofisionomias de ocorrência.....	65
Figura 8 -	Secções transversais de ductos secretores na nervura central (a-f) e paradérmicas do mesofilo (g, h, j-l) e nervura central (i) de <i>Anacardium giganteum</i> (a, g-h, j), <i>Anacardium occidentale</i> (b, d-f, i) e <i>Tapirira obtusa</i> (c, k-l).....	70
Figura 9 -	Secções transversais do padrão de distribuição dos ductos na nervura central de <i>Anacardium giganteum</i> (a-c, k), <i>Anacardium occidentale</i> (d-f, j), <i>Tapirira obtusa</i> (g-i, l, m) e no mesofilo de <i>Tapirira obtusa</i> (n) e <i>Anacardium giganteum</i> (o).....	72

Figura 10 -	Aspecto físico e coloração da secreção dos ductos do floema (a-g), do parênquima central (h) em secções transversais da nervura central de <i>Anacardium occidentale</i> (a-e, g), <i>Anacardium giganteum</i> (f-h) e do mesofilo de <i>Tapirira obtusa</i> (i) não submetidas aos testes histoquímicos (branco).....	74
Figura 11 -	Caracterização histoquímica da secreção dos ductos do floema (a-b, d, g-h), do parênquima central (c, e, f) em secções transversais da nervura central de <i>Anacardium giganteum</i> (a, h), <i>Tapirira obtusa</i> (c, f-g), <i>Anacardium occidentale</i> (b, e) e do mesofilo de <i>Tapirira obtusa</i> (i).....	76
Figura 12 -	Secções transversais de ductos do floema da nervura central de <i>Anacardium giganteum</i> (a, c, d, i, f, g), <i>Anacardium occidentale</i> (e, h) e <i>Tapirira obtusa</i> (b).....	78
Figura 13 -	Morfologia da secreção acumulada no lúmen dos ductos do floema (a-e, i), do parênquima central (f) da nervura central de <i>Anacardium giganteum</i> (a-b, f), <i>Anacardium occidentale</i> (c, e), <i>Tapirira obtusa</i> (d, i) e do mesofilo de <i>Anacardium occidentale</i> (g) e <i>Tapirira obtusa</i> (h) em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	80
Figura 14 -	Microscopia Eletrônica de Transmissão dos ductos da nervura central (a-e, g-l) de <i>Anacardium giganteum</i> (a, k), <i>Anacardium occidentale</i> (b-d, l), <i>Tapirira obtusa</i> (e, g, h-j) e do mesofilo de <i>Tapirira obtusa</i> (f).....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela - 1	Reagentes utilizados para identificar as principais classes de metabólitos presentes na secreção dos ductos e cavidades das quatro espécies de Calophyllaceae.....	43
Tabela - 2	Resultados dos testes histoquímicos realizados em ductos secretores e cavidades em folhas de quatro espécies de Calophyllaceae.....	47
Tabela - 3	Distribuição dos ductos e cavidades em folhas de quatro espécies de Calophyllaceae.....	50
Tabela - 4	Reagentes utilizados para identificar as principais classes de metabólitos presentes na secreção dos ductos secretores das três espécies de Anacardiaceae.....	67

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

C ₅	cinco carbonos
-OH	hidroxila
APG	Angiosperm Phylogeny Group
am	clima tropical úmido
°C	Grau Celsius
mm	milímetro
m	metro
MT	Mato Grosso
HERBAM	Herbário da Amazônia Meridional
UNEMAT	Universidade do Estado de Mato Grosso
CNC FLORA	Centro Nacional de Conservação da Flora
µm	micrómetro
M	molar
CO ₂	Dióxido de Carbono
nm	nanómetro
kV	quilovolt
DT	ducto
CV	cavidade
km	quilómetro
SAF	savana amazônica de Alta Floresta
SNC	savana amazônica de Nova Canaã do Norte

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL.....	17
1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
1.1	Savanas amazônicas.....	21
1.2	Estrutura, desenvolvimento e mecanismos de secreção de ductos e cavidades.....	24
1.3	Substâncias comumente produzidas por ductos e cavidades.....	26
1.4	Calophyllaceae J. Agardh: um representante importante do Cerrado brasileiro.....	29
1.5	Anacardiaceae R. Br: uma família rica em substâncias bioativas.....	31
2	OBJETIVOS.....	35
2.1	Objetivo geral.....	35
2.2	Objetivos específicos.....	35
3	ATRIBUTOS ESTRUTURAIS E HISTOQUÍMICOS DE DUCTOS SECRETORES E CAVIDADES EM FOLHAS DE QUATRO ESPÉCIES DE CALOPHYLLACEAE J. AGARDH EM SAVANAS AMAZÔNICAS.....	36
3.1	Material e métodos.....	38
3.2	Resultados.....	45
3.3	Discussão.....	53
3.4	Conclusão.....	59
4.	DUCTOS SECRETORES EM FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES DE ANACARDIACEAE R. BR E AS INTERAÇÕES PLANTA-AMBIENTE EM SAVANAS AMAZÔNICAS.....	60
4.1	Material e métodos.....	61
4.2	Resultados.....	69
4.3	Discussão.....	83
4.4	Conclusões.....	89

CONSIDERAÇÕES FINAIS	91
REFERÊNCIAS	94
ANEXO – Lista das estruturas secretoras que podem ser detectadas nas espécies da savana de Alta Floresta e Nova Canaã do Norte - MT	111

INTRODUÇÃO GERAL

Os enclaves de Cerrado na Amazônia são conhecidos como savanas amazônicas (DEVECCHI et al., 2020), ocupando uma área de 112.961 km² e correspondendo 42,3% da Amazônia (CARVALHO; MUSTIN, 2017). Esses ecossistemas são fitofisionomias abertas, com um estrato herbáceo sempre presente e estratos arbustivos e/ou arbóreos mais ou menos desenvolvidos (MAGNUSSON et al., 2008). Suas plantas estão sujeitas a altos índices de radiação solar, fortes incêndios, forte restrição hídrica em um determinado período e a uma estação mais úmida, típica da Amazônia (FERREIRA et al., 2015; FLORES; HOLMGREN, 2021). Os solos são predominantemente arenosos, muito lixiviados, com baixa retenção de nutrientes e ácidos devido ao alto teor de alumínio (RATTER et al., 2003; PESSOA et al., 2021).

Em relação a florística desta área, a riqueza e a diversidade de plantas são menores quando comparadas com as fitofisionomias savânicas do Planalto Central do Brasil (Cerrado) e de outras regiões da América do Sul (RATTER et al., 2003; DEVECCHI et al., 2020; PESSOA et al., 2021). Flutuações climáticas e geomorfológicas ocorridas no Pleistoceno e Holoceno (AB' SABER, 2003), propriedades do solo (PESSOA et al., 2021), distância geográfica (MARACAHIPES-SANTOS et al., 2017), influências florísticas de florestas adjacentes (RATTER et al., 2003), ocorrência de fogo (FLORES; HOLMGREN, 2021), ações antrópicas (CARVALHO; MUSTIN, 2017) e o aumento frequente de eventos de seca (BRANDO et al., 2014) são fatores que determinam a composição, distribuição e a diversidade de espécies das savanas amazônicas.

Apesar da peculiaridade, da dimensão das áreas, e da existência de inúmeros trabalhos publicados que servem de referência para explicar a composição, a riqueza e a diversidade florística das savanas amazônicas (RATTER et al., 2003; MAGNUSSON et al., 2008; ROCHA et al., 2019; DEVECCHI et al., 2020), são poucos os estudos que explicam como plantas de fitofisionomias tão remotas respondem anatomicamente a essa variedade de ambientes e microambientes (ARIANO et al., 2022). Neste sentido, o estudo das características morfológicas, anatômicas e fisiológicas pode definir um conjunto de parâmetros úteis para entender estratégias de sobrevivência das plantas em diversos ambientes (PESSOA et al., 2019; PIREDA et al., 2019; 2020).

Dentre essas estratégias, a defesa química das plantas mediada pela presença de metabólitos em estruturas secretoras, como ductos e cavidades, se destaca como atributo eficaz para esses estudos (PRADO; DEMARCO, 2018). Estas estruturas são constituídas por um lúmen, delimitadas por uma ou mais camadas de células secretoras, denominadas de epitélio secretor, que sintetizam e acumulam secreção (FAHN, 1979). As substâncias que compõem a secreção produzida pelo epitélio podem desempenhar diferentes funções nas plantas, entre elas, a proteção de estruturas e órgãos jovens e adultos, proteção contra o ataque de herbívoros, patógenos, lesões físicas, excesso de radiação solar, dessecação e déficit hídrico (CASTRO; DEMARCO, 2008; MACHADO et al., 2016; GALLOWAY et al., 2020). Algumas substâncias podem ainda atrair polinizadores, participar do processo de polinização e permitir a colonização e o estabelecimento das plantas em diversas fitofisionomias tropicais. Em alguns casos, estas substâncias podem ser tóxicas (FAHN, 1988; LANGENHEIM, 2003).

Estudos têm mostrado que a secreção produzida pelos ductos e cavidades apresenta uma grande variedade de atividades biológicas e farmacológicas que lhes conferem um status importante no que se refere à procura de substâncias bioativas (VASCONCELOS et al., 2016; SILVA et al., 2017; VARELA-RODRÍGUEZ et al., 2019). Muitas aplicações têm sido relatadas, incluindo atividades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e a industrialização de medicamentos fitoterápicos e de fragrâncias por meio da extração de óleos essenciais a partir de diferentes partes da planta (GOODGER et al., 2010; BUDEL et al., 2012; IRSHAD et al., 2019).

Ductos e cavidades variam quanto à morfologia, função, posição e tipo de substâncias que sintetizam e acumulam (CASTRO et al., 1997; BOMBO et al., 2012; PALERMO et al., 2017; PRADO; DEMARCO, 2018). Essas estruturas podem ter origens distintas, sendo necessário o estudo da ontogênese da espécie (RODRIGUES et al., 2011a, b; FRANCO; ALBIERO, 2018; BEZERRA et al., 2018). Os produtos da atividade secretora saem do protoplasto e são acumulados no lúmen por meio de transportadores, fusão de vesículas, desintegração da célula ou pela ação mecânica de ciclos sucessivos de contração e expansão do protoplasto (FAHN, 1979; PAIVA, 2016).

Contudo, apesar dos avanços obtidos em estudos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais de ductos e cavidades (BARTOLI et al., 2011; RODRIGUES; MACHADO, 2012; FRANCO; ALBIERO, 2018; FERNANDES et al., 2018; LUNA et al., 2018), ainda existem várias lacunas que necessitam ser compreendidas,

principalmente, nas savanas amazônicas. Estas áreas são pouco exploradas, de difícil acesso e importantes para a conservação uma vez que garantem serviços ecossistêmicos importantes, como a conservação de recursos hídricos, a disponibilidade de polinizadores, o provimento de recursos farmacêuticos e genéticos (BONINI; PESSOA; SEABRA-JÚNIOR, 2013; CARVALHO; MUSTIN, 2017). Atualmente, sua área de ocorrência está em franco declínio devido a substituição da vegetação original em sistemas agrícolas, revelando a urgência em se conhecer melhor sua vegetação.

Levando em consideração que os ductos e as cavidades ocorrem em diferentes táxons de forma independente; que muitas divergências evolutivas deram origem a diferentes mecanismos de síntese e liberação de várias substâncias; que a secreção é um processo que envolve mudanças importantes em nível subcelular; que o estudo detalhado das células secretoras permite avaliar tanto a dinâmica do processo secretor, como fazer correlações entre a estrutura e o funcionamento de determinadas organelas envolvidas na secreção; o papel ecológico dos ductos e das cavidades com o ambiente circundante, a necessidade de identificar atributos de valor diagnóstico nestas estruturas; a falta de estudos que relacionam aspectos anatômicos e histoquímicos com as células secretoras e o fato das savanas amazônicas serem pouco exploradas cientificamente, este estudo investiga pela primeira vez aspectos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais de ductos e cavidades em folhas adultas de quatro espécies de Calophyllaceae, *Kielmeyera rubriflora* Cambess, *Kielmeyera coriacea* Mart. e Zucc, *Calophyllum brasiliense* Cambess e *Caraipa densifolia* Mart., e de ductos secretores em três espécies de Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* L., *Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl., e *Tapirira obtusa* (Benth.) J. D. Mitch. em duas savanas amazônicas, a fim de responder os seguintes questionamentos: (i) Entre os ductos e as cavidades das espécies de Calophyllaceae, existem diferenças estruturais?; E entre os ductos das espécies de Anacardiaceae?; (ii) Entre as espécies de Calophyllaceae e Anacardiaceae, os metabólitos da secreção dos ductos e das cavidades são semelhantes ou distintos?; (iii) O padrão de distribuição dessas estruturas é semelhante?; (iv) Os ductos e as cavidades possuem atributos estruturais de valor diagnóstico para as espécies estudadas?; (v) Como a secreção é sintetizada e liberada do protoplasto das células secretoras?; (vi) Considerando a função dos metabólitos, é possível identificar quais filtros ambientais mais contribuíram para que as espécies investissem em defesa física e química? Nossa hipótese é que existem diferenças estruturais e histoquímicas entre espécies; que existem atributos anatômicos de valor diagnóstico para as espécies; que os principais ajustes

anatômicos são moldados por respostas específicas de cada espécie; e que é possível determinar quais filtros ambientais mais contribuíram para que as espécies investissem em defesa física e química. Para isso, os resultados serão apresentados em dois capítulos:

Capítulo 1 – Atributos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades em folhas de quatro espécies de Calophyllaceae J. Agardh em savanas amazônicas (Publicado *Plant Biology*, v. 23, n. 6, p.1128-1140, 2021. doi: 10.1111/plb.13321)

Capítulo 2 – Ductos secretores em folhas de três espécies de Anacardiaceae e as interações planta-ambiente em savanas amazônicas (será submetido à revista *PLANTS*)

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Savanas amazônicas

Manchas ou enclaves de Cerrado inseridos em florestas tropicais úmidas da Amazônia são regionalmente conhecidos como “savanas amazônicas” (DEVECCHI et al., 2020). Na América do Sul, as savanas amazônicas ocupam uma área total de 267.164 km² (CARVALHO; MUSTIN, 2017). Desta área, quase 90% da área total ocorre na Bolívia (~127,096 km²) e Brasil (112,961 km²), com áreas menores na Venezuela (13,085 km²), Guiana (13,447 km²) e Suriname (575 km²) (CARVALHO; MUSTIN, 2017). No Brasil, as savanas amazônicas ocorrem em áreas descontínuas nos estados do Amapá, Amazonas, Pará, Roraima, Rondônia e no extremo norte do estado de Mato Grosso (SANAIOTTI, 2002; RATTER et al., 2003; MIRANDA et al., 2006; ROCHA et al., 2019; PESSOA et al., 2021).

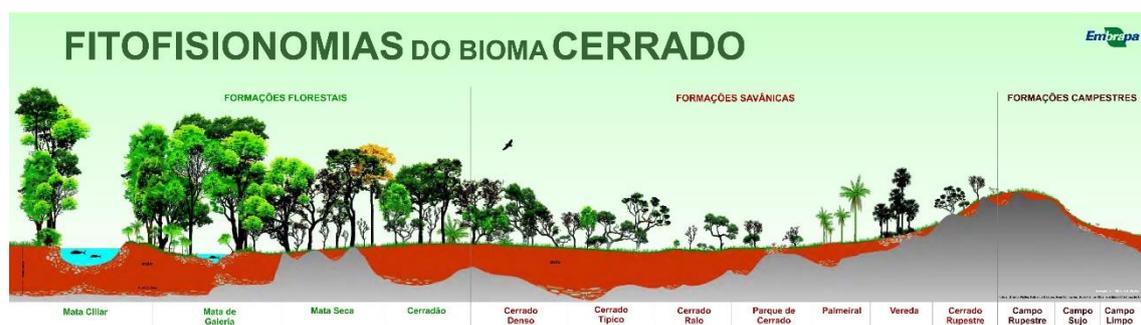
Historicamente, estas áreas são marcadas por condições climáticas que no passado constituíam regiões mais secas e favoráveis à vegetação de Cerrado (CARDOSO DA SILVA; BATES, 2002; AB' SABER, 2003) e estão sujeitas a ciclos mais intensos de escassez hídrica (MARIMON et al., 2020; SULLIVAN et al., 2020). Sendo assim, as fitofisionomias florestais e savânicas destas áreas apresentam-se mais adequadas para investigar muitas interações ecológicas entre plantas e o ambiente, em particular, estudos que associem aspectos estruturais e histoquímicos de ductos secretores e cavidades e as interações planta-ambiente.

As savanas são formações vegetais abertas com um estrato herbáceo sempre presente, estratos arbustivos e, ou arbóreos mais ou menos desenvolvidos, sujeitos a altos índices de radiação solar, a sazonalidade local e a fortes incêndios (MAGNUSSON et al., 2008; FERRERIA et al., 2015; FLORES; HOLMGREN, 2021). Na Amazônia brasileira, dependendo do estado, estes enclaves de savanas são localmente denominados “campos do Rio Branco” ou “lavrado” em Roraima (BARBOSA et al., 2007). No Pará “savana arenosa” (AUBRÉVILLE, 1961), “savana amazônica” (BEARD, 1953, EITEN, 1977, 1978), “floresta seca semidecídua” (AUBRÉVILLE, 1961), “campos” (HUECK, 1972) e “cerrados amazônicos” (CARNEIRO FILHO, 1993) e no extremo norte do estado de Mato Grosso “savana amazônica rochosa” (PESSOA et al., 2021). Outros termos como,

“cerrado típico, “cerrado rupestre”, “campo sujo” e “cerradão” têm sido utilizados para denominar diferentes fitofisionomias savânicas em um enclave de Cerrado no extremo norte do estado de Mato Grosso (ZORTÉA, 2018; ZORTÉA et al., 2020). No entanto, foi relatado que esses termos pertencem as fitofisionomias do Cerrado (RIBEIRO; WALTER, 2008) e não devem ser usados como sinônimos. Ao serem usados, indiscriminadamente ou sem critério deixam a entender que as savanas amazônicas pertencem ao domínio do Cerrado (RATTER et al., 2003; DEVECCHI et al., 2020; PESSOA et al., 2021).

O Cerrado é o segundo maior domínio fitogeográfico da América do Sul, após a Amazônia, e um dos “hotspots” mundiais de biodiversidade devido à sua riqueza, ao elevado nível de endemismo e à eminente ameaça (STRASSBURG et al., 2017). A terminologia Cerrado tem uma conotação regional do Brasil, enquanto o termo savana, é mais genérico e amplamente aplicado a diversos tipos de vegetação savânica no mundo (BATALHA, 2011). O Cerrado apresenta formações florestais, savânicas e campestres (RIBEIRO; WALTER, 2008) (Fig. 1). Nas formações florestais predominam espécies arbóreas de grande porte, cujas copas formam um dossel contínuo e cujos principais padrões de crescimento estão associados às estações úmidas e secas alternantes (RIBEIRO; WALTER, 2008).

Figura 1 - Fitofisionomias do Cerrado brasileiro segundo a classificação de Ribeiro e Walter (2008).



O Cerrado apresenta distribuição contínua nos estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal (RIBEIRO; WALTER, 2008). Na Amazônia, ocorre na forma de enclaves vegetacionais sob substratos distintos, como latossolos, gleissolos, plintossolos e neossolos fluviais, quartzíticos e litólicos, e são geralmente pobres em

nutrientes, ácidos e distróficos (MAGNUSSON et al., 2008; ZAPPI et al., 2011; ROCHA et al., 2019; PESSOA et al., 2021). A origem e a manutenção destes enclaves têm distintas explicações, como: adaptação ao fogo, influência humana, oligotrofismo, deficiência hídrica, propriedades do solo, influência florística de florestas adjacentes da Amazônia, distância geográfica e alterações climáticas e geomorfológicas ocasionadas no período Pleistoceno e Holoceno (AB' SABER, 2003; RATTER et al., 2003; BRANDO et al., 2014; MARACAHIPES-SANTOS et al., 2017). Geralmente, apresentam diferenças quanto à estrutura e a composição florística do componente lenhoso, quando comparadas às formações savânicas do Planalto Central do Brasil e de outras regiões, em termos de composição de espécies, em propriedades do solo e diversidade (RATTER et al., 2003; PESSOA et al., 2021).

Alguns autores ressaltam que apesar da composição florística dos enclaves de Cerrado da Amazônia ser similar às áreas de Cerrado, sentido restrito do Brasil, estas áreas não podem ser incluídas como parte do Cerrado brasileiro, devido à forte afinidade florística e ecológica com florestas adjacentes da Amazônia (RATTER et al., 2003; PESSOA et al., 2021). Se estas áreas fossem incluídas como parte do Cerrado, conseqüentemente, todas as savanas das Guianas, dos Llanos da Venezuela e da Colômbia e quase todos os campos e savanas naturais de baixa altitude no norte da América do Sul, na América Central, Sul do México e nas Índias Ocidentais também deveriam ser incluídas, pois estas áreas também compartilham espécies características do domínio Cerrado (MIRANDA; ABSY, 2000; VIEIRA et al., 2002; BARBOSA et al., 2005; PINHEIRO, 2010).

Grande parte dos estudos realizados com savanas amazônicas é de cunho florístico e fitossociológico (CARNEIRO-FILHO, 1993; MIRANDA; ABSY, 2000; RATTER et al., 2003; BARBOSA; FEARNSSIDE, 2005; BARBOSA et al., 2005; 2007; MIRANDA et al., 2006; MAGNUSSON et al., 2008; DEVECCHI et al., 2020; ROCHA; NETO, 2019; PESSOA et al., 2021) e mais recentemente aumentam os de cunho anatômico (FERREIRA et al., 2015; ARIANO; SILVA, 2016; SIMIONI et al., 2017; 2018; 2020; ARIANO et al., 2022). Destes, um descreve a lâmina foliar de onze espécies dominantes, com ênfase na identificação de atributos adaptativos (FERREIRA et al., 2015), quatro investigam estratégias adaptativas da lâmina foliar de diversas espécies lenhosas (ARIANO; SILVA, 2016; SIMIONI et al., 2017; 2018; ARIANO et al., 2022) e um investiga ajustes na arquitetura hidráulica do lenho de espécies dominantes (SIMIONI et al., 2020). Neste sentido, estudos com esta abordagem oferecem a oportunidade de entender como as

plantas respondem ao clima local, representando em cenários futuros, uma ferramenta poderosa para entender estratégias estruturais, ecofuncionais e de proteção que garantem a sobrevivência das plantas em diversos ambientes, em especial, estratégias mediadas pela presença de ductos secretores e cavidades.

1.2 Estrutura, desenvolvimento e mecanismos de secreção de ductos e cavidades

Ductos e cavidades são estruturas secretoras internas que consistem em um lúmen delimitado por células secretoras especializadas, denominadas de epitélio, que sintetizam e acumulam secreção (FAHN, 1979). Geralmente, o epitélio secretor é constituído por uma ou mais camadas de células (RODRIGUES et al., 2011a; BEZERRA et al., 2018; FERNANDES et al., 2018; COSTA et al., 2020; RIBEIRO; SILVA, 2021). No entanto, esta configuração não é padrão e dependendo da espécie e da localização do ducto e da cavidade, o epitélio secretor pode conter uma ou mais camadas de células secretoras (SOUZA et al., 2015; MACHADO et al., 2017; BEZERRA et al., 2018; FRANCO; ALBIERO, 2018). Essas células são circundadas por uma bainha parenquimática que pode ser unisseriada ou multisseriada (RODRIGUES et al., 2011a; b; RODRIGUES; MACHADO, 2012; PALERMO et al., 2018).

Em secções paradérmicas, os ductos secretores apresentam lúmen alongado, enquanto cavidades têm lúmen curto (FERNANDES et al., 2018). Essas estruturas podem se desenvolver a partir da protoderme, meristema fundamental, procâmbio e/ou câmbio (PAIVA; MACHADO, 2007; SÁ-HAIAD et al., 2015; FRANCO; ALBIERO, 2018; PALERMO et al., 2018; LUNA et al., 2019; COSTA et al., 2020; COSTA et al., 2021; RIBEIRO; SILVA, 2021; TÖLKE et al., 2021). Estão amplamente distribuídas em órgãos vegetativos e reprodutivos de diversas famílias de plantas vasculares e são responsáveis pela produção de diversas substâncias que conferem proteção às plantas. Entre essas substâncias estão os carboidratos, os óleos essenciais, os lipídios, as substâncias fenólicas, os alcaloides e proteínas (CICARRELLI et al., 2001; LANGENHEIM, 2003; SOUZA et al., 2015; ALENCAR et al., 2020; HARATYM et al., 2020).

Três padrões de desenvolvimento de espaços intercelulares de ductos e cavidades são reconhecidos: esquizógeno, lisígeno e esquizolisígeno (CICARRELLI et al., 2001;

PAIVA; MACHADO, 2007; BEZERRA et al., 2018; RIBEIRO; SILVA, 2021). Ductos e cavidades esquizógenos são formados pela separação de células, resultando em um lúmen delimitado por células secretoras que constituem o epitélio (BEZERRA et al., 2018; LUNA et al., 2019; SILVA et al., 2019; COSTA et al., 2021). No desenvolvimento lisígeno, ductos e cavidades são originados pela dissolução de células (autólise), enquanto no desenvolvimento esquizolisígeno são inicialmente originados de forma esquizógena, mas em estágios mais tardios ocorre o processo lisígeno, desintegrando células e ampliando o lúmen (MACHADO; CARMELLO-GUERRERIO, 2001; LACCHIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; PAIVA; MACHADO, 2007; KROMER et al., 2016; FRANCO; ALBIERO, 2018).

Apesar de existir uma predisposição genética para o desenvolvimento de ductos e cavidades em diferentes partes das plantas (METCALFE; CHALK, 1950), essas estruturas também podem surgir no corpo da planta sob influência de fatores bióticos e abióticos (LANGENHEIM, 2003). Como exemplo é relatado na literatura às lesões físicas, o ataque de insetos ou micro-organismos, a intensidade luminosa, a disponibilidade hídrica e propriedades do solo. Esses fatores podem afetar o tamanho da estrutura secretora, a quantidade, o padrão de distribuição e os metabólitos que compõem a secreção (FAHN, 1979; PHILLIPS; CROTEAU, 1999; LANGENHEIM, 2003; MUMM; HILKER 2006; MEDRI et al., 2007; MOREIRA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2014; COSTA et al., 2020).

Estudos que descrevem o mecanismo de síntese da secreção de ductos e cavidades, bem como o conjunto de células e de organelas envolvidas nesse processo são escassos. A maioria destes estudos relata aos estágios iniciais do desenvolvimento (PAIVA; MACHADO, 2007; BARTOLI et al., 2011; RODRIGUES et al., 2011a, b; MILANI et al., 2012; FERNANDES et al., 2017; FRANCO; ALBIERO, 2018; LEITE et al., 2019; HARATYM et al., 2020) e poucos investigam como é a ultraestrutura das células secretoras no estágio secretor e pós-secretor (PENG et al., 2012; TURNER; LANGE, 2015). Os autores relatam que nos estágios iniciais as células secretoras apresentam protoplasto denso, rico em mitocôndrias, plastídios, retículo endoplasmático liso e rugoso, dictiossomas e ribossomos (MILANI et al., 2012; FERNANDES et al., 2017; FRANCO; ALBIERO, 2018; LEITE et al., 2019; HARATYM et al., 2020), enquanto no estágio pós-secretor é comum observar células secretoras com poucas organelas (PENG et al., 2012; TURNER; LANGE, 2015).

Outro aspecto relevante e pouco investigado é como os produtos da atividade secretora atravessam a parede celular e ficam acumulados no lúmen. Normalmente, estes podem ser transportados via (i) secreção transplasmática, molécula por molécula (écrina); (ii) exocitose vesicular (granulócrina); ou (iii) ambos os mecanismos (secreção merócrina) (FAHN, 1988; KROMER et al., 2016). Ocasionalmente, esta secreção pode prosseguir por (iv) lise das células epiteliais com liberação direta da secreção no lúmen (holócrina), como mostrado por Nair (1995). No entanto, é importante ressaltar que nenhum destes processos explica a passagem dos produtos da atividade secretora pela parede celular, limitando-se em explicar apenas a saída do protoplasto para o espaço periplasmático da célula secretora (PAIVA, 2016). Neste sentido, muitas formas da passagem da secreção para o lúmen podem ser observadas, inclusive, mediadas por ações cíclicas do protoplasto das células secretoras (PAIVA, 2016). Ademais, o estudo comparativo em diferentes estruturas secretoras, como de síntese, transporte e externalização de moléculas poderão revelar particularidades de cada estrutura secretora em diferentes táxons.

1.3 Substâncias comumente produzidas por ductos secretores e cavidades

Embora as substâncias produzidas pelos ductos e cavidades tenham composição variável entre as espécies, estas estruturas são comumente conhecidas pela produção de óleos essenciais, oleorresinas, substâncias fenólicas, mucilagens, alcaloides e proteínas (FANH, 1979; LANGENHEIM, 2003; PRADO; DEMARCO, 2018). Os óleos essenciais e oleorresinas são produtos vegetais que pertencem a maior classe de metabólitos secundários, os terpenos. Os terpenos são formados por unidades de isoprenos (C5) e podem ser classificados com base no número de carbonos presentes na molécula, incluindo monoterpenos (C10 - 2 moléculas de isopreno), sesquiterpenos (C15 - 3 moléculas de isopreno), diterpenos (C20 - 4 moléculas de isopreno), sesterterpenos (C25), triterpenos (C30 - 6 moléculas de isopreno) e terpenos superiores (> C30) (TAIZ et al., 2017).

Os óleos essenciais são usualmente constituídos de monoterpenos, sesquiterpenos e/ou lignoides como alil- e propenilfenóis e cumarinas, enquanto a oleorresina é

constituída principalmente de sesquiterpenos e diterpenos (GOTTLIEB; SALATINO, 1987; GREGÓRIO; BASS, 1989; MAIA et al., 2015). Os óleos essenciais são substâncias aromáticas com baixo peso molecular, voláteis, lipofílicas, geralmente líquidas, solúveis em álcool, éter e em outros compostos graxos, podendo ser incolores ou apresentar tons claros, fortes e opacos. O oleorresina consiste de substâncias aromáticas voláteis, não voláteis, menos viscosas, resinosa e dependendo das condições sazonais e ambientais podem apresentar-se incolor, amarelo claro, amarelo médio, amarelo dourado e acastanhado (SAITO; SCRAMIN, 2000; RIGAMONTE-AZEVEDO et al., 2004; MORAIS et al., 2009).

A biossíntese de substâncias terpênicas provavelmente surgiu nas algas. Ao longo do processo evolutivo das plantas a diversidade de terpenoides tornou-se uma das características fitoquímicas mais marcantes das hepáticas, enquanto nas pteridófitas, os terpenoides permaneceram restritos a certos grupos, sendo as samambaias portadoras de alguns monoterpenos e sesquiterpenos. Nas gimnospermas, as primeiras evidências da ocorrência de terpenos surgem por meio de análises espectrométricas do âmbar presente em sedimentos do carbonífero. Estas evidências indicam que as oleorresinas foram sintetizadas pelas gimnospermas, antes mesmo do surgimento das coníferas e a presença dos óleos lignoídicos com a função de afastar herbívoros e inibir a germinação de competidores vegetais. No entanto, o êxito evolutivo das angiospermas se prende à interação mutualística com insetos. Neste caso, não basta mais repeli-los, como nas gimnospermas, é preciso também os atrair. Esta condição impôs uma grande diversificação estrutural às substâncias de comunicação com o ambiente, entre elas a marcante biossíntese de óleos essenciais e oleorresinas. Ao longo da evolução, independente de sua composição química, os óleos terpênicos evoluíram de células oleíferas, cavidades, ductos secretores a tricomas glandulares (GOTTLIEB; SALATINO, 1987; LANGE, 2015).

Os óleos essenciais e seus constituintes estão envolvidos em todos os aspectos de interação planta-micróbio, planta-planta e planta- animal. Planta-micróbio: infestada por microrganismo, ou seja, induzida pelo estímulo de um influxo de um arsenal químico estranho, a planta produz substâncias tóxicas, fitoalexinas, na tentativa de conter o patógeno. Planta-planta: constituintes vegetais podem exercer efeitos alelopáticos. Planta inseto: a ação inseticida ou antifúngica de monoterpenos. Além disso, promove outras interações, como por exemplo, a atração de polinizadores, atração de formigas e outros insetos. Um caso importante refere-se à interação conífera (espécies de *pinus*,

Pseudotsuga) e o besouro da casca (Curculionidae: Scolytinae) que envolve a secreção de oleorresina, uma mistura complexa de monoterpenos, sesquiterpenos e ácidos diterpenoides que para deter os besouros e outros patógenos. Planta-mamífero: os monoterpenos também oferecem proteção contra animais de grande porte. Por exemplo, um abeto (*Pseudotsuga membiessi*) produz quantidade grandes de monoterpenos ao ser ingerido por um cervo (*Odocoileus hemionus*) os terpenos voláteis inibem a atividade bacteriana no rúmen do animal resultando na redução do consumo alimentar (GOTTLIEB; SALATINO, 1987; PHILLIPS; CROTEAU, 1999; MIRANDA et al., 2015; GONÇALVES-SOUZA et al., 2018; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ et al., 2020).

O efeito dos óleos essenciais nas plantas está relacionado com sua volatilidade que atuam como sinalizadores químicos com o reino Plantae e como arma de defesa contra o reino animal. Lesões físicas abertas por insetos ou outros fatores em folhas possibilitam a liberação de substâncias voláteis que penetram as folhas via ceras cuticulares que estimula a intensificação da síntese de substâncias defensivas como fenóis e taninos. Como consequência, diminui gradativamente a intensidade do ataque das folhas do próprio espécime emissor do estímulo, quanto de outros espécimes. Os produtos vegetais volatilizados podem ainda penetrar em insetos e desencadear desequilíbrios hormonais (GOTTLIEB; SALATINO, 1987; KNAAK; FIUZA, 2010).

As substâncias fenólicas é outro constituinte comumente encontrado na secreção dos ductos e cavidades (CASTRO; DEMARCO, 2008; PRADO; DEMARCO, 2018). Essas substâncias recebem este nome, por apresentar em sua estrutura uma ou mais hidroxilas (-OH), em um ou mais benzenos aromáticos. Estas substâncias compõem um grupo heterogêneo, alguns são hidrofílicos, lipofílicos e outros polímeros insolúveis que podem ser classificados de acordo com o arranjo do esqueleto do carbono (GREGÓRIO; BASS, 1989; TAIZ et al., 2017). Devido à sua diversidade estrutural, essas substâncias podem ser classificadas em diversas classes, entre elas, fenóis, ácidos hidroxibenzoicos, naftoquinonas, xantonas, flavonóides, biflavonóides e taninos (TAIZ et al., 2017).

Nas plantas, suas classes exercem diferentes funções, por exemplo, os fenóis fornecem defesa química contra patógenos, e possuem atividade antimicrobiana, enquanto os taninos são impalatáveis diminuindo a taxa de herbivoria. Vários animais evitam comer órgãos vegetais em desenvolvimento devido aos altos níveis de tanino. Suas propriedades de defesa estão relacionadas com a sua capacidade de se ligar a proteínas. Os taninos também podem desativar enzimas digestivas dos herbívoros e formar agregados complexos de taninos e proteínas que são difíceis de serem digeridos

(CASTRO; DEMARCO, 2008; TAIZ et al., 2017). Os flavonoides são substâncias que se acumulam em vacúolos e protege os órgãos das plantas contra a radiação solar. Como funções adicionais, são consideradas antioxidantes e alelopáticos (fitoalexinas) protegendo as plantas de patógenos. Em órgãos reprodutivos atuam como guias ajudando insetos a localizar pólen, néctar e óleos e podem atuar como fatores indutores de pólen, germinação e alongamento do tubo polínico (HOSHITAMA, 2000; CASTRO; DEMARCO, 2008).

A mucilagem é uma solução coloidal que em contato com a água torna-se viscosa e é constituída principalmente de polissacarídeos ácidos e/ou neutros e proteínas. Desempenha um papel importante de proteção de estruturas ou de órgãos jovens e adultos, retenção de água, reserva de carboidratos, redução da transpiração, proteção contra radiação dispersando ou refletindo a luz incidente, proteção contra dessecação e herbivoria, lubrificante do ápice das raízes, captura de insetos em plantas insetívoras, como adesivo na dispersão de sementes e na regulação da germinação de sementes (SAWIDIS, 1998; ROCHA et al., 2011; GALLOWAY et al., 2020).

Os alcaloides são definidos como pequenas moléculas que possuem um anel heterocíclico que protege as plantas do ataque de herbívoros e com propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e alelopáticas (GREGÓRIO; BASS, 1989; THEN et al., 2003). Dentre as substâncias relacionadas à defesa química das plantas, as proteínas de defesas exercem respostas importantes contra a infecção de fungos, bactérias, vírus e de outros microrganismos (PASCHOLATI; LEITE, 1995; STANGARLIN et al., 2011).

1.4 Calophyllaceae J. Agardh: um representante importante do Cerrado brasileiro

Calophyllaceae é composta por 14 gêneros e cerca de 460 espécies, distribuídas em duas tribos: Calophylleae, com distribuição pantropical, e Endodesmieae, restrita à África (STEVENS, 2001; RUHFEL et al., 2011). Ao longo do tempo foi incluída em Clusiaceae como subfamília de Kielmeyeroideae, porém, atualmente é uma família independente (APG IV, 2016). Amplamente distribuída no Cerrado brasileiro, a família é representada por sete gêneros e 96 espécies, das quais 64 são endêmicas e estão

distribuídas em fitofisionomias da Amazônia, Caatinga, Cerrado e da Mata Atlântica (CABRAL et al., 2020). Além disso, suas espécies têm sido objeto de estudos em diferentes áreas do conhecimento, incluindo a prospecção de produtos químicos, farmacêuticos (MELO et al., 2014) e investigações anatômicas, ecológicas e taxonômicas (CADDAH et al., 2012; DÍAZ, 2013).

Calophyllaceae pertence ao clado Clusióide, juntamente com Bonnetiaceae, Clusiaceae, Hypericaceae e Podostemaceae (STEVENS, 2001). A família é constituída de árvores, subarbustos, arbustos e algumas lianas que produzem e armazenam substâncias em ductos esquizógenos e com menos frequência por cavidades (METCALFE; CHALK, 1950; CABRAL et al., 2021). Estas estruturas podem estar distribuídas em diferentes partes da planta, principalmente associadas aos feixes vasculares (METCALFE; CHALK, 1950), mas também podem ocorrer no parênquima, conforme descrito em folhas de *Calophyllum brasiliense* Cambess., e *Kielmeyera grandiflora* (Wawra) Saddi (CADDAH et al., 2012; DÍAZ, 2013).

Os ductos de Calophyllaceae têm sido mencionados como produtores de resinas e gomas (CRONQUIST, 1981; COSTA et al., 2021). Estas estruturas têm sido erroneamente mencionadas como produtoras de látex (SANTOS et al., 2015). No entanto, o látex é uma secreção produzida por laticíferos e nenhuma espécie de Calophyllaceae possui laticíferos (PRADO; DEMARCO, 2018; ALENCAR et al., 2020). Recentemente foi evidenciado que os ductos secretores de *Kielmeyera apparicana* Saddi podem produzir secreções distintas (COSTA et al., 2021). Costa et al., (2021) citam ductos primários que produzem resinas misturadas com substâncias fenólicas e terpenos que provavelmente protegem as plantas contra o ataque de herbívoros, e ductos com crescimento secundário que produzem gomas ricas em polissacarídeos que talvez estejam envolvidas com a aquisição e distribuição de água em diferentes partes da planta. Essa relação entre metabolismo da planta e origem dos ductos secretores são implicações funcionais novas para Calophyllaceae, que merecem ser mais exploradas, bem como a realização de novos estudos anatômicos e histoquímicos. Outras estruturas secretoras, como coléteres, idioblastos e/ou tricomas podem ser encontradas em Calophyllaceae e são responsáveis pela produção de diversas substâncias (METCALFE; CHALK, 1950; STEVENS, 2001; CABRAL et al., 2021).

A família Calophyllaceae é conhecida por apresentar espécies importantes do ponto de vista etnobotânico e econômico, como o guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess.), que oferece madeira de boa qualidade (SOUZA; LORENZI, 2012) e o

camaçari (*Caraipa densifolia* Mart.), que é uma fonte rica de substâncias bioativas com potencial anti-inflamatório, antioxidante e antitumorais e têm sido utilizadas no tratamento de diversas doenças, como dermatoses, esquistossomose, leishmaniose, malária, infecção por bactérias e fungos, entre outras (SILVEIRA et al., 2010; ZAILAN et al., 2021). Algumas espécies, como o pau-santo (*Kielmeyera coriacea* Mart. e Zucc) e o pau-santo-rosa (*Kielmeyera rubriflora* Cambess.) fornecem cortiça em função da abundante produção de súber (MOREIRA et al., 2017), são melíferas (BRANDÃO; FERREIRA, 1991), ornamentais (SOUZA; LORENZI, 2012) e têm sido promissoras na produção de madeira, celulose, taninos, carvão e de substâncias biologicamente ativas (SOUZA, 1974; PINHEIRO et al., 2003; SOUZA; LORENZI, 2012).

1.5 Anacardiaceae R. Br: uma família rica em substâncias bioativas

Anacardiaceae é um representante importante de diferentes fitofisionomias da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e do Pantanal (SILVA-LUZ et al., 2020). Suas espécies apresentam distribuição pantropical com 82 gêneros e 800 espécies (PELL et al., 2011). No Brasil, ocorrem 64 espécies distribuídas em 15 gêneros, sendo os mais diversos *Anacardium* L. e *Schinus* L. (SOUZA; LORENZI, 2012; SILVA-LUZ et al., 2020). Suas plantas são conhecidas pela produção de frutos ou pseudofrutos comestíveis, como o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e o cajuaçu (*Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl.), cujo fruto produz a castanha-de-caju, mundialmente conhecida e comercializada *in natura* (PAIVA et al., 2000; SOARES et al., 2013). Outras frutas, como a manga (*Mangifera indica* L.), os cajás (*Spondias* spp.), o umbú (*Spondias tuberosa* Arruda) e a seringueira (*Spondias purpurea* L.) (REIS et al., 2019; PAODJUNAS et al., 2019). Pertencem, ainda, a Anacardiaceae, o pistache (*Pistacia vera* L.) e diversas espécies que produzem madeira de boa qualidade, incluindo o gonçalo-alves (*Astronium graveolens* Jacq.), a aroeira (*Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl.), a aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.) e a braúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) (QUEIROZ et al., 2002; AL-SAGHIR; PORTER, 2012; SOUZA; LORENZI, 2012). Algumas espécies são utilizadas na ornamentação de ruas e praças, como a aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolia* Raddi), o charão (*Rhus succedanea* Vietnã e Taiwan) e

a aroeira-salsa (*Schinus molle* L.) (SOUZA; LORENZI, 2012; SAUERESSING, 2014). O peito-de-pombo (*Tapirira guianenses* Aubl.) ocorre em quase todas as formações florestais do Brasil e, é comumente utilizada na recuperação de áreas degradadas e de matas ciliares (SANTANA et al., 2009; SOUZA; LORENZI, 2012).

Anacardiaceae, pertence à ordem Sapindales, é monofilética e inclui duas subfamílias, Spondioideae e Anacardioideae (PELL et al., 2011). Esta família é constituída de plantas arbóreas, arbustos e algumas lianas, que produzem e armazenam resinas, goma, taninos a partir de estruturas especializadas denominadas de ductos secretores ou canais (METCALFE; CHALK, 1950; SOUZA; LORENZI, 2012; TÖLKE et al., 2021). Além dos ductos secretores, a família é rica em outras estruturas secretoras que produzem uma diversidade de substâncias como, os osmóforos, coléteres, nectários florais, extraflorais e tricomas (LACCHIA et al., 2016; TÖLKE et al., 2018a, b; 2021). As resinas produzidas pelos ductos, os odores dos osmóforos, as substâncias mucilaginosas dos coléteres e os açúcares dos nectários são substâncias documentadas em órgãos vegetativos e reprodutivos e de grande potencial para a taxonomia e sistemática de Spondioideae e Anacardioideae (AGUILAR-ORTIGOZA; SOSA, 2004; LACCHIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; PELL et al., 2011; TÖLKE et al., 2021).

Informações anatômicas, histoquímicas e ultraestruturais de ductos secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae já foram relatados há décadas (VENNING, 1948; VENKAI AH, 1992; SAWIDIS et al., 2000; VASSILYEV, 2000; MACHADO; CARMELLO-GUERREIRO, 2001; SANT' ANNA-SANTOS et al., 2006; LACCHIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009). No entanto, recentemente foi publicado um estudo com novas descobertas estruturais e histoquímicas (TÖLKE et al., 2021). Neste estudo, os autores relataram pela primeira vez, que dependendo da localização e da substância sintetizada e armazenada, os ductos secretores podem ser classificados em: ductos de resina sensu stricto, sintetizando apenas resinas de natureza terpênica; ductos de resina sensu latu, sintetizando resinas terpênicas misturadas a outras substâncias, como polissacarídeos e substâncias fenólicas; e os ductos de goma que são estruturas especializadas em sintetizar apenas substâncias de natureza hidrofílica (TÖLKE et al., 2021).

A resina produzida pelos ductos de Anacardiaceae é uma mistura lipossolúvel de terpenos voláteis e não voláteis e/ou substâncias fenólicas, usadas pelas plantas como defesa (LANGENHEIM, 2003). Têm sido utilizadas pelas plantas, com um importante recurso floral e como matéria prima para construção de ninhos de abelhas da superfamília

Apoideae. Por vez, estas abelhas podem estar coletando alimento e, desta forma, realizando a polinização em outras espécies que dependem da polinização cruzada (ARMBRUSTER, 1984; LANGENHEIM, 2003). Além da função estrutural, a resina utilizada pelas abelhas, protege os ninhos contra invasores e da ação antimicrobiana (ARMBRUSTER, 1984).

Certas espécies de Anacardiaceae são conhecidas pelas reações alérgicas, às vezes extremamente violentas, provocada pela ação de substâncias fenólicas e catéquicos ou pela mistura de ambos, tendo importância farmacêutica pelas propriedades tóxicas e alergênicas (CORREIA et al., 2006). Outras substâncias importantes na família são os biflavonoides, substâncias fenólicas comumente encontradas na maioria das espécies (AGUILAR-ORTIGOSA; SOSA, 2004) e são importantes na defesa da planta contra fungos patogênicos, insetos e herbívoros (AGUILAR-ORTIGOSA; SOSA, 2004). Muitos gêneros têm uso medicinal como *Anacardium*, *Schinus*, *Tapirira*, *Mangifera*, *Rhus*, *Spondias*, *Lanea*, *Semecarpus*, *Pistacia*, *Lithraea* e *Melanorrhoea* e por isso, têm sido objeto de estudos em diferentes áreas do conhecimento, incluindo a prospecção de produtos químicos, farmacêuticos e investigações ecológicas (CORREIA et al., 2006; SOUZA; LORENZI, 2012). Muitas espécies são ricas em flavonoides, terpenos, esteroides, xantonas e derivados que podem ser utilizados para fins medicinais, farmacológicos, industriais e com atividade antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antiviral e cancerígena (CORREIA et al., 2006; ROYO et al., 2015; VASCONCELOS et al., 2016; SILVA et al., 2017; VARELA-RODRÍGUEZ et al., 2019).

Apesar de existir uma quantidade considerável de estudos que relatam a diversidade de substâncias que compõem a secreção dos ductos secretores de Anacardiaceae, são poucos os estudos que relacionam os metabólitos da secreção com aspectos anatômicos e ultraestruturais do epitélio (MACHADO; CARMELLO-GUERREIRO, 2001) e das células que circundam estas estruturas, bem como seu papel funcional com o ambiente. Um atributo anatômico, peculiar e marcante dos representantes de Anacardiaceae é a presença de ductos secretores associados ao floema primário, secundário ou a medula (METCALFE; CHALK, 1950). Dependendo da localização, da quantidade, do padrão de distribuição e da substância sintetizada e armazenada, estes ductos podem ser utilizados para esclarecer relações filogenéticas e desvendar padrões evolutivos de diversificação (MACHADO; CARMELLO-GUERREIRO, 2001; LACCHIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009; TIPMONTIANE et al., 2018; TÖLKE et al., 2021). Com relação à formação do lúmen dos ductos, o

processo mais frequente de formação dos espaços intercelulares é o lisígeno, o esquizógeno e o esquizolisígeno (PAULA; ALVES, 1973; FAHN, 1979; CARMELLO-GUERREIRO, 2001; LACCHIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar aspectos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais de ductos secretores e cavidades em folhas adultas de quatro espécies de Calophyllaceae, *Kielmeyera rubriflora* Cambess, *Kielmeyera coriacea* Mart. e Zucc, *Calophyllum brasiliense* Cambess e *Caraipa densifolia* Mart., e de ductos secretores em três espécies de Anacardiaceae, *Anacardium occidentale* L., *Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl., e *Tapirira obtusa* (Benth.) J. D. Mitch. em duas savanas amazônicas, a fim de interpretar e discutir aspectos funcionais, ecológicos e taxonômicos.

2.2 Objetivos específicos

- (i) Caracterizar a anatomia dos ductos e das cavidades, o padrão de distribuição, as principais classes de metabólitos da secreção e identificar atributos com valor diagnóstico para as espécies estudadas;
- (ii) Identificar os sítios de síntese de secreção e os mecanismos envolvidos na liberação de secreção do protoplasto para o espaço periplásmático da célula secretora;
- (iii) Relacionar os atributos anatômicos e histoquímicos dos ductos e das cavidades com o ambiente circundante a fim de identificar os filtros ambientais que mais contribuíram para que as espécies estudadas investissem em defesa física e química.

3 ATRIBUTOS ESTRUTURAIS E HISTOQUÍMICOS DE DUCTOS SECRETORES E CAVIDADES EM FOLHAS DE QUATRO ESPÉCIES DE CALOPHYLLACEAE J. AGARDH EM SAVANAS AMAZÔNICAS

Resquícios históricos de transgressões de Cerrado dispersos e com distintas extensões em florestas tropicais úmidas da Amazônia são denominados de savanas amazônicas (CARVALHO; MUSTIN, 2017). As plantas desta fitofisionomia possuem particularidades estruturais peculiares das savanas do Planalto Central do Brasil, provavelmente determinadas pelas propriedades do solo, distância geográfica, influências florísticas de comunidades adjacentes, recorrentes incêndios, altos índices de irradiâncias e secas sazonais (SIMIONI et al., 2017; 2020; DEVECCHI et al., 2020; PESSOA et al., 2021).

Entender como atributos funcionais explicam a ocorrência de plantas em paisagens com tipos de vegetação distintas, como florestas e savanas co-ocorrendo lado a lado entre os limites de transição Cerrado-Amazônia (MARACAHIPES et al., 2018; PESSOA et al., 2019), bem como a ocorrência de enclaves de Cerrado na Amazônia é um desafio para botânicos e ecólogos (CARVALHO; MUSTIN, 2017; DEVECCHI et al., 2020). Estudos que investiguem a ocorrência de estruturas secretoras são ideais para compreender mecanismos de aclimação, adaptação e resistência das plantas em diferentes ambientes (BEZERRA et al., 2020). No entanto, informações que expliquem o papel biológico e ecológico das estruturas secretoras como mecanismo de defesa das plantas em função do ambiente são insuficientes (MIGUEL et al., 2017; TRESMONDI et al., 2017), principalmente, ductos e cavidades (BEZERRA et al., 2018). Em especial, estudos estruturais que distinguem ductos de cavidades de forma precisa e que investiguem sua ocorrência, distribuição, os principais metabólitos da secreção, sítios de produção e de armazenamento de substâncias que podem ser utilizadas para fins medicinais, farmacológicos e industriais, permanecem pouco compreendidos.

Ductos e cavidades são estruturas secretoras internas constituídas por um lúmen delimitado por um epitélio secretor que é responsável pela produção, acúmulo e externalização da secreção (FAHN, 1979; PRADO; DEMARCO, 2018). Estas estruturas produzem e acumulam substâncias que podem desempenhar diferentes funções, entre estas, a proteção de estruturas e órgãos jovens e adultos, retenção de água, proteção contra fungos, insetos, herbívoros, alta irradiância, além de permitirem a colonização e o

estabelecimento de espécies em diferentes ecossistemas (FAHN, 1979; SOUZA et al., 2015; MACHADO et al., 2016; BEZERRA et al., 2020).

Atributos estruturais e químicos destas estruturas têm sido estudados em espécies de diferentes grupos taxonômicos, como por exemplo, Myrtaceae (BEZERRA et al., 2020), Anacardiaceae (TÖLKE et al., 2021), Fabaceae (PALERMO et al., 2017), Asteraceae (BEZERRA et al., 2018), Burseraceae (SOUZA et al., 2015), Clusiaceae (ALENCAR et al., 2020), Rutaceae (MACHADO et al., 2016), Primulaceae (LUNA et al., 2018) e Salicaceae (FERNANDES et al., 2018). No entanto, em Calophyllaceae é encontrado apenas estudos descritivos e histoquímicos que não levam em consideração aspectos ultraestruturais (CADDAH et al., 2012; DÍAZ 2013). Neste sentido, este trabalho fornece informações novas e interessantes sobre a distribuição, forma, tamanho, estrutura, histoquímica e ultraestrutura de ductos secretores e cavidades em folhas adultas de quatro espécies de Calophyllaceae. Essas espécies ocorrem em savanas amazônicas, e este estudo visa associar as duas estruturas secretoras com as condições xéricas do ambiente ao qual estão inseridas. Essa associação é crucial para entender como as plantas respondem ao clima local e pode representar, em cenários futuros, uma poderosa ferramenta para entender o papel biológico das estruturas secretoras no ambiente.

Calophyllaceae (Malpighiales) é uma família neotropical e tem sido objeto de estudos em diferentes áreas, incluindo a prospecção de produtos químicos, farmacêuticos (MELO et al., 2014) e investigações ecológicas (CADDAH et al., 2012). Esta família compreende 14 gêneros e 460 espécies e é caracterizada por arbustos, árvores, ou raramente lianas com exsudato creme, branco ou translúcido (STEVENS, 2001). Suas espécies são caracterizadas por estruturas secretoras geralmente representadas por ductos e, menos frequentemente, por cavidades, idioblastos, laticíferos e/ou tricomas tectores e glandulares (METCALFE; CHALK, 1950; STEVENS, 2001). No Brasil, esta família possui oito gêneros e 81 espécies amplamente distribuídas no domínio Amazônico, Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga, das quais 70% são endêmicas, 13 raras e quatro ameaçadas de extinção (BITTRICH et al., 2015). Ao longo do tempo foi incluída em Clusiaceae como subfamília de Kielmeyeroideae, mas atualmente é uma família independente (APG IV, 2016).

Levando em consideração que as savanas amazônicas são altamente ameaçadas e pouco conhecidas (CARVALHO; MUSTIN, 2017) e que não existem estudos pontuais de estruturas secretoras em plantas destes ecossistemas, este estudo caracteriza a anatomia, distribuição, os principais grupos de metabólitos, e os mecanismo de produção

e externalização da secreção de ductos e cavidades em folhas adultas de quatro espécies de Calophyllaceae, a fim de interpretar e discutir aspectos ecológicos e taxonômicos. Para isso, fundamentais perguntas nos nortearam: (i) Existem diferenças estruturais de ductos e cavidades entre as espécies de Calophyllaceae? (ii) Os metabólitos da secreção dessas estruturas são semelhantes ou distintos? (iii) O padrão de distribuição dos ductos e cavidades é semelhante ou distinto? (iv) Os ductos e cavidades possuem atributos anatômicos que conferem valor diagnóstico as espécies? (v) Como a secreção é produzida e externalizada? (vi) Qual a relação das estruturas secretoras com o ambiente em que as espécies estão inseridas?

3.1 Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi conduzido em duas áreas de savanas amazônicas situadas no extremo norte do estado de Mato Grosso. A primeira está situada na área de Preservação Permanente do reservatório da Usina Hidrelétrica Colíder, entre os municípios de Nova Canãa do Norte e Colíder (10° 53'98.7"S e 55° 46'68.7"W), às margens do Rio Teles Pires (PESSOA et al., 2021). A vegetação está estabelecida entre fendas de afloramentos rochosos de origem arenítica, em ilhas de solo raso e circundada por Florestas Ombrófilas Submontanas Densas e Abertas, em área de transição da Amazônia com o Cerrado (PESSOA et al., 2021). A segunda comunidade está situada na área de Preservação Permanente da Fazenda Hiroshima (10°21'57"S e 56°49'07.8"W), no município de Alta Floresta (ZORTÉA, 2018). A vegetação está estabelecida em solos profundos, e está circundada por florestas estacionais, caracterizando áreas de tensão ecológica (ZORTÉA, 2018).

O clima de ambas as comunidades é do tipo equatorial quente e úmido (Am), segundo a classificação de Köppen com temperaturas médias anuais extremas oscilando entre 20 °C a 29 °C e média anual superior a 27 °C (ALVARES et al., 2013). As precipitações anuais estão entre 2.800 a 3.100 mm e apresentam sazonalidade bem

definida, com a ocorrência de um período chuvoso de setembro a maio e de estiagem entre junho e agosto (ALVARES et al., 2013). Os solos são distróficos, álicos, ácidos, arenosos, com baixa disponibilidade de nutrientes (PESSOA et al., 2021). O relevo varia de plano a suavemente ondulado, montanhoso a fortemente ondulado com altitudes que variam de 350 a 437 m (ZORTÉA, 2018; PESSOA et al., 2021).

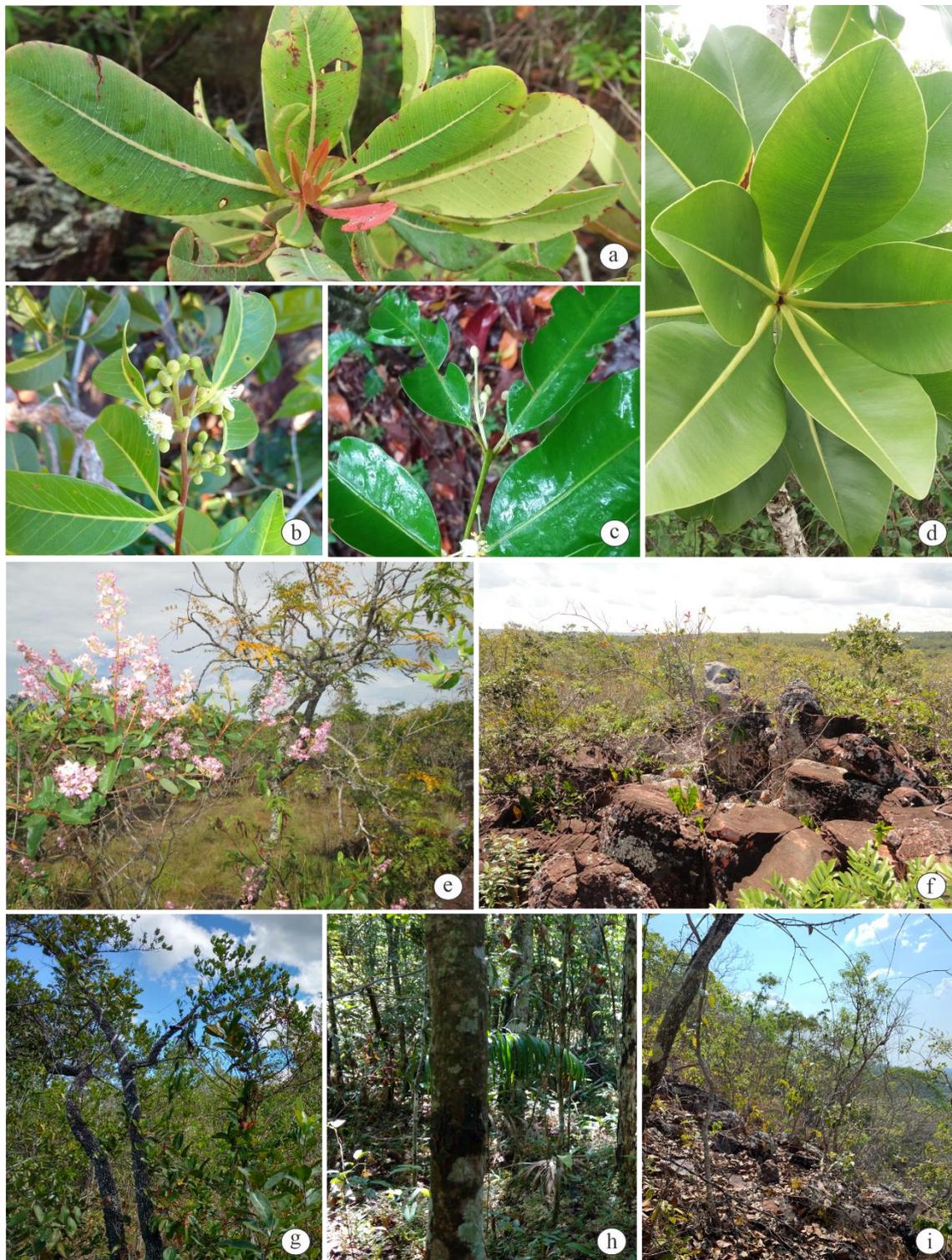
Seleção das espécies

Com base em levantamentos florísticos, foram selecionadas quatro espécies de Calophyllaceae (ZORTÉA, 2018; PESSOA et al., 2021). A vegetação das duas áreas de estudos ocorre em diferentes fitofisionomias e substratos (ver ZORTÉA, 2018; PESSOA et al., 2021). Amostras foliares de *Kielmeyera rubriflora* Cambess (Fig. 2a) foram coletadas em uma savana amazônica sobre afloramentos rochosos volumosos e altos em Nova Canãa do Norte - MT (Fig. 2e-f). Na região de transição Cerrado-Amazônia no município de Alta Floresta - MT, as amostras de *Caraipa densifolia* Mart. (Fig. 2b) foram coletadas em um cerrado típico (Fig. 2g), *Calophyllum brasiliense* Cambess (Fig. 2c) em um cerradão (Fig. 2h), ambas em solos profundos e *Kielmeyera coriacea* Mart. (Fig. 2d) em um cerrado rupestre (Fig. 2i), fitofisionomias denominadas por Zortéa (2018).

As espécies foram identificadas no campo e as amostras foram comparadas com vouchers preexistentes no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM), da Universidade do Estado do Mato Grosso (UNEMAT), Campus de Alta Floresta - MT, sob os números 9563 (*Kielmeyera rubriflora*), 19433 (*Kielmeyera coriacea*), 19584 (*Caraipa densifolia*) e 9356 (*Calophyllum brasiliense*). Estas espécies apresentam ampla distribuição no domínio do Cerrado, podem ser encontradas em savanas amazônicas e são comumente conhecidas pela presença de ductos e cavidades resiníferas que desempenham um papel importante no mecanismo de defesa das plantas contra herbivoria, fungos e bactérias (BITTRICH et al., 2015; CABRITA, 2019). Além disto, são importantes do ponto de vista econômico, por fornecer propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antitumorais e no tratamento de doenças de pele, como o pau-santo-rosa (*Kielmeyera rubriflora*), o pau-santo (*Kielmeyera coriacea*), o camaçari (*Caraipa densifolia*) e o guanandi (*Calophyllum brasiliense*) que é utilizado na recuperação de áreas perturbadas e oferece madeira de boa qualidade para a construção civil (SOUZA; LORENZI 2012;

MELO et al., 2014; MORANDI et al., 2017; SILVA et al., 2020). Com relação ao estado de conservação das espécies, até o momento não foram avaliadas (CNC FLORA, 2021).

Figura 2 - Aspecto geral das folhas adultas de *Kielmeyera rubriflora*, *Caraipa densifolia*, *Calophyllum brasiliense* e *Kielmeyera coriacea* em suas respectivas fitofisionomias de ocorrência.



Legenda: Aspecto geral das folhas adultas de *Kielmeyera rubriflora* (a), *Caraipa densifolia* (b), *Calophyllum brasiliense* (c) e *Kielmeyera coriacea* (d). e-f - aspecto geral da savana amazônica de Nova Canaã do Norte - MT. g - aspecto geral do cerrado típico de Alta Floresta - MT, h - cerrado e i - cerrado rupestre.

Coleta do material e preparo de amostras para microscopia óptica

Cinco folhas adultas sem sinais de herbivoria foram coletadas aleatoriamente do quarto/quinto nó de cinco indivíduos de cada espécie (totalizando 100 folhas) no período chuvoso entre janeiro e fevereiro, meses de alta pluviosidade amazônica mato-grossense. Amostras do terço mediano das folhas foram fixadas em solução aquosa contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4% e tampão Cacodilato de sódio 0,05M em pH 7,2, em temperatura ambiente (KARNOVSKY, 1965 modificado por DA CUNHA et al., 2000). Parte das amostras passou pelo processo de pós-fixação, lavada no mesmo tampão e pós-fixada em tetróxido de Ósmio 1% e tampão Cacodilato de Sódio 0,05M pH 7,2. As amostras foram desidratadas em uma série crescente de acetona, embebidas e emblocadas em resina epóxi (Epon® Leica). Seções transversais semifinas (0.7 µm) foram obtidas usando um ultramicrotomo (Reichert Ultracuts Leica Instruments ®) e reveladas com azul de Toluidina O 1% em tampão de Bórax 1% (JOHANSEN, 1940). Lâminas permanentes foram montadas em Entellan® (Merck, EUA).

Outra parte das amostras fixadas foi desidratada em série alcoólica de 70% a 95% (Etanol) e embutida em resina plástica (HistoResin, Leica, Alemanha) (GERRITS, 1991) sem ser pós-fixada. Em seguida, seções transversais e longitudinais, com cerca de 4 µm de espessura, foram obtidas usando um microtomo rotatório (SM 2235R, Leica, Alemanha). Lâminas permanentes foram montadas com Entellan® (Merck KGaA) e reveladas com azul de Toluidina O 1% e de tampão de Bórax 1% (JOHANSEN, 1940). Além disso, as seções transversais e longitudinais à mão livre foram corados com azul de Astra (revelando a celulose) e Fucsina básica (revelando a lignina) e lâminas semipermanentes foram montadas em glicerina 50% (JOHANSEN, 1940; KRAUS et al., 1998). Para identificar os metabólitos da secreção, seções à mão livre foram submetidas aos testes histoquímicos expostos na Tabela 1. Seções à mão-livre, não expostas a reagentes específicos, foram utilizadas como branco. Todos os testes histoquímicos foram realizados mais de cinco vezes para confirmar a veracidade do teste. Todas as imagens foram obtidas em microscópio óptico de campo claro (Axioplan, ZEISS, Alemanha), acoplado a um sistema de captura de imagens (Moticam Pro 282B, Hong Kong).

Tabela 1 - Reagentes utilizados para identificar as principais classes de metabólitos presentes na secreção dos ductos e cavidades das quatro espécies de Calophyllaceae.

Reagentes	Metabólitos	Autores
Sudan IV	Lipídios totais	(PEARSE, 1980)
Reagente de Nadi	Óleos essenciais e oleorresinas	(DAVID; CARDE 1964)
Teste de Hoepfner-Vorsatz	Substâncias fenólicas	(REEVE, 1951)
Vermelho de Rutênio	Mucilagem	(JOHANSEN, 1940)
Reagente de Schiff/Ácido periódico - PAS	Polissacarídeos neutros	(O'BRIEN; MCCULLY, 1981)
Azul Brilhante de Coomassie	Proteínas	(FISHER, 1968)
Reagente de Dragendorff	Alcaloides	(SVENDSEN; VERPOORTE, 1983)

Microscopia eletrônica de varredura

Para avaliar a micromorfologia das estruturas secretoras, fragmentos do terço mediano da lâmina foliar foram fixados em solução aquosa de glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4% e tampão Cacodilato de Sódio 0,05 M em pH 7,2 (KARNOVSKY, 1965 modificado por DA CUNHA et al., 2000) e, em seguida, pós-fixados em 1% de tetróxido de ósmio e 0,05 M de tampão Cacodilato de Sódio por 2 h em temperatura ambiente. Após a fixação, as amostras foram submetidas à desidratação com acetona, seguida de secagem em ponto crítico de CO₂ (CPD 030, Baltec). As amostras foram então fixadas em suportes metálicos com fita de carbono e cobertas com camada de ouro de aproximadamente 20 nm (SCD 050, Baltec, Suíça). As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura ZEISS EVO 40 (Alemanha) com voltagem de 15 kV.

Microscopia eletrônica de transmissão

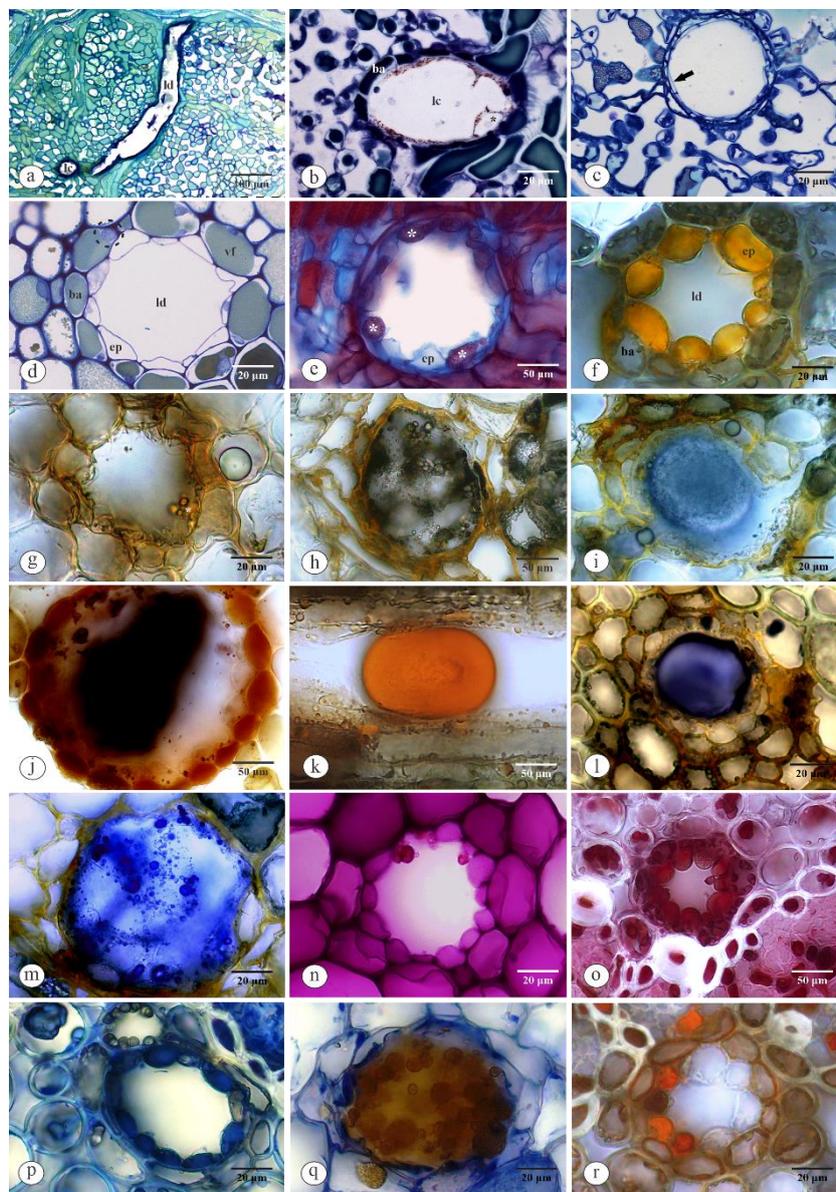
As amostras foram fixadas, pós-fixadas e desidratadas para a análise ultraestrutural das estruturas secretoras, conforme descrito anteriormente para microscopia eletrônica de varredura. A seguir, o material foi embebido e emblocado em resina epóxi (Epon® Leica). Cortes ultrafinos (70 nm) foram obtidos com ultramicrótomo (Reichert Ultracuts Leica Instruments®, Alemanha), os quais foram coletados em grades de cobre (300 mesh) e contrastados com citrato de chumbo 5% e acetato de uranila 1% e observados em microscópio eletrônico de transmissão (JEOL 1400 Plus, USA) a uma voltagem 80 kV.

3.2 Resultados

Atributos estruturais, metabólitos e distribuição de ductos e cavidades

Em secções paradérmicas da nervura central e mesofilo, o formato do lúmen dos ductos é alongado (Fig. 3a) e curto nas cavidades, com formato que varia entre elíptico (Fig. 3b) e circular em todas as espécies (Fig. 3c). Em secções transversais, o formato do lúmen dos ductos e cavidades varia entre elíptico (Fig. 3h) e circular (Fig. 3i), revestidos por uma camada de células epiteliais e uma bainha parenquimática (Fig. 3d). As células epiteliais apresentam paredes delgadas com formas, tamanhos e graus de turgidez distintos (Fig. 3d-r). Dependendo do grau de turgidez, o formato das células epiteliais varia entre colapsada (Fig. 3b, e, g, q), achatada (Fig. 3c), papiliforme (Fig. 3f, o, r), retangular (Fig. 3p) e elíptica (Fig. 3n). As células da bainha apresentam paredes espessas, tangencialmente alongadas com formas e tamanhos distintos, vacúolos grandes ricos em substâncias fenólicas, com núcleo conspícuo em algumas células (Fig. 3b, d, j). Em todas as espécies, foi observado uma quantidade reduzida de ductos e cavidades na fase secretora (Fig. 3f, o, p, r). Em contraposição, na maioria das amostras, foi observada uma quantidade maior de ductos e cavidades na fase pós-secretora com células epiteliais colapsadas (Fig. 3b, e, g, q). A natureza da secreção produzida pelas duas estruturas secretoras é lipofílica (Fig. 3k-m) e hidrofílica (Fig. 3n-o). Os metabólitos produzidos pelos ductos e cavidades são semelhantes entre *Kielmeyera rubriflora*, *Calophyllum brasiliense* e *Caraipa densifolia* (ver Tab. 2). *Kielmeyera coriacea* é a única espécie em que não foi observado oleorresina (Fig. 3m, Tab. 2). Os metabólitos produzidos pelos ductos e cavidades consistem em substâncias fenólicas (Fig. 3b, j), lipídios (Fig. 3k), óleos essenciais com oleorresinas (Fig. 3l), óleos essenciais (observados apenas em *Kielmeyera coriacea*, Fig. 3m), polissacarídeos neutros (Fig. 3n), mucilagens (Fig. 3o), proteínas (Fig. 3p) e alcaloides (Fig. 3r). Nos ductos em que havia muita secreção acumulada no lúmen, à presença de proteínas foi pouco observada (Fig. 3q).

Figura 3 - Secções paradérmicas (a-c) e transversais (d-r) de ductos e cavidades na nervura central e mesofilo de *Kielmeyera rubriflora* (a, b, d, g, q), *Kielmeyera coriacea* (h, j, m), *Calophyllum brasiliense* (i, k, l) e *Caraipa densifolia* (c, e, f, n, o, p, r).



Legenda: a - ocorrência de ductos e cavidades no mesofilo. b - cavidade com epitélio colapsado, com secreção (asterisco) e bainha fenólica no mesofilo. c - cavidade com epitélio achatado (seta preta) e lúmen circular no mesofilo. d - ducto no mesofilo com bainha fenólica e núcleo (círculo tracejado). e - cavidade no mesofilo com epitélio colapsado e secreção (asterisco). f, g, h, i - controle histoquímico. j - reação positiva para substâncias fenólicas na nervura central (teste de Hoepfner-Vorsatz). k - reação positiva para substâncias lipofílicas no mesofilo (Sudão IV). l - reação positiva para óleos essenciais e oleorresinas na nervura central (reagente NADI). m - reação positiva para óleos essenciais na nervura central (reagente NADI). n - reação positiva para polissacarídeos neutros na nervura central (Reagente de Schiff/ Ácido Periódico - PAS). o - reação positiva para mucilagens na nervura central (Vermelho de Rutênio). p - reação positiva para proteínas na nervura central (Azul Brilhante de Coomassie). q - reação negativa para proteínas na secreção armazenada no lúmen do ducto na nervura central (Azul Brilhante de Coomassie). r - reação positiva para alcaloides na nervura central (reagente de Dragendorff). Abreviaturas: ld - lúmen do ducto, lc - lúmen da cavidade, ep - epitélio, ba - bainha parenquimática, vf - vacúolo fenólico.

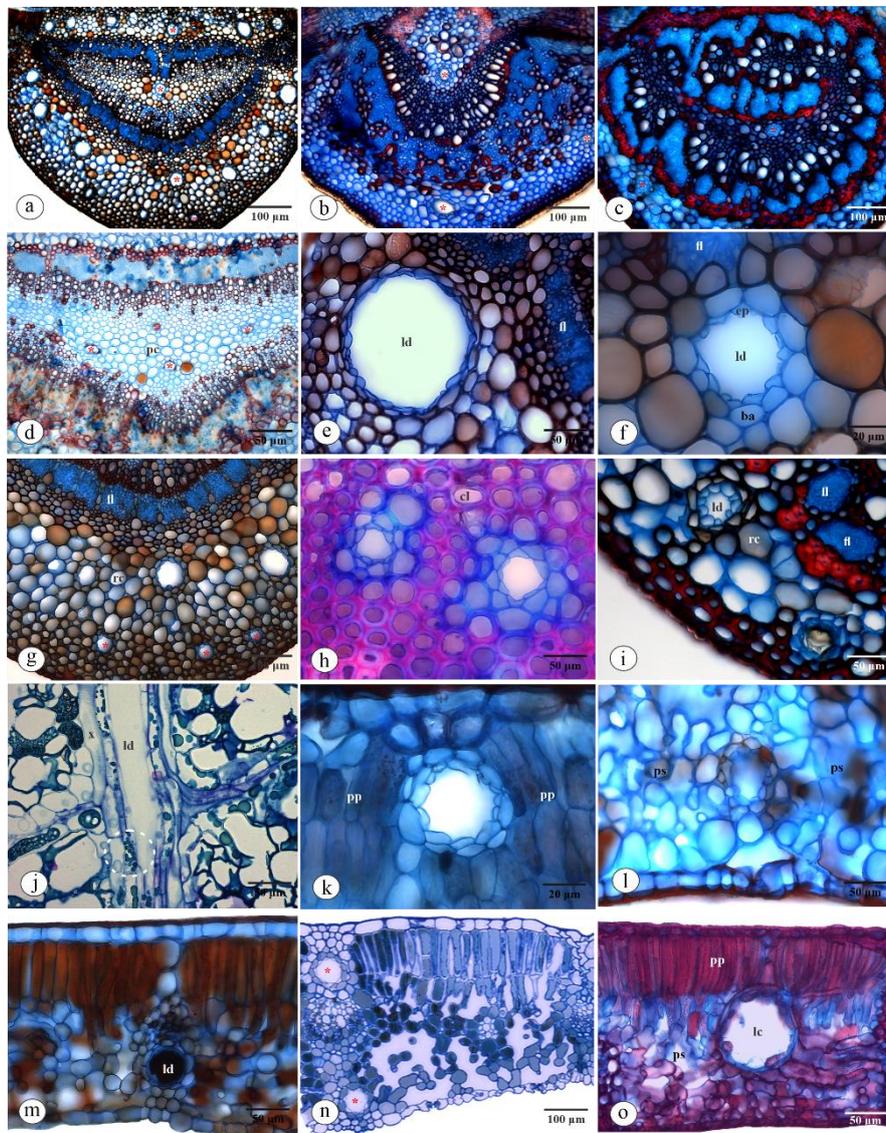
Tabela 2 - Resultados dos testes histoquímicos realizados em ductos secretores e cavidades em folhas de quatro espécies de Calophyllaceae.

Reagentes	Metabólitos	Cores	Estruturas	Espécies			
				<i>K. rubriflora</i>	<i>K. coriacea</i>	<i>C. brasiliense</i>	<i>C. densifolia</i>
Teste de Hoepfner-Vorsatz	Substâncias fenólicas	laranja-marrom, marrom ou escuro	Lúmen	+	+	+	+
			Epitélio	+	+	+	+
			Bainha parenquimática	+	+	+	+
Sudan IV	Lipídios	Vermelho ou vermelho-laranja	Lúmen	+	+	+	+
			Epitélio	+	+	+	+
			Bainha parenquimática	+	+	+	+
Reagente de NADI	Óleos essenciais e oleorresinas	Violeta para roxo	Lúmen	+	-	+	+
			Epitélio	+	-	+	+
			Bainha parenquimática	+	-	+	+
Reagente de NADI	Óleos essenciais	Azul	Lúmen	-	+	-	-
			Epitélio	-	+	-	-
			Bainha parenquimática	-	+	-	-
Vermelho de Rutênio	Mucilagem	Magenta ou vermelho	Lúmen	+	+	+	+
			Epitélio	+	+	+	+
			Bainha parenquimática	+	+	+	+
Reagente de Schiff/Ácido periódico - PAS	Polissacarídeos neutros	Magenta	Lúmen	+	+	+	+
			Epitélio	+	+	+	+
			Bainha parenquimática	+	+	+	+
Azul Brilhante de Coomassie	Proteínas	Azul	Lúmen	+	+	+	+
			Epitélio	+	+	+	+
			Bainha parenquimática	+	+	+	+
Reagente de Dragendorff	Alcaloides	Laranja, marrom, dourado ou marrom-avermelhado	Lúmen	-	-	+	+
			Epitélio	+	+	+	+
			Bainha parenquimática	+	+	+	+

Na nervura central, os ductos ocorrem com exclusividade, ocupando posição subepidérmica, cortical e central (Fig. 4a-d). O tamanho e a quantidade de ductos variam em função da posição em que ocupam no parênquima cortical (Fig. 4e) e central (Fig. 4f). Quando ocorrem no colênquima, são pequenos e abundantes em *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea* (Fig. 4g) e pequenos e raros em *Calophyllum brasiliense* (Fig. 4h) e *Caraipa densifolia* (Fig. 4i). No parênquima cortical, os ductos são grandes e abundantes em *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea* (Fig. 4e), e raros e de tamanhos variados em *Calophyllum brasiliense* e *Caraipa densifolia* (Fig. 4i). Em todas as espécies, os ductos estão distribuídos no parênquima cortical próximo ao floema primário (Fig. 4e). No parênquima central, são pequenos em *Kielmeyera rubriflora*, *Calophyllum brasiliense* e *Caraipa densifolia* (Fig. 4a, b, c) e variam em tamanho em *Kielmeyera coriacea* (Fig. 4d). Os ductos são encontrados solitários no parênquima central de *Kielmeyera rubriflora*, *Calophyllum brasiliense* e *Caraipa densifolia* (Fig. 4a, b, c), ou em grupos de dois a cinco em *Kielmeyera coriacea* (Fig. 4d).

No mesofilo, ductos e cavidades ocorrem de forma conjunta ou exclusiva (Fig. 3a, 4j, ver detalhes na Tab. 3). Ductos e cavidades ocorrem em *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea*, sendo as cavidades observadas com menos frequência (Fig. 3a). Apenas ductos ocorrem em *Calophyllum brasiliense* (Fig. 4j), enquanto em *Caraipa densifolia* ocorrem apenas cavidades (Fig. 3c). No mesofilo, o padrão de distribuição dos ductos e das cavidades varia: (i) em *Kielmeyera coriacea*, os ductos estão distribuídos no parênquima paliçádico (Fig. 4k); (ii) em *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea*, os ductos estão distribuídos no parênquima esponjoso (Fig. 4l), solitários na bainha parenquimatosa dos feixes de menor calibre na superfície abaxial (Fig. 4m) ou em dupla nos feixes de maior calibre, um na superfície adaxial e o outro na superfície abaxial (Fig. 4n); (iii) independente do tipo de estrutura secretora que ocorre entre as espécies, os ductos e cavidades estão distribuídos de forma semelhante entre o parênquima paliçádico e esponjoso (Fig. 4o, ver detalhes na Tab. 3).

Figura 4 - Secções transversais (a-i, k-o) e paradérmicas (j) do padrão de distribuição de ductos na nervura central e mesofilo de *Kielmeyera rubriflora* (a, e, f, g, m, n), *Calophyllum brasiliense* (b, h, j), *Caraipa densifolia* (c, i, o) e *Kielmeyera coriacea* (d, k, l).



Legenda: a-c - aspecto geral da nervura central com ductos ocupando posição subepidérmica, cortical e central (asteriscos vermelhos). d - clusters de ductos no parênquima central da nervura. e - ducto grande no parênquima cortical próximo ao floema. f - ducto pequeno no parênquima cortical próximo ao floema. g - ductos grandes na região cortical e pequeno ocupando posição subepidérmica (asterisco vermelho) na nervura central. h - ductos pequenos no colênquima da nervura central. i - ductos pequenos no parênquima cortical da nervura. j - ducto no mesofilo com depósitos de substâncias fenólicas na bainha (círculo branco tracejado). k - ducto no parênquima paliçadico. l - ducto no parênquima esponjoso. m - ducto no feixe de menor calibre. n - ductos em pares no feixe de maior calibre. o - cavidade entre o parênquima paliçadico e esponjoso. Abreviações: pc - parênquima central, ld - lúmen do ducto, ep - epitélio, ba - bainha parenquimática, fl - floema, rc - região cortical, cl - colênquima, x- xilema, pp - parênquima paliçadico, ps - parênquima esponjoso, lc - lúmen da cavidade.

Tabela 3 - Distribuição dos ductos e cavidades em folhas de quatro espécies de Calophyllaceae.

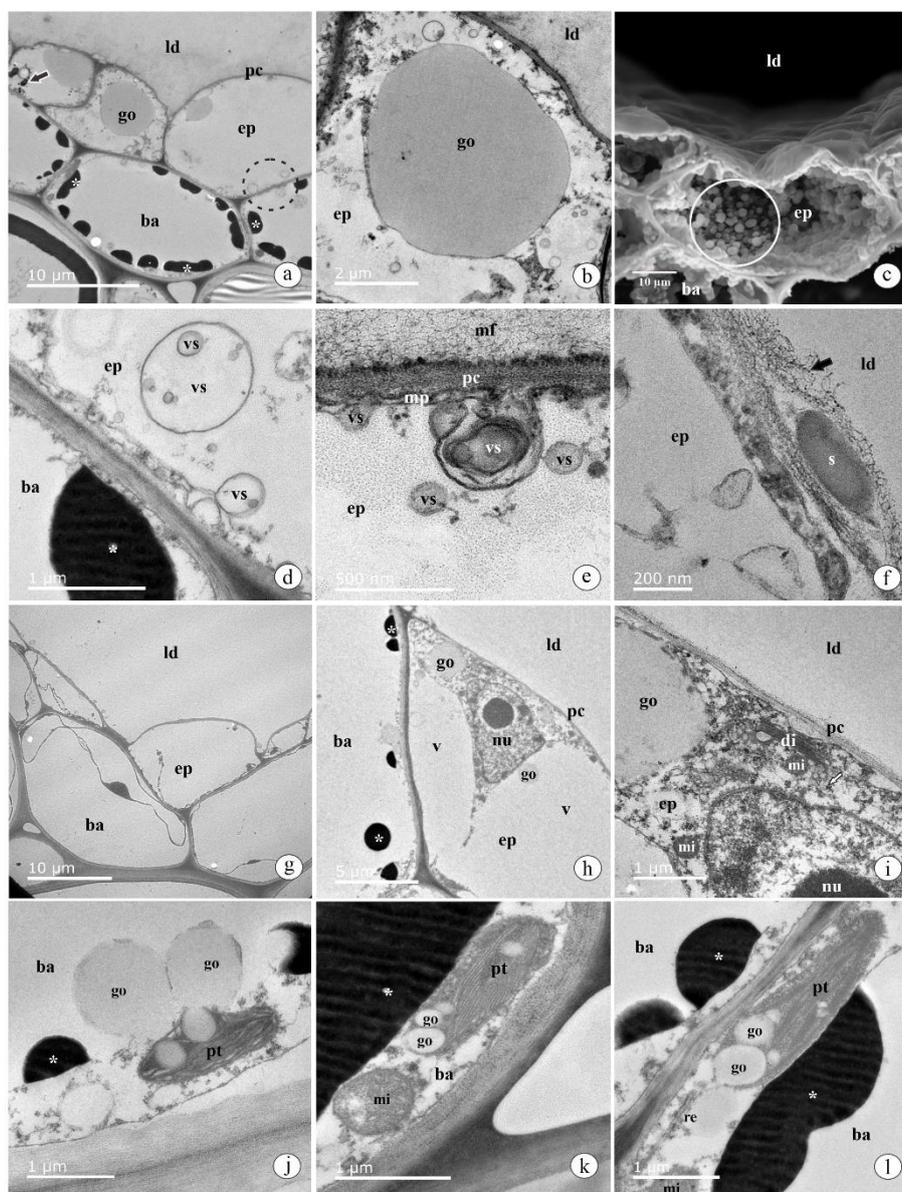
Estruturas	Tecidos	Espécies			
		<i>K. rubriflora</i>	<i>K. coriacea</i>	<i>C. brasiliense</i>	<i>C. densifolia</i>
Nervura central	Colênquima	DT	DT	DT	DT
	Parênquima cortical	DT	DT	DT	DT
	Parênquima central	DT	DT	DT	DT
Mesofilo	Parênquima paliçadico	-	DT	-	-
	Parênquima esponjoso	DT	DT	-	-
	Entre o paliçadico e esponjoso	DT; CV	DT; CV	DT	CV
	Perto dos feixes vasculares	DT; CV	DT; CV	DT	CV
	Solitários na bainha dos feixes	DT	DT	-	-
	Em pares na bainha dos feixes	DT	DT	-	-

Legenda: (-) ausente; DT = ducto secretor; CV = cavidade secretora.

Sítios de produção e liberação de secreção nos ductos da nervura central

Na fase adulta, as células epiteliais dos ductos de *Calophyllum brasiliense*, *Kielmeyera coriacea* e *Caraipa densifolia* atuam como sítios de produção de secreção (Fig. 5a-c). O acúmulo de material fibrilar ou pequenos grânulos de material osmofílico na membrana plasmática, parede celular e no lúmen indica secreção écrina (Fig. 5e-f). Em *Kielmeyera rubriflora*, foi observado ductos inativos (Fig. 5g). As células epiteliais de *Calophyllum brasiliense*, *Kielmeyera coriacea* e *Caraipa densifolia* possuem paredes finas (Fig. 5a, h), uma membrana plasmática sinuosa (Fig. 5e), um alto grau de vacuolização (Fig. 5a, h), citoplasma com baixa densidade e poucas organelas distribuídas em porções mínimas (Fig. 5i), núcleo com nucléolos em poucas células epiteliais (Fig. 5h-i), poucas mitocôndrias (Fig. 5i), ribossomos (Fig. 5i), gotas de óleo (Fig. 5a, b, h, i), material osmiofílico (Fig. 5a), vesículas que se desprendem da parede celular em direção ao lúmen (Fig. 5a, c, d, e) e o acúmulo de material fibrilar na parede celular e no lúmen (Fig. 5e). Dictiossomos foram observados apenas nas células epiteliais e na bainha parenquimatosa de *Kielmeyera coriacea* (Fig. 5i). Em *Calophyllum brasiliense* e *Kielmeyera coriacea* foram observadas gotas de óleo associadas a plastídios (Fig. 5j), mitocôndrias próximas a plastídios (Fig. 5k) e retículo endoplasmático rugoso próximo a mitocôndrias e plastídios (Fig. 5l). Os plastídeos são elípticos; com a presença de grana (Fig. 5j-l). Em *Calophyllum brasiliense*, *Kielmeyera coriacea* e *Caraipa densifolia*, a bainha parenquimática dos ductos atua como reservatórios de substâncias fenólicas (Fig. 5a, d, h, j, k, l).

Figura 5 - Ultraestrutura (a, b, d-l) e microscopia eletrônica de varredura (c) de ductos na nervura central de *Calophyllum brasiliense* (a, b, d, e, k, l), *Kielmeyera coriacea* (c, f, h, i, j) e *Kielmeyera rubriflora* (g).



Legenda: a – ducto constituído de um lúmen delimitado por uma camada de células epiteliais e bainha. b – célula epitelial com gotas de óleo. c – célula epitelial com numerosas vesículas (círculo branco). d – vesículas se soltando em direção ao lúmen. e – vesículas em direção ao lúmen, aderidas à membrana sinuosa e material fibrilar na parede celular e no lúmen. f – externalização da secreção pela parede celular. g – ducto inativo. h – célula epitelial com citoplasma periférico e alto grau de vacuolização. i – célula epitelial com poucas organelas. j – plastídio externalizando gotas de óleo na bainha. k – plastídio com gotas de óleo e mitocôndrias na bainha. l – plastídio com gotas de óleo e retículo endoplasmático rugoso na bainha. Abreviações: ld - lúmen do ducto, pc - parede celular, go - gotas de óleo, ep - epitélio, seta branca com preto - material osmiofílico. círculo tracejado - vesículas. asterisco branco - depósitos de substâncias fenólicas nas células da bainha. vs - vesículas, mp - membrana plasmática, seta preta - grânulos de material osmiofílico na parede desorganizada. s - secreção, v - vacúolo, nu - núcleo, di - dictiossomo, mi - mitocôndria, seta preta com branco - ribossomos, pt - plastídio, re - retículo endoplasmático rugoso.

3.3 Discussão

O formato alongado do lúmen dos ductos e curto das cavidades é um atributo estrutural importante que distingue uma estrutura secretora da outra. Vale estabelecer essa diferença porque a presença e o padrão de distribuição destas estruturas conferem valor taxonômico às espécies em diferentes famílias botânicas (CASTRO et al., 1997; BOMBO et al., 2012; FERNANDES et al., 2018; LUNA et al., 2018). Ductos e cavidades constituídos de uma camada de células epiteliais é um atributo comumente encontrado em folhas de Calophyllaceae (CADDAAH et al., 2012), Asteraceae (BEZERRA et al., 2018), Myrtaceae (BEZERRA et al., 2020) e Salicaceae (FERNANDES et al., 2018). No entanto, esta configuração não é padrão de todas as famílias botânicas e dependendo de sua localização podem variar entre os órgãos das plantas. Neste sentido, são relatados epitélios de ductos e cavidades com uma ou mais camadas desta estrutura em Anacardiaceae (REIS et al., 2014) e Burseraceae (SOUZA et al., 2015).

Células epiteliais de paredes delgadas, com formas, tamanhos e grau de turgidez diferenciado neste estudo podem estar relacionadas com a capacidade destas células de produzir, armazenar e externalizar secreção em diferentes estágios do processo secretor (RODRIGUES; MACHADO, 2012). O grau de turgidez diferenciado das células epiteliais podem ser um indicativo de que os vacúolos estejam funcionando majoritariamente como reservatórios de secreção antes que a secreção seja externalizada para o lúmen (BARTOLI et al., 2011). Nossos achados mostram, que os ductos e as cavidades foram amostrados em diferentes estágios do seu processo secretor. Portanto, células epiteliais “(túrgidas)” densas como ilustrado nos ductos de *Caraipa densifolia*, mas raramente vistas nas demais espécies indicam ductos e cavidades na fase secretora, enquanto vacuoladas, células colapsadas ou menos túrgidas como ilustrado na maioria das espécies, por exemplo, *Kielmeyera rubriflora* indicam células no estágio pós-secretor.

A presença de uma bainha parenquimática circundando as células epiteliais dos ductos e das cavidades desempenham um papel importante na manutenção e substituição de células não funcionais do epitélio, devido ao potencial meristemático destas células (RODRIGUES et al., 2011a, b; LEITE et al., 2014; PALERMO et al., 2018). É importante ressaltar que observamos nos testes histoquímicos a presença de ductos e cavidades com células epiteliais colapsadas e revestidas por uma bainha parenquimática potencialmente ativa e rica em secreção. Neste sentido, nossos resultados sugerem que a bainha

parenquimática seja um atributo estrutural importante que garante a contínua atividade secretora dos ductos e cavidades durante a fase adulta das folhas aqui estudadas.

A ocorrência de ductos e cavidades como atributos estruturais de folhas em plantas do Cerrado fornece um importante mecanismo de proteção, adaptação e resistência às condições xéricas (BIERAS; SAJO, 2009), proteção contra a ação de herbívoros, microrganismos patogênicos e outras pragas (BIERAS; SAJO, 2009). FRANCO; ALBIERO 2018; HARATYM et al., 2020) e retenção hídrica (GALLOWAY et al., 2020). Até o momento não existem estudos que façam essa associação em plantas de savanas amazônicas. Assim, assumimos que a ocorrência de ductos e cavidades nas espécies estudadas é um mecanismo de adaptação, uma vez que a história evolutiva dessas áreas é marcada por condições climáticas que, no passado, eram mais secas e mais favoráveis à vegetação do Cerrado (AB' SABER, 2003) e que atualmente sofrem ciclos mais intensos de escassez de água (ver SULLIVAN et al., 2020; MARIMON et al., 2020). Além disso, outros fatores (por exemplo, eventos biogeográficos, filogenéticos, lesões externas, exposição a patógenos, ataque de insetos e temperaturas extremas) poderiam explicar a existência de ductos e cavidades em diferentes grupos de plantas, além daqueles que já são formados de forma constitutiva (FAHN, 1979; LANGE, 2015).

Os metabólitos da secreção dos ductos e cavidades são semelhantes entre as espécies estudadas; entretanto, a presença de óleos essenciais sem oleorresinas diferencia *Kielmeyera coriacea* das demais espécies e pode indicar seu valor diagnóstico (STOJANOVIC et al., 2015). Outra possível explicação para a ausência de oleorresina em *Kielmeyera coriacea* pode ser resultado da variação sazonal da secreção, conforme relatado por Costa et al. (2020a) em *Myrcia splendens* (Sw.) DC. (Myrtaceae) ou uma resposta específica de *Kielmeyera coriacea* a diferentes condições da fitofisionomia a qual está inserida (WINK, 2003). No entanto, as espécies produzem secreção de natureza mista (hidrofílica e lipofílica), atributos que merecem destaque e que provavelmente podem estar relacionados com as condições ambientais da savana amazônica. De fato, as savanas amazônicas são fitofisionomias abertas, úmidas, isoladas das formações savânicas do Cerrado central do Brasil, com solos altamente arenosos, pobres em nutrientes, altos índices de irradiâncias e secas sazonais (PESSOA et al., 2021; FERREIRA et al., 2015; SIMIONI et al., 2017; 2020). Além disso, essas condições são ideais para a proliferação de microrganismos.

Os principais grupos de metabólitos produzidos pelas estruturas secretoras de plantas que ocorrem nas savanas amazônicas e os papéis ecológicos ainda são

desconhecidos. Nossos resultados sugerem que a associação dos metabólitos produzidos pelos ductos e cavidades apresentados pelas espécies estudadas cria condições locais favoráveis para garantir a sobrevivência da espécie em condições xéricas das savanas amazônicas, sendo um grande avanço entender como ocorre a produção de metabólitos protetores. Substâncias fenólicas, lipídios, óleos essenciais, oleorresinas, mucilagens, polissacarídeos neutros, proteínas e alcaloides são metabólitos relacionados à defesa das plantas contra herbívoros e/ou patógenos (FAHN, 1979; LANGENHEIM, 2003; MUMM; HILKER, 2006; LEITE et. al., 2019).

Segundo Tuner (1986), óleos essenciais e substâncias fenólicas afastam insetos mastigadores e infectam patógenos microbianos. Secreções resiníferas são conhecidas por ter efeitos prejudiciais diretos sobre herbívoros quanto indiretos, atraindo seus predadores naturais (MUMM; HILKER, 2006). Nas estruturas secretoras endógenas, a secreção resinífera atinge o ambiente externo após danos mecânicos (PHILLIPS; CROTEAU, 1999). Após a exposição atmosférica, a secreção resinífera se polimeriza oxidativamente para formar uma barreira que sela lesões, evitando a entrada de patógenos. Muitas vezes, este tipo de secreção pode até prender insetos invasores e patógenos microbianos (PHILLIPS; CROTEAU, 1999; LANGENHEIM, 2003). Os terpenóides (lipídeos) são os principais componentes da oleoresina contida nos ductos e cavidades de resina (LANGENHEIM, 2003; BEZERRA et al., 2018). Estas substâncias são tóxicas para uma variedade de microorganismos devido a sua alta capacidade de interagir com membranas celulares, o que pode levar ao vazamento celular descontrolado, resultando na morte celular e uma maior resistência à herbivoria (WINK; SCHIMMER, 1999; MUMM; HILKER, 2006; SEKI et al., 2019).

As mucilagens atuam nos mecanismos de retenção de água no protoplasma celular que previnem a dessecação das folhas e garantem a manutenção dos processos vitais (SAWIDIS, 1998; GALLOWAY et al., 2019). Costa et al. (2020) ao correlacionar os principais grupos de metabólitos encontrados na secreção de coléteres em *Myrcia splendens* (Sw.) DC. (Myrtaceae) com a variação sazonal, constatou a presença de mucilagem e de polissacarídeos neutros na estação de estiagem, enquanto na estação chuvosa os coléteres não secretavam mucilagem e polissacarídeos neutros. Assim, associamos que a síntese deste metabólito pelas células secretoras dos ductos e das cavidades pode estar relacionada com a necessidade de suprir a falta de água, visto que as espécies destas fitofisionomias passam por longos períodos de estiagem e estão submetidas a solos arenosos com baixa capacidade de retenção de água (observação

peçoal dos autores). A presença de proteína na secreção pode estar relacionada à defesa contra fungos (MIGUEL et al., 2006) e ao ataque de patógenos (KLEIN et al., 2004). A presença de alcaloides na secreção também confere as plantas proteção contra herbivoria, pois são substâncias pouco palatáveis (FRANCO; ALBIERO, 2018).

A principal diferença no padrão de distribuição é a ocorrência exclusiva de ductos na nervura central, enquanto no mesofilo, ductos e cavidades podem ocorrer de forma conjunta ou exclusiva. A exclusividade de ductos na nervura central das espécies, a ocorrência de ductos e cavidades no mesofilo de *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea*, de ductos apenas em *Calophyllum brasiliense* e cavidades apenas no mesofilo de *Caraipa densifolia* conferem valor diagnóstico para as espécies. Estas informações corroboram com outros estudos com espécies de Asteraceae do Cerrado (CASTRO et al., 1997; HARATYM et al., 2020) e Fabaceae (PALERMO et al., 2017) que relatam valor diagnóstico para o tipo e ocorrência dessas estruturas.

A notável abundância de ductos na nervura central de *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea* em relação a *Calophyllum brasiliense* e *Caraipa densifolia* é outro atributo distintivo entre as espécies. Resultado semelhante foi obtido por Bombo et al. (2012) ao distinguir *Aldama filifolia* (Sch.Bip. ex Baker) E.E.Schill. & Panero (Asteraceae) de *Aldama trichophylla* (Dusén) Magenta (Asteraceae) utilizando como atributo diagnóstico a quantidade de ductos na nervura central. Além da quantidade, do ponto de vista ecológico, o tamanho dos ductos na nervura central de *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea* pode indicar uma maior produção de substâncias biologicamente ativas, conforme sugerido por Palermo et al., (2017) ao detectar muitos ductos e cavidades no córtex do caule de *Taralea oppositifolia*. Consequentemente, presumimos que a quantidade e o tamanho dos ductos de *Kielmeyera rubriflora* e *Kielmeyera coriacea* devem favorecer para estas duas espécies típicas do Cerrado, condições para permanecerem colonizando e se desenvolvendo em enclaves de Cerrado na Amazônia.

A distribuição dos ductos próximos ao sistema vascular da nervura central, mas especificamente ao floema, associados à bainha parenquimatosa dos feixes vasculares no mesofilo ou próximos, são atributos importantes e podem ser estratégias para facilitar a chegada de percussores da secreção aos sítios de produção de secreção. No entanto, são poucos os estudos que investigam a relação de ductos e cavidades com o sistema vascular das plantas. Por exemplo, no estudo conduzido por Bezerra et al., (2018) em *Verbesina macrophylla* (Cass.) F. S. Blake (Asteraceae) foi identificado um tecido composto de

células de transferência na região do floema, cuja paredes celulares possuem invaginações que aumentam a eficiência de trocas de substâncias que podem ficar armazenadas em vacúolos ou transferida para a células epiteliais do ducto. Em *Grindelia pulchella* Dunal (Asteraceae), a secreção é produzida nas células de transferência e transferida para as células epiteliais do ducto, onde são acumuladas em vacúolos (BARTOLI et al., 2011). Este tipo de tecido não foi observado nas espécies estudadas.

As análises histoquímicas e de microscopia eletrônica de transmissão mostram que o epitélio e a bainha parenquimática dos ductos e cavidades atuam como sítios de produção de secreção hidrofílica e lipofílica. Estudos anteriores já haviam relatado que o epitélio e a bainha parenquimática atuam como sítios de produção de secreção (RODRIGUES et al. 2011a, b; LEITE et al., 2014; PALERMO et al., 2018). A ultraestrutura das células epiteliais mostra que a secreção é externalizada para o lúmen pelo mecanismo écrino, corroborando com Leite et al. (2019). A presença de numerosas vesículas evidenciando o caminho da secreção em direção ao lumen, fusão de vesículas e o acúmulo de secreção no espaço periplasmático das células epiteliais é um forte indício de um processo secretor granulócrico (FRANCO; ALBIERO, 2018; ALMEIDA; PAIVA, 2019).

Células epiteliais com paredes finas, desorganizadas e com acúmulo de material fibrilar, membrana plásmatica sinuosa, auto grau de vacuolização, citoplasma periférico com baixa densidade e com pouco material osmiofílico, poucas organelas distribuídas em porções bem limitadas, poucas mitocôndrias e numerosas vesículas aderidas a membrana são evidências que as células secretoras não apresentam um processo secretor intenso, como geralmente visto em células epiteliais secretoras de ductos e cavidades registradas na literatura (FRANCO; ALBIERO, 2018; PALERMO et al., 2018; LEITE et al., 2019; HARATYM et al., 2020). No entanto, nossos achados corroboram com Peng et al. (2012) e Turner e Lange (2015) ao descrever características ultraestruturais de cavidades na fase adulta e em parte com os resultados obtidos por Lacchia e Carmello Guerreiro (2009), ao caracterizar células epiteliais de ductos secretores de Anacardiaceae em estágio senescente.

Nos ductos de *Centaurea cyanus* L., (Asteraceae), as células epiteliais em estágio pós-secretor apresentavam citoplasma periférico, grande vacúolo central, protoplasto celular amplamente degradado e numerosas vesículas com diferentes graus de osmofilicidade na parede celular. As vesículas transportavam várias substâncias no citoplasma e se fundiam com a membrana via endocitose (HARATYM et al., 2020). Estas

características ultraestruturais corroboram com nossos resultados e indicam que os ductos analisados neste estudo estavam em senescência, ou seja, no estágio pós-secretor.

A presença de poucas mitocôndrias é outro indicativo de que os ductos estavam no estágio pós-secretor, visto que é comum encontrar uma grande quantidade de mitocôndrias em células secretoras com intensa atividade celular (FRANCO; ALBIERO, 2018; LEITE et al., 2019). Gotas de óleo observadas dispersas no citoplasma das células epiteliais e próxima à membrana plasmática, sugere a fusão dessas gotas com a membrana e posteriormente a externalização de seu conteúdo para o lúmen do ducto, semelhante aos processos observados nas cavidades secretoras que sintetizam resinas (PAIVA; MACHADO, 2006). A presença de retículo endoplasmático associado aos plastídios em células secretoras de resina pode estar relacionada com a função de transportar precursores da resina para o exterior da célula, além de seu papel na síntese de substâncias (BENAYOUN; FAHN, 1979). É provável que a presença do retículo endoplasmático rugoso, próximo aos plastídios, das células da bainha estejam exercendo estas funções e envolvidos na síntese de terpenóides, visto que estas organelas são conhecidas por produzirem estas substâncias (LICHTENTHALER et al., 1997). Essas características ultraestruturais sugerem síntese de polissacarídeos e proteínas, como evidenciadas nos testes histoquímicos (ALMEIDA; PAIVA, 2019). A presença de núcleos com nucléolos e ribossomos proeminentes em células secretoras é uma característica importante em células que demandam alta síntese proteica, uma vez que o nucléolo é o principal sítio de transcrição e processamento de RNA e montagem de estruturas percussivas de ribossomos (STAEHELIN, 2015).

3.4 Conclusão

O sistema secretor das espécies estudadas é constituído de ductos e cavidades. A natureza química da secreção é semelhante (mista), composta por substâncias lipofílicas e hidrofílicas. *Kielmeyera coreacea* é a única espécie com apenas óleos essenciais em sua secreção. Em outras espécies, detectamos óleos essenciais como a oleorresina. O padrão de distribuição dos ductos é semelhante na nervura central. No mesofilo, o padrão de distribuição dos ductos e cavidades é semelhante quando estão entre o parênquima paliçádico e esponjoso e próximos aos feixes vasculares e este padrão é distinto quando os ductos ocorrem no parênquima paliçádico, esponjoso, solitários nos feixes ou em pares. A ocorrência, abundância, tamanho, presença de óleos essenciais sem oleorresinas e o padrão de distribuição das duas estruturas secretoras são atributos de valor diagnóstico para as espécies estudadas. As análises histoquímicas e ultraestruturais revelaram que o epitélio e a bainha parenquimática são sítios de síntese de secreção. Na ultraestrutura, as células epiteliais dos ductos apresentaram pouca ou nenhuma atividade celular, como observado em *Kielmeyera rubriflora*. A secreção provavelmente é sintetizada pelo retículo endoplasmático rugoso, ribossomos e dictiossomos e liberada do protoplasto para o espaço periplasmático pelo processo granulócrico e écrino. A presença de substâncias fenólicas, lipídios, óleos essenciais, oleorresinas, mucilagens, polissacarídeos neutros, proteínas e alcaloides na secreção das estruturas secretoras estudadas revelam uma capacidade de adaptação, resistência e proteção das espécies às condições adversas do ambiente, em particular, a ação de herbívoros, patógenos, lesões e retenção de água. Este estudo fornece informações inéditas sobre a biologia da secreção de ductos e cavidades em plantas de savanas amazônicas. Em perspectivas futuras, esperamos que nossos resultados despertem o interesse de outros pesquisadores para a realização de novos estudos com estruturas secretoras nestas fitofisionomias pouco estudadas na Amazônia.

4. DUCTOS SECRETORES EM FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES DE ANACARDIACEAE R. BR. E AS INTERAÇÕES PLANTA-AMBIENTE EM SAVANAS AMAZÔNICAS

Atributos estruturais e funcionais de plantas têm sido estudados em enclaves de Cerrado inseridos em florestas tropicais úmidas da Amazônia (SIMIONI et al., 2017; 2020; ARIANO et al., 2022). Estes enclaves são regionalmente conhecidos como “savanas amazônicas” (DEVECCHI et al., 2020). Suas plantas apresentam particularidades estruturais distintas das savanas do Planalto Central do Brasil (Cerrado) moldadas pelos níveis de precipitação, propriedades do solo, grau de exposição das plantas à radiação solar e a sazonalidade local (SIMIONI et al., 2017; 2020; ARIANO et al., 2022; PESSOA et al., 2021). Nestas condições ambientais, as plantas desenvolvem uma série de mecanismos de defesa para se protegerem, dentre esses, a presença constitutiva de ductos secretores em diferentes partes da planta (PRADO; DEMARCO, 2018).

Ductos secretores são estruturas internas que consistem de um epitélio que sintetiza, acumula e transporta uma diversidade de substâncias para um espaço intercelular alongado denominado de lúmen (FAHN, 1979). Estes ductos ocorrem em mais de 50 famílias botânicas, sendo a maioria constituída de ductos resiníferos e algumas por ductos mucilaginosos (COSTA et al., 2021; PRADO; DEMARCO, 2018). Estas estruturas representam um importante mecanismo de defesa das plantas frente aos filtros ambientais e são comumente encontradas em Anacardiaceae, Asteraceae, Burseraceae, Calophyllaceae, Clusiaceae, Salicaceae, Fabaceae e Malvaceae (SOUZA et al., 2015; FERNANDES et al., 2018; BEZERRA et al., 2018; PRADO; DEMARCO, 2018; ALENCAR et al., 2020).

Em Anacardiaceae, os ductos ocorrem principalmente associados ao floema ou na medula e dependendo de sua localização, do padrão de distribuição e das substâncias que são sintetizadas e armazenadas, podem ser utilizados para elucidar relações filogenéticas e desvendar padrões evolutivos de diversificação (TÖLKE et al., 2021). Esta família está inserida em Sapindales, compreendendo aproximadamente 800 espécies e 82 gêneros, distribuídos em regiões tropicais e subtropicais (SILVA-LUZ et al., 2020). No Brasil, a família é representada por 15 gêneros e 64 espécies, das quais 19 são endêmicas, com maior número de espécies distribuídas na Mata Atlântica (32 espécies), seguido da

Amazônia (26 espécies) (SILVA-LUZ et al., 2020; PERREIRA et al., 2021). Suas espécies são conhecidas pela produção de frutos, pseudofrutos e por oferecer madeira de boa qualidade (SOUZA; LORENZI, 2012). Destas espécies, muitas são ricas em substâncias bioativas que são amplamente utilizadas para fins medicinais, farmacológicos, industriais, cancerígenos, antioxidantes, antifúngicas, antibacterianos, antivirais e alergênicos (ROYO et al., 2015; VASCONCELOS et al., 2016; SILVA et al., 2017; VARELA-RODRÍGUEZ et al., 2019).

Levando em consideração a importância dada neste estudo aos ductos secretores; o fato de existir poucos estudos ultraestruturais que relacionam as células secretoras com o mecanismo de secreção; o papel ecológico dos ductos secretores com o ambiente circundante; a necessidade de identificar atributos de valor diagnóstico nestas estruturas e o fato das savanas amazônicas serem pouco exploradas do ponto de vista científico, investigou-se pela primeira vez aspectos estruturais e histoquímicos de ductos secretores em folhas adultas de três espécies de Anacardiaceae, a fim de responder os seguintes questionamentos: (i) Entre as espécies estudadas, os ductos secretores apresentam atributos estruturais distintos?; (ii) Os metabólitos da secreção são semelhantes ou distintos nestas espécies?; (iii) O padrão de distribuição dos ductos é semelhante nestas espécies?; (iv) Os ductos possuem atributos estruturais de valor diagnóstico?; (v) Como é a ultraestrutura das células secretoras nestas espécies?; (vi) Considerando a função dos metabólitos sintetizados pelos ductos, é possível identificar quais filtros ambientais mais contribuíram para que as espécies investissem em defesa física e química?

4.1 Material e Métodos

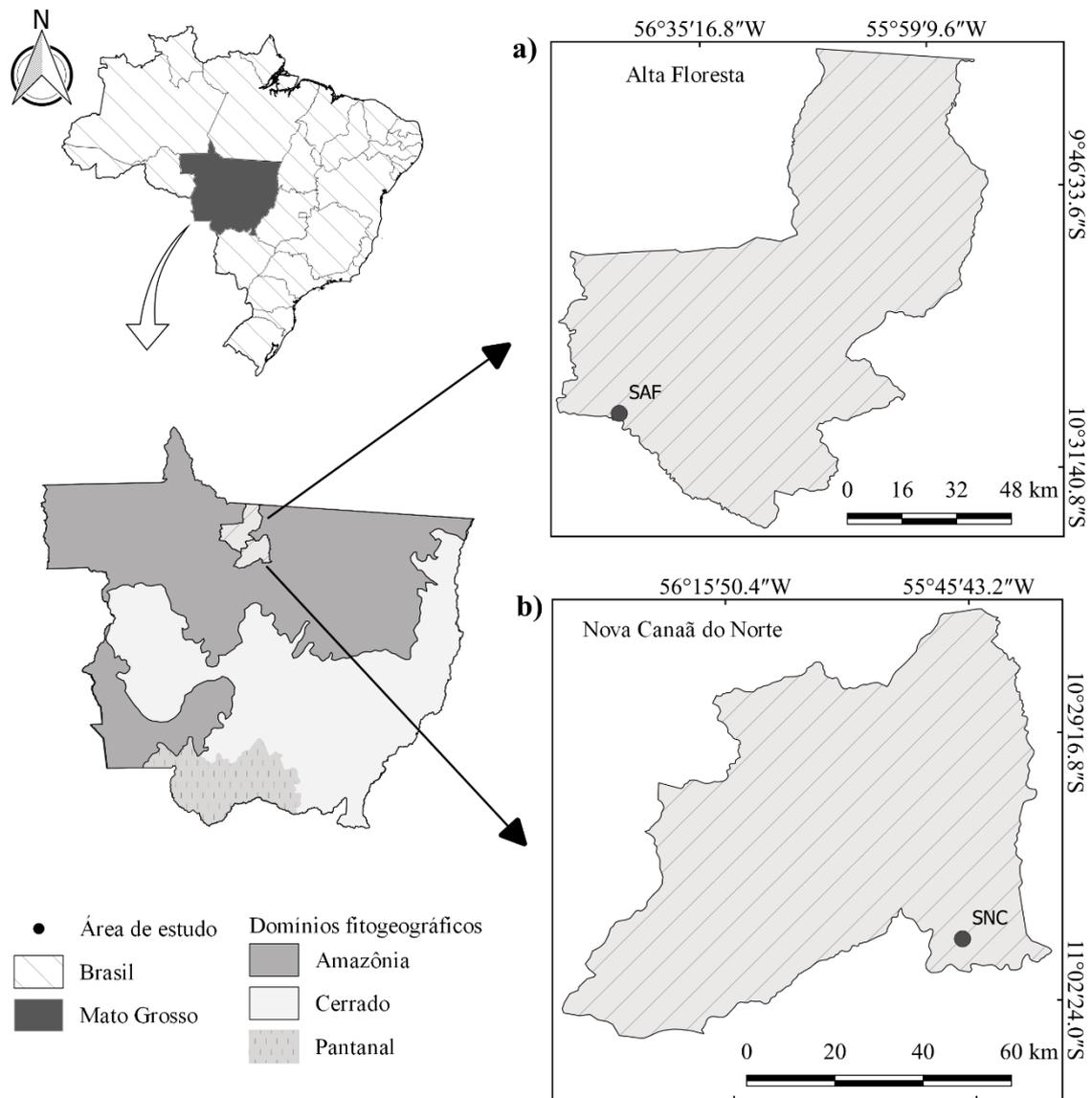
Área de estudo

O estudo foi realizado em duas savanas amazônicas situadas na região de transição entre a Amazônia e o Cerrado, no extremo norte do estado de Mato Grosso. Em linha reta as duas savanas estão distantes uma da outra, cerca de 128 km (Fig. 6a-b). A primeira está situada na área de Preservação Permanente do reservatório da Usina Hidrelétrica

Colíder, entre os municípios de Nova Canãa do Norte e Colíder (10° 53'98,7" S e 55° 46'68,7" W) no Mato Grosso, Brasil, cuja vegetação está estabelecida sobre afloramentos volumosos e densos e circundada por habitats florestais. Esta savana foi denominada por Pessoa et al. (2021) como 'Savana Amazônica Rochosa', a fim de diferenciá-la de outras fitofisionomias savânicas que ocorrem na Amazônia sobre solos profundos. A segunda está situada na área de preservação permanente da Fazenda Hiroshima em Alta Floresta (10° 21'57 " S, 56° 49'07,8 " W), Mato Grosso, Brasil, cuja vegetação se estabelece em solos rasos, pedregosos e profundos com fitofisionomias que variam de florestais, savânicas a campestres (ZORTÉA, 2018). Estas fitofisionomias foram classificadas como 'Mata de Galeria', 'Cerradão', 'Cerrado Típico' 'Cerrado Rupestre' e 'Campo Sujo' (ZORTÉA, 2018; ZORTÉA et al., 2020). No entanto, essa classificação pertence às fitofisionomias do Cerrado (RIBEIRO; WALTER, 2008). Neste sentido, como se trata de vegetações de domínios distintos, foi adotado o termo 'Savana Amazônica Florestada' como sinônimo de 'Cerradão e Savana Amazônica Típica para o 'Cerrado Típico'. Na Savana Amazônica Florestada, os indivíduos de *Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl. ocorrem em solos profundos e próximos a uma grotta de água, enquanto na Savana Amazônica Típica, os indivíduos de *Tapirira obtusa* (Benth.) J. D. Mitch. ocorrem em solos profundos e pedregosos.

O clima de ambas as áreas é do tipo equatorial, quente e úmido (Am), segundo a classificação de Köppen, com temperaturas extremas médias anuais oscilando entre 20 °C e 29 °C e médias anuais acima de 27 °C (ALVARES et al., 2013). A precipitação anual varia de 2.800 a 3.100 mm com sazonalidade bem definida, com período chuvoso de setembro a maio e estiagem entre junho e agosto (ALVARES et al., 2013). Os solos são distróficos, álicos, ácidos e com baixa disponibilidade de nutrientes. Na Savana Amazônica Rochosa o solo é mal drenado e de textura arenosa, enquanto na Savana Amazônica Florestada e Típica é bem drenado e argiloso. Nas duas savanas, o relevo varia de plano a suavemente ondulado a montanhoso a fortemente ondulado com altitudes que variam de 350 a 437 m (PESSOA et al., 2021; ZORTÉA, 2018).

Figura 6 - Localização da savana amazônica de Alta Floresta – SAF e de Nova Canaã do Norte – SNC no extremo norte do estado de Mato Grosso.



Legenda: (a) savana amazônica de Alta Floresta – SAF e de Nova Canaã do Norte – SNC (b) no extremo norte do estado de Mato Grosso.

Seleção, importância e condição fitossanitária das espécies

Com base em levantamentos florísticos, foram selecionadas três espécies de Anacardiaceae utilizando como critério a ocorrência das espécies na área de estudo (ZORTÉA, 2018; PESSOA et al., 2021). *Anacardium occidentale* L. na Savana Amazônica Rochosa (Fig. 7a, d), *Anacardium giganteum* W. Hancock ex Engl. na Savana Amazônica Florestada (Fig. 7b, e) e *Tapirira obtusa* (Benth.) J. D. Mitch. na Savana Amazônica Típica (Fig. 7c, f). As espécies foram identificadas a campo e as amostras foram comparadas com exsicatas depositadas no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM) da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Campus de Alta Floresta. O cajueiro-do-cerrado (*Anacardium occidentale*) e o pau-pombo (*Tapirira obtusa*) possui ampla distribuição no Cerrado, enquanto o cajueiro (*A. giganteum*) é uma espécie de ampla distribuição na Amazônia (SILVA-LUZ et al., 2020; PERREIRA et al., 2021). Estas espécies são importantes por serem usadas na fitoterapia popular, como antidiabético, anti-inflamatório, cicatrizante, contra sífilis e por fornecerem frutos comestíveis, madeiras de boa qualidade, potencial ornamental e serem apropriadas para a restauração de áreas degradadas (SOUZA; LORENZI, 2012). Com relação ao estado de conservação das espécies, ainda não foram avaliadas (CNC FLORA, 2022). *In situ*, a maioria das folhas das espécies estudadas apresentavam sinais de herbivoria, galhas, sintomas de antracnose (lesões com manchas necróticas) ou amareladas.

Figura 7 - Aspecto geral das folhas de *Anacardium occidentale*, *Anacardium giganteum* e *Tapirira obtusa* em suas respectivas fitofisionomias de ocorrência.



Legenda: Aspecto geral das folhas de *Anacardium occidentale* na savana amazônica rochosa de Nova Canaã do Norte - MT (a, d), *Anacardium giganteum* na savana amazônica florestada (b, e) e de *Tapirira obtusa* na savana amazônica típica (c, f), ambas em Alta Floresta - MT.

Preparo de amostras para análises anatômicas e histoquímica

Cinco folhas adultas com condição fitossanitária aparentemente saudável foram coletadas do quarto / quinto nó de cinco indivíduos de cada espécie, totalizando 75 folhas, no período chuvoso entre janeiro e fevereiro, meses com alta pluviosidade na Amazônia Mato Grosso. Amostras do terço mediano das folhas foram fixadas em solução aquosa contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4% e tampão Cacodilato de sódio 0,05 M em pH 7,2, em temperatura ambiente (KARNOVSKY, 1965 modificado por DA CUNHA et al., 2000). Parte das amostras passou pelo processo de pós-fixação, lavada no mesmo tampão e pós-fixada em tetróxido de Ósmio 1% e tampão Cacodilato de Sódio 0,05 M pH 7,2. As amostras foram desidratadas em uma série crescente de acetona, embebidas e emblocadas em resina epóxi (Epon® Leica). Seções transversais semifinas (0,7 µm) foram obtidas usando um ultramicrotomo (Reichert Ultracuts Leica Instruments ®) e reveladas com azul de Toluidina O 1% em tampão de Bórax 1% (JOHANSEN, 1940). Lâminas permanentes foram montadas em Entellan® (Merck, EUA).

Outra parte das amostras fixadas foi desidratada em série alcoólica de 70% a 95% (Etanol) e embebida em resina plástica (HistoResin, Leica, Alemanha) (GERRITS, 1991). Em seguida, secções transversais e longitudinais, com cerca de quatro µm de espessura, foram obtidos usando um microtomo rotatório (SM 2235R, Leica, Alemanha). Lâminas permanentes foram montadas com Entellan® (Merck, EUA) e reveladas com azul de Toluidina O 1% em tampão de Bórax 1% (JOHANSEN, 1940). Além disso, as secções transversais e longitudinais à mão livre foram coradas com azul de Astra, revelando a celulose e Fucsina básica, revelando a lignina. Lâminas semipermanentes foram montadas em glicerina 50% (JOHANSEN, 1940). Para identificar os metabólitos da secreção, secções à mão livre foram submetidas aos testes histoquímicos expostos na Tabela 4. Secções à mão-livre, não expostas a reagentes específicos, foram utilizadas como branco. Todos os testes histoquímicos foram realizados mais de cinco vezes. Todas as imagens foram obtidas em microscópio óptico de campo claro (Axioplan, ZEISS, Alemanha), acoplado a um sistema de captura de imagens (Moticam Pro 282B, Hong Kong).

Tabela 4 - Reagentes utilizados para identificar as principais classes de metabólitos presentes na secreção dos ductos secretores das três espécies de Anacardiaceae.

Reagentes	Metabólitos	Autores
Sudan IV	Lipídios totais	(PEARSE, 1980)
Reagente de Nadi	Óleos essenciais e oleorresinas	(DAVID; CARDE, 1964)
Cloreto Férrico	Substâncias fenólicas	(JOHANSEN, 1940)
Vermelho de Rutênio	Mucilagem	(JOHANSEN, 1940)
Reagente de Schiff/Ácido periódico - PAS	Polissacarídeos neutros	(O'BRIEN; MCCULLY, 1981)
Azul Brilhante de Coomassie	Proteínas	(FISHER, 1968)
Reagente de Dragendorff	Alcaloides	(SVENDSEN; VERPOORTE, 1983)

Preparo de amostras para análises micromorfológicas

Para avaliar a micromorfologia das estruturas secretoras, fragmentos do terço mediano da lâmina foliar foram fixados em solução aquosa de glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4% e tampão Cacodilato de Sódio 0,05 M em pH 7,2 (KARNOVSKY, 1965 modificado por DA CUNHA et al., 2000) e, em seguida, pós-fixados em 1% de tetróxido de ósmio e 0,05 M de tampão Cacodilato de Sódio por 2 h em temperatura ambiente. Após a fixação, as amostras foram submetidas à desidratação com acetona, seguida de secagem em ponto crítico de CO₂ (CPD 030, Baltec). As amostras foram então fixadas em suportes metálicos com fita de carbono e cobertas com camada de ouro de aproximadamente 20 nm (SCD 050, Baltec, Suíça). As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura ZEISS AURIGA 40 (Alemanha) com voltagem de 2 kV.

Preparo de amostras para análises ultraestruturais

As amostras foram fixadas, pós-fixadas e desidratadas para a análise ultraestrutural das estruturas secretoras, conforme descrito anteriormente para microscopia eletrônica de varredura. A seguir, o material foi embebido e emblocado em resina epóxi (Epon® Leica). Secções ultrafinas (70 nm) foram obtidas com ultramicrótomo (Reichert Ultracuts Leica Instruments®, Alemanha), as quais foram coletadas em grades de cobre (300 mesh) e contrastadas com citrato de chumbo 5% e acetato de uranila 1% e observadas em microscópio eletrônico de transmissão Fei Tecnai Spirit (Suíça) a uma voltagem de 120 kV.

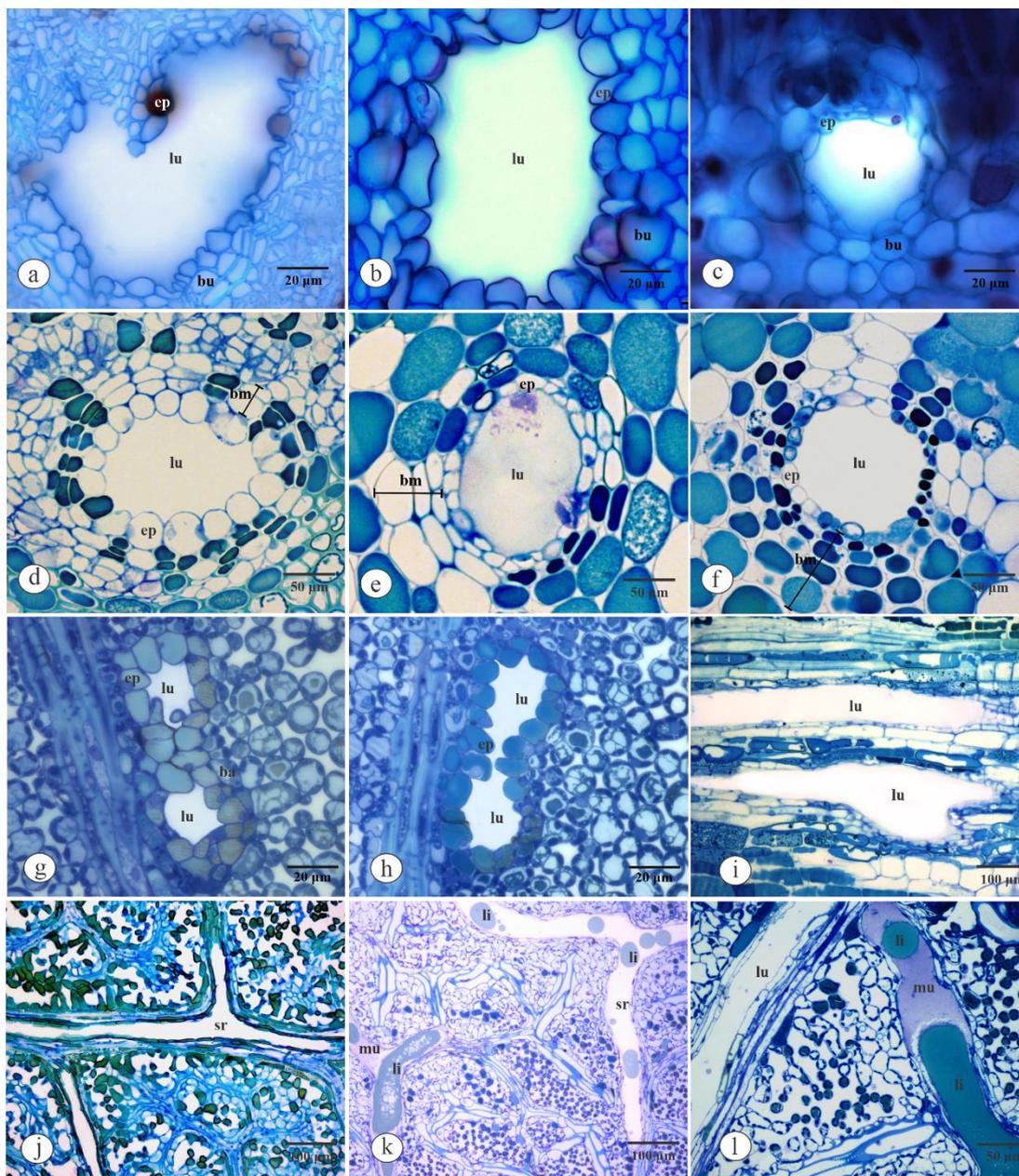
4.2 Resultados

Atributos estruturais, distribuição dos ductos e metabólitos da secreção

Em secções transversais da nervura central e do mesofilo, o formato do lúmen de todas as espécies varia entre irregular (Fig. 8a), isodiamétrico (Fig. 8b-d), elíptico (Fig. 8e) e circular (Fig. 8f). Em *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale*, o formato do lúmen é mais irregular e elíptico (Fig. 8a-b, e), enquanto *Tapirira obtusa* é mais isodiamétrico e circular (Fig. 8c-d, f). Em todas as espécies, o epitélio secretor é unisseriado com células delgadas, de diferentes formas, tamanhos e graus de turgidez (Fig. 8a-f). Dependendo do grau de turgidez, o formato das células do epitélio varia entre irregulares (Fig. 8a-b), retangulares (Fig. 8c), papiliforme (Fig. 8d) e retangulares (Fig. 8e-f). Na nervura central, a bainha parenquimática que circunda os ductos é unisseriada (Fig. 8a-c) ou multisseriada (Fig. 8d-f). Em *Anacardium occidentale*, a maioria dos ductos apresenta bainha parenquimática composta por duas, três ou quatro camadas de células (Fig. 8d-f). Em *Anacardium giganteum*, a maioria dos ductos apresenta uma camada de células na bainha, enquanto *Tapirira obtusa* sempre apresenta uma única camada de células (Fig. 8a). No mesofilo, todas as espécies apresentam ductos secretores revestidos por uma bainha parenquimática unisseriada (Fig. 8c).

Em secções paradérmicas, os ductos da nervura central e do mesofilo de todas as espécies se fundem por coalescência lateral (Fig. 8g-h). Em algumas amostras, ductos solitários ou adjacentes aumentando de tamanho por anastomose foram detectados na nervura central de *Anacardium occidentale* (Fig. 8i). No mesofilo, o mesmo processo acontece, dando origem a um sistema ramificado de ductos em todas as espécies (Fig. 8j-l). Em *Tapirira obtusa* foi observado no lúmen dos ductos de algumas amostras o armazenamento apenas lipídios (Fig. 8k) ou lipídios e mucilagem (Fig. 8l).

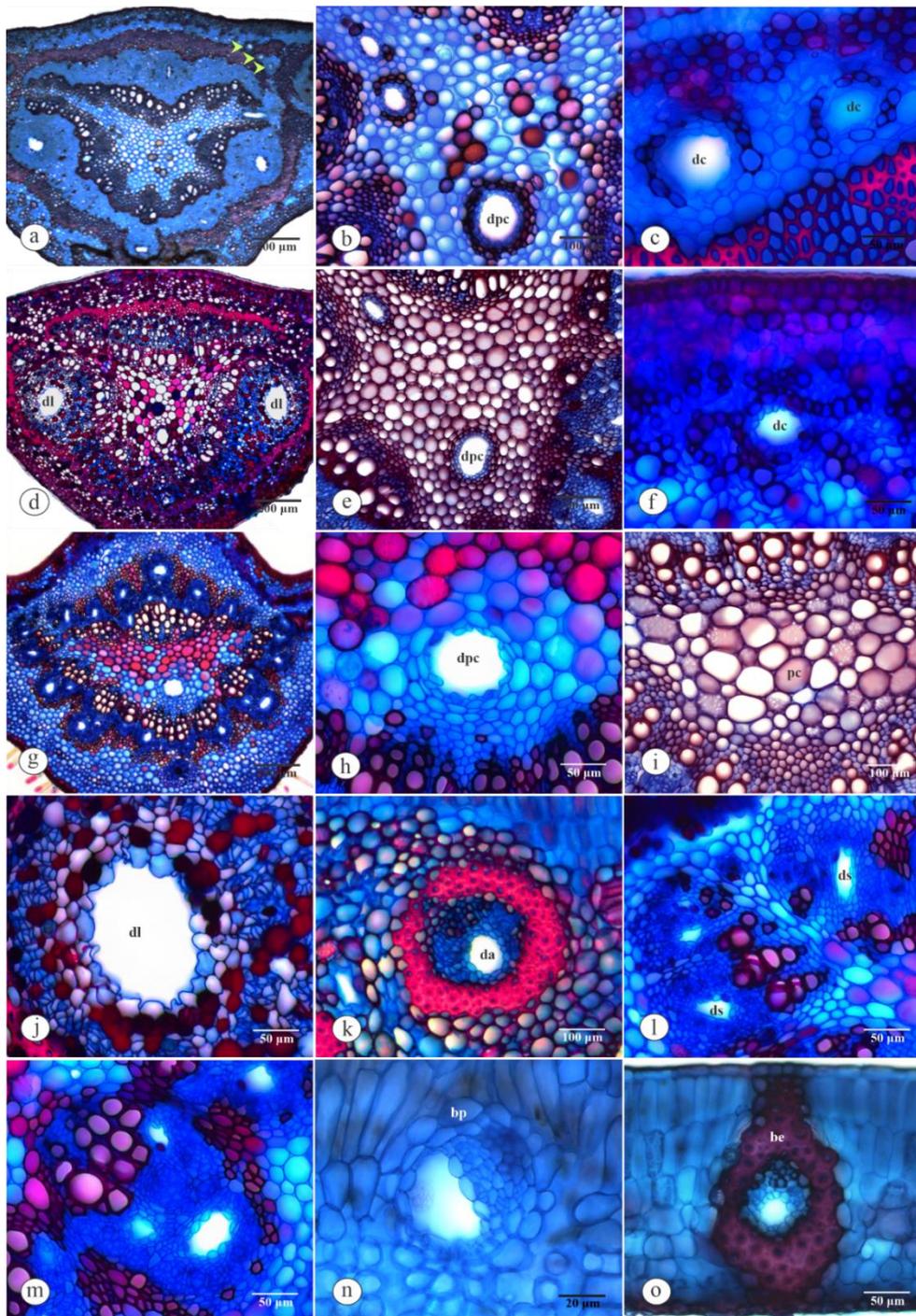
Figura 8 - Secções transversais de ductos secretores na nervura central (a-f) e paradérmicas do mesofilo (g, h, j-l) e nervura central (i) de *Anacardium giganteum* (a, g-h, j), *Anacardium occidentale* (b, d-f, i) e *Tapirira obtusa* (c, k-l).



Legenda: (a-c) ductos do floema com epitélio secretor e bainha unisseriada. (c) ducto do mesofilo com epitélio e bainha unisseriada. (d) ductos do parênquima central com duas camadas de células na bainha, (e) três camadas e (f) quatro camadas. (g-h) fusão colateral de ductos adjacentes. (i) estágios iniciais de anastomose dos ductos. (j) sistema ramificado de ductos finos. (k) sistema ramificado de ductos largos. (l) ductos com lipídios e mucilagem. Abreviações: lu – lúmen, ep – epitélio unisseriada; bu – bainha unisseriada; bm – bainha multisseriada; sr – sistema ramificado de ductos; li – lipídios; mu – mucilagem.

Em *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale* os ductos distribuídos estão distribuídos no parênquima cortical, floema e no parênquima central da nervura (Fig. 9a-f). Em *Tapirira obtusa* estão distribuídos apenas no floema e no parênquima central (Fig. 9g, h). *Tapirira obtusa* apresenta uma densidade maior de ductos em comparação a *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale* (Fig. 9b, d, g). No parênquima cortical, os ductos de *Anacardium giganteum* são pequenos e a quantidade varia de dois a dez (Fig. 9c). Em contraposição, em *Anacardium occidentale* foi observado apenas um ducto no córtex (Fig. 9f) e *Tapirira obtusa* nenhum (Fig. 9j). Entre as espécies, a quantidade e o tamanho dos ductos do floema e do parênquima central varia de acordo com a posição que ocupam (Fig. 9a-h). Em *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale*, dois grandes ductos laterais se destacam no floema, sendo os de *Anacardium occidentale* maiores (Fig. 9a, d, j). Nestas espécies, duas calotas de feixes acessórios com pequenos ductos se destacam na região de transição entre o córtex e o mesofilo, sendo uma calota no lado esquerdo e a outra no direito (Fig. 9k). Em *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale*, os ductos do floema são solitários (Fig. 9j). Em contraste, em *Tapirira obtusa* são solitários ou ocorre em grupos de dois a três (Fig. 9j, l-m). Em *Anacardium giganteum*, os ductos do parênquima central ocorrem com predominância em grupos de três a dez (Fig. 9b). Em *Anacardium occidentale* e *Tapirira obtusa*, os ductos do parênquima central são predominantemente solitários e raramente são vistos dois ou três (Fig. 9b, e, h). No mesofilo, os ductos ocorrem associados ao floema dos feixes vasculares das três espécies (Fig. 9n-o). No mesofilo, a principal diferença é dada pela bainha parenquimática dos feixes de *Tapirira obtusa* que não se estende até a epiderme, enquanto *Anacardium occidentale* e *Anacardium giganteum* a bainha é esclerenquimática e apresenta extensão (Fig. 9m-o).

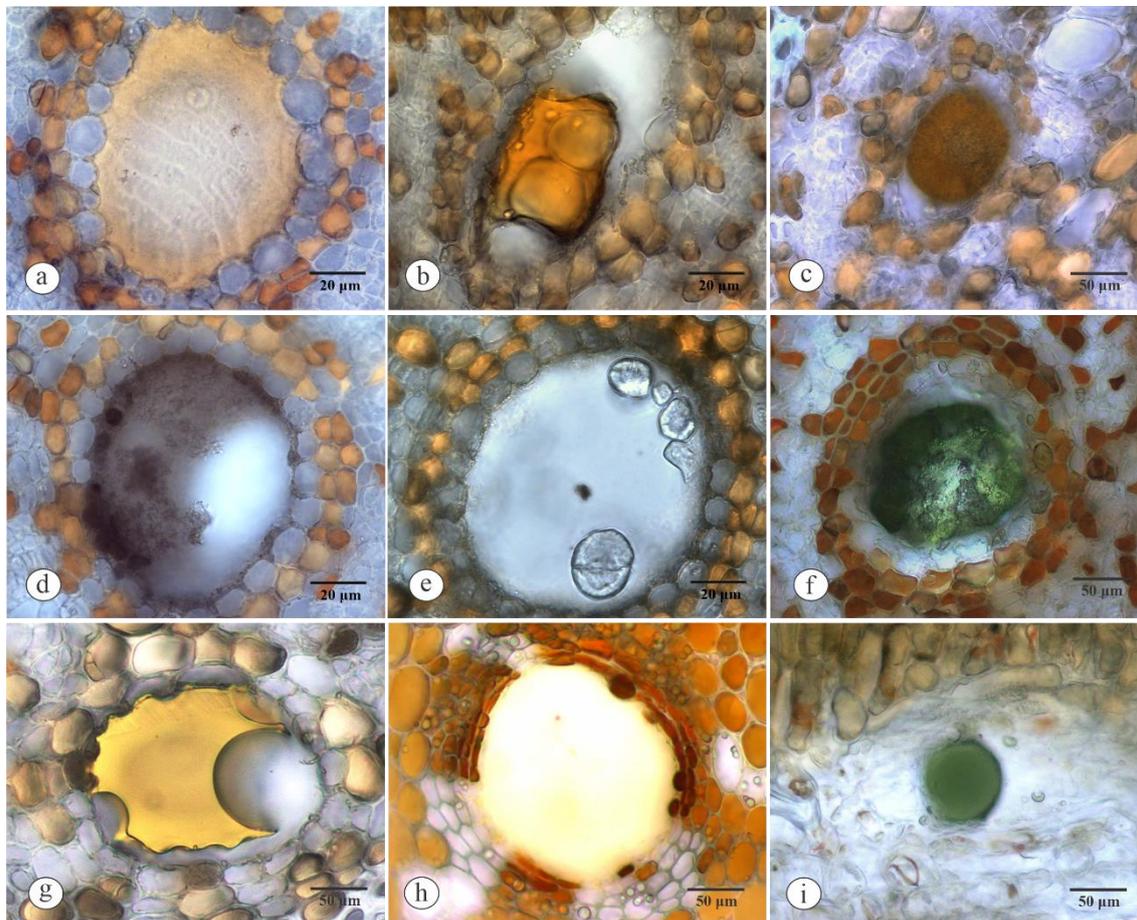
Figura 9 - Secções transversais do padrão de distribuição dos ductos na nervura central de *Anacardium giganteum* (a-c, k), *Anacardium occidentale* (d-f, j), *Tapirira obtusa* (g-i, l, m) e no mesofilo de *Tapirira obtusa* (n) e *Anacardium giganteum* (o).



Legenda: (a, d, g) aspectos gerais do padrão de distribuição dos ductos (setas verdes indicam ductos corticais). (b, e, h) ductos do parênquima central (dpc). (c, f) ductos corticais (dc). (i) parênquima central (pc) da nervura sem ductos. (j) ductos laterais (dl) do floema. (k) ducto acessório (da) na região de transição do córtex para o mesofilo. (l) ducto solitário (ds). (m) três ductos associados ao floema. (n) ducto inserido em um feixe vascular circundado por uma bainha parenquimática (bp) que não se estende até a epiderme. (o) ducto inserido em um feixe vascular circundado por uma bainha esclerenquimática (be) que se estende até a epiderme.

Em todas as espécies, a secreção acumulada no lúmen dos ductos possui aspecto físico e coloração distinta em secções transversais da nervura central e do mesofilo não submetidas a testes histoquímicos (Fig. 10a-i). Na nervura central, a maioria dos ductos do floema acumula no lúmen secreção com aspecto heterogêneo (Fig. 10a-f), enquanto o aspecto homogêneo quase não é evidenciado (Fig. 10g). Em todas as espécies, o aspecto físico da secreção acumulada no lúmen dos ductos do parênquima central é mais homogêneo (Fig. 10h) do que heterogêneo (Fig. 10a-f). Nos ductos corticais de *Anacardium giganteum* esse padrão se repete (Fig. 10h). A coloração da secreção acumulada no lúmen dos ductos do floema de *Anacardium occidentale* é a mais diversa, com vários tons de bege (Fig. 10a), amarelo âmbar (Fig. 10b), castanho (Fig. 10c), preto (Fig. 10d), incolor (Fig. 10e) e amarelo claro (Fig. 10g-h). Em *Anacardium giganteum* a coloração da secreção dos ductos do floema varia entre amarelo âmbar (Fig. 10b), preto (Fig. 10d) e verde (Fig. 10f). Em *Tapirira obtusa* é predominantemente verde (Fig. 10f) e em alguns casos, amarelo âmbar (Fig. 10b) e castanho (Fig. 10c). Em todas as espécies, a coloração da secreção acumulada no lúmen dos ductos do parênquima central varia de incolor (Fig. 10e) a amarelo claro (Fig. 10h). No mesofilo, a secreção é heterogênea e de coloração amarelo âmbar em *Anacardium occidentale* e *Anacardium giganteum* (Fig. 10b), enquanto *Tapirira obtusa* o aspecto é predominantemente homogêneo, de coloração verde (Fig. 10i) e em alguns casos a secreção apresenta aspecto heterogêneo e de coloração amarelo âmbar com verde (Fig. 10b, i).

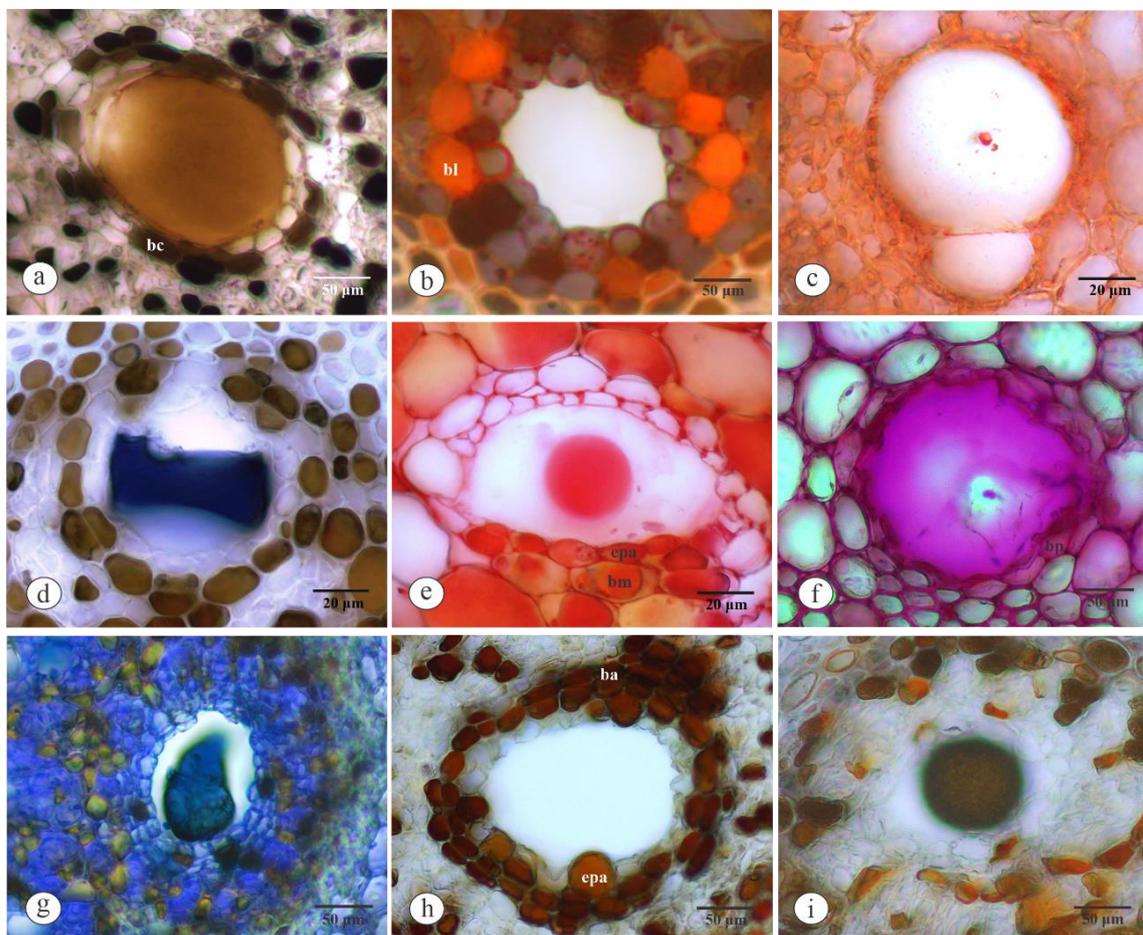
Figura 10 - Aspecto físico e coloração da secreção dos ductos do floema (a-g), do parênquima central (h) em secções transversais da nervura central de *Anacardium occidentale* (a-e, g), *Anacardium giganteum* (f-h) e do mesofilo de *Tapirira obtusa* (i) não submetidas aos testes histoquímicos (branco).



Legenda: (a-f) secreção com aspecto heterogêneo. (g-i) secreção com aspecto homogêneo. (a) secreção bege. (b) secreção amarela âmbar. (c) secreção de coloração castanha. (d) secreção preta. (e) secreção incolor. (f, i) secreção verde. (g-h) secreção amarela com tons claros.

Tanto na nervura, quanto no mesofilo foram observados poucos ductos na fase secretora com lúmen completamente preenchido de secreção (Fig. 11a) e células epiteliais com protoplasto denso (Fig. 11e, h). Em contraposição, a maioria dos ductos estavam na fase pós-secretora com células epiteliais murchas (Fig. 11c) ou colapsadas (11f). Em todas as espécies, foi detectado a presença de substâncias fenólicas (Fig. 11a), lipídios totais (Fig. 11b-c), óleos essenciais (Fig. 11d), mucilagem (Fig. 11e), polissacarídeos neutros (Fig. 11f), proteínas (Fig. 11g) e alcaloides nos ductos da nervura central e do mesofilo (Fig. 11h-i), independente do aspecto físico da secreção. Na nervura central de todas as espécies, foi observado que os ductos do floema são mais especializados em sintetizar lipídios (Fig. 11b) e óleos essenciais (Fig. 11d) misturados com substâncias fenólicas (Fig. 11a), mucilagem (Fig. 11e), polissacarídeos neutros (Fig. 11f), proteínas (Fig. 11g) e alcaloides (Fig. 11h-i). Enquanto os ductos do parênquima central e do córtex de *Anacardium giganteum* são mais especializados em sintetizar mucilagem (Fig. 11e) e polissacarídeos (Fig. 11f) misturados com substâncias fenólicas (Fig. 11a), proteínas (Fig. 11g), alcaloides (Fig. 11h-i) e com menos frequência pequenas frações de lipídios e óleos essenciais (Fig. 11c-d). Na bainha parenquimática dos ductos, foi observada a presença de substâncias fenólicas (Fig. 11a), lipídios (Fig. 11b), mucilagem (Fig. 11e), polissacarídeos (Fig. 11f) e alcaloides (Fig. 11h). Em alguns ductos do floema da nervura foram detectadas células do epitélio e da bainha com lipídios e nesta mesma região idioblastos com outro tipo de substância (Fig. 11b).

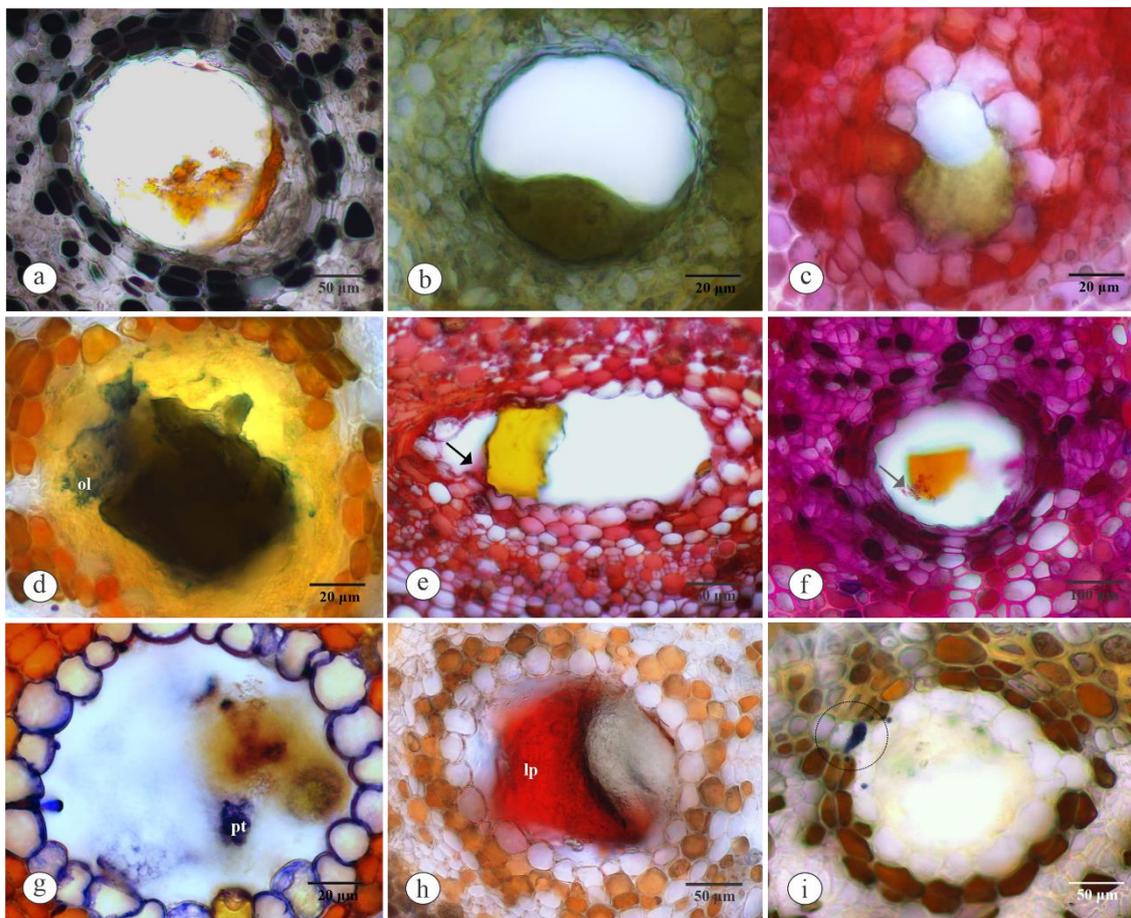
Figura 11 - Caracterização histoquímica da secreção dos ductos do floema (a-b, d, g-h), do parênquima central (c, e, f) em secções transversais da nervura central de *Anacardium giganteum* (a, h), *Tapirira obtusa* (c, f-g), *Anacardium occidentale* (b, e) e do mesofilo de *Tapirira obtusa* (i).



Legenda: (a) reação positiva para substâncias fenólicas (Cloreto Férrico). (b-c) reação positiva para lipídios totais (Sudan IV). (g) reação positiva para óleos essenciais (reagente de NADI). (e) reação positiva para mucilagem (Vermelho de Rutênio). (f) reação positiva para polissacarídeos neutros (reagente de Schiff/Ácido periódico - PAS). (g) reação positiva para proteínas (Azul Brillhante de Coomassie). (h-i) reação positiva para alcaloides (reagente de Dragendorff). Abreviações: bc - bainha com substâncias fenólicas; bl - bainha com lipídios; epa - epitélio secretor ativo; bm - bainha com mucilagem; ba - bainha com alcaloides.

Na nervura central, foram observadas em algumas amostras óleos essenciais parcialmente revelados com Nadi (Fig. 12d), mucilagem revelada com vermelho de Rutênio (Fig. 12e), polissacarídeos neutros revelados pelo reagente de Schiff/Ácido periódico – PAS (Fig. 12f) e proteínas reveladas pelo Azul Brilhante de Coomassie (Fig. 12g) nos ductos do floema em *Anacardium giganteum*. Em *Anacardium occidentale*, a secreção do lúmen não foi constatada mucilagem, pela testagem com o vermelho de Rutênio (Fig. 12c). Em alguns casos, a secreção do lúmen de *Anacardium occidentale* foi parcialmente revelada com Sudan IV para lipídios (Fig. 12h), com Vermelho de Rutênio para mucilagem (Fig. 12e) e com Azul Brilhante de Coomassie para proteínas (Fig. 12g). Na bainha parenquimática dos ductos do floema de *Anacardium giganteum* foi observada a presença de óleos essenciais revelados com Nadi em uma célula individualizada (Fig. 12i). Em todas as espécies, foi observado em algumas amostras que a secreção do lúmen do floema não testou positivo para substâncias fenólicas (Fig. 12a), óleos essenciais (Fig. 12b) e mucilagem (Fig. 12c).

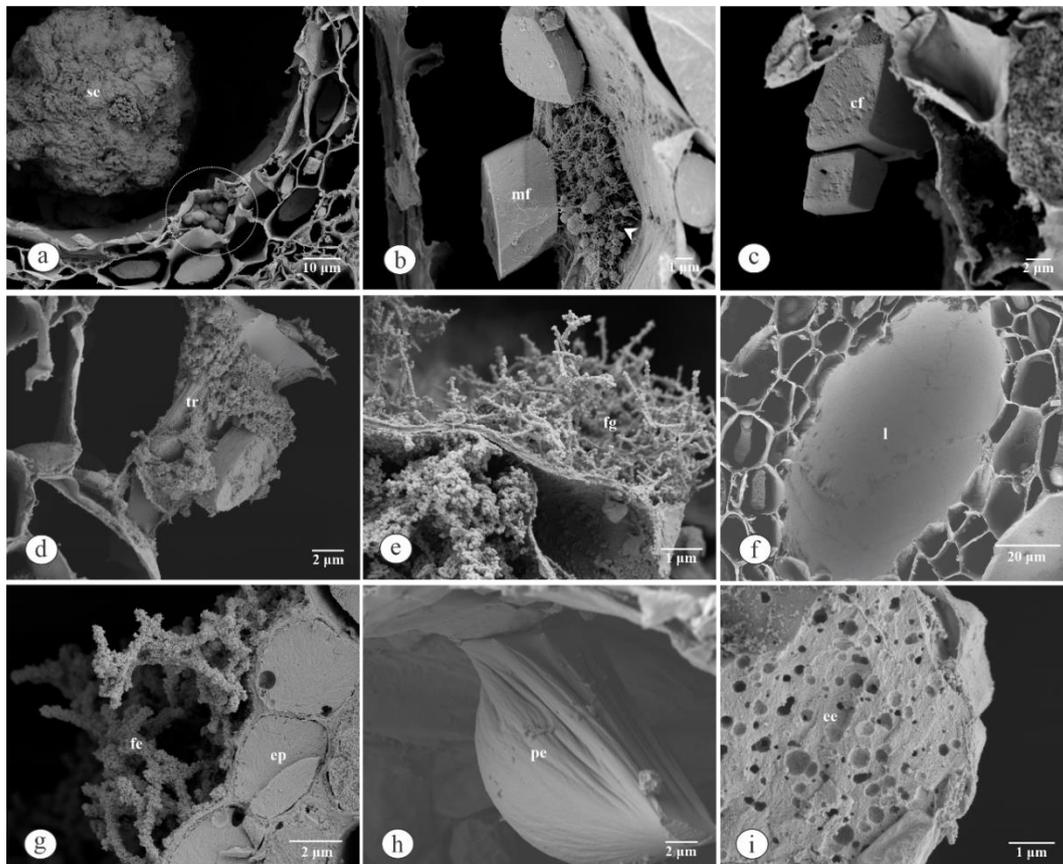
Figura 12 - Secções transversais de ductos do floema da nervura central de *Anacardium giganteum* (a, c, d, i, f, g), *Anacardium occidentale* (e, h) e *Tapirira obtusa* (b).



Legenda: (a) secreção do lúmen não corada para substâncias fenólicas; (b) óleos essenciais; (c) e mucilagem. (d) secreção parcialmente corada para óleos essenciais (ol); (e) mucilagem (seta preta); (f) polissacarídeos (seta cinza); (g) proteínas (pt) e (h) lipídios (lp). (i) célula individualizada da bainha parenquimática com óleos essenciais (círculo).

A micromorfologia da secreção acumulada no lúmen dos ductos de todas as espécies, varia entre esférica de textura enrugada (Fig. 13a), monolítica facetada (Fig. 13b), fasciculada e granular enrugada (Fig. 13b), cúbica facetada (Fig. 13c), trabécula com emaranhado de grânulos e filamentos (Fig. 13d), fasciculada com filamentos finos e granulares (Fig. 13e), lisa (Fig. 13f), fasciculada com filamentos espessos e granulares (Fig. 13g) e pastosa com textura levemente estriada (Fig. 13h). Entre as espécies, *Tapirira obtusa* foi a espécie em que mais apresentou micromorfologia pastosa (Fig. 13h). Em contraposição, *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale* é mais robusta (Fig. 13a-c, e, g). Nos ductos do parênquima central da nervura de *Anacardium giganteum*, a micromorfologia da secreção é lisa (Fig. 13f). Em todas as espécies, as células epiteliais foram observadas com secreção de aspecto granular (Fig. 13a), pastoso (Fig. 13g) e esponjoso (Fig. 13i).

Figura 13 - Morfologia da secreção acumulada no lúmen dos ductos do floema (a-e, i), do parênquima central (f) da nervura central de *Anacardium giganteum* (a-b, f), *Anacardium occidentale* (c, e), *Tapirira obtusa* (d, i) e do mesofilo de *Anacardium occidentale* (g) e *Tapirira obtusa* (h) em Microscopia Eletrônica de Varredura.

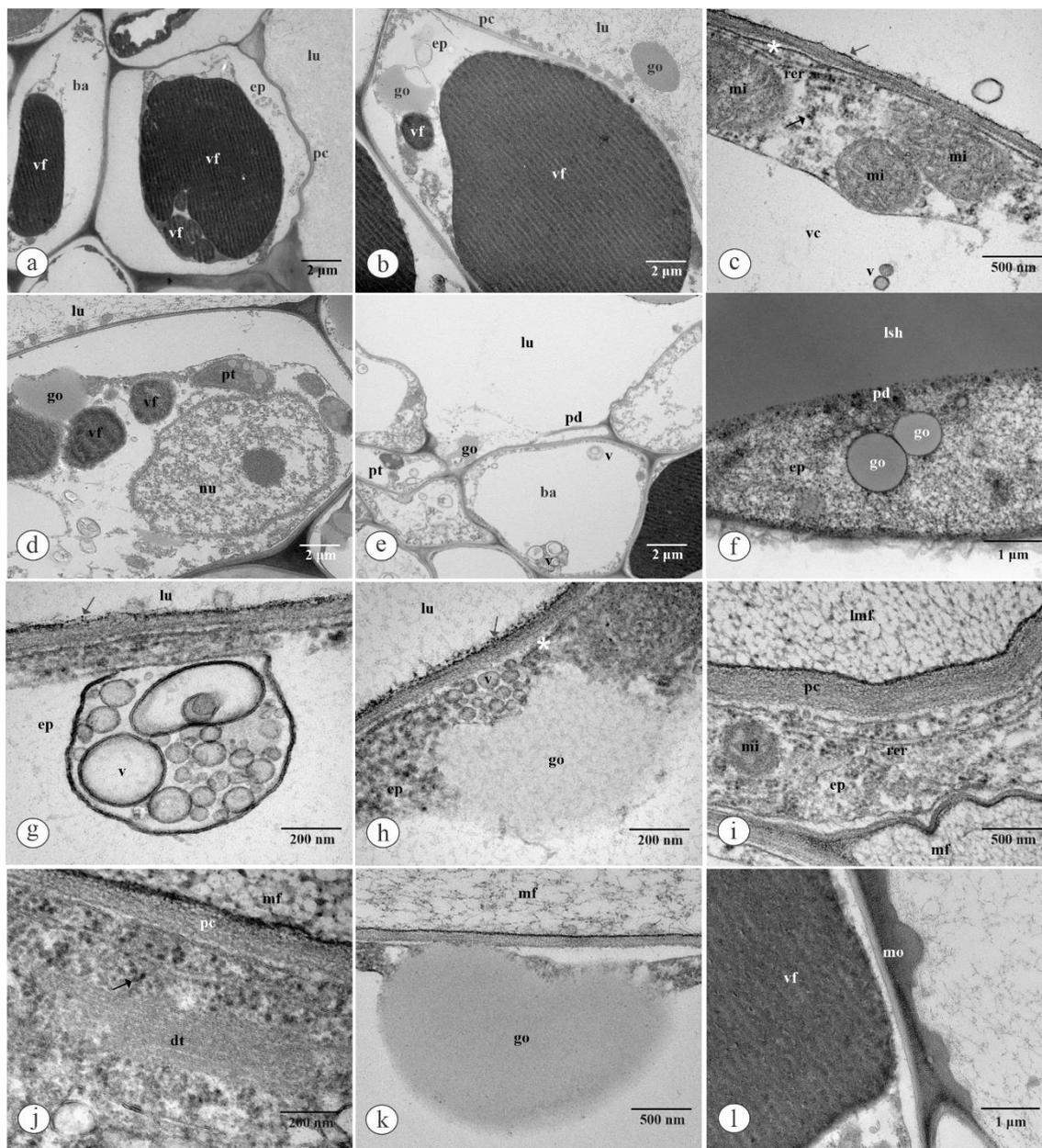


Legenda: (a) secreção esférica enrugada (se) e secreção granular no epitélio (círculo). (b) monolítica facetada (mf). (b) fasciculada e granular enrugada (seta preta). (c) cúbica facetada (cf). (d) trabécula com emaranhado de grânulos e filamentos (tr). (e) fasciculada com filamentos finos e granulares (fg). (f) liso (l). (g) fasciculada com filamentos espessos e granulares (fe) e epitélio (ep). (h) com textura levemente estriada (pe). (i) epitélio esponjoso (ee).

Sítios de síntese e mecanismos de liberação de secreção dos ductos

Na fase adulta, a atividade secretora das células epiteliais de todas as espécies é mais restrita, tanto na nervura central, quanto no mesofilo (Fig. 14a-c, d, f, i, j). Em todas as espécies, as células epiteliais possuem paredes delgadas retas ou sinuosas (Fig. 14a-b), uma membrana plasmática sinuosa (Fig. 14c, h), um alto grau de vacuolização (Fig. 14a-e), citoplasma periférico (14c), baixa densidade de mitocôndrias (Fig. 14c, i), ribossomos (14c, i-j), retículo endoplasmático rugoso (Fig. 14c, i-j), plastídios (14d-e), dictiossomos (14j), núcleo (14d) e vacúolos fenólicos com tamanhos que varia de grande a pequeno (14a-b, d). A fusão de vesículas secretoras com a membrana plasmática (Fig. 14g) e o acúmulo de vesículas próximas da parede celular indicam uma liberação de secreção do protoplasto da célula pelo processo granulócrico (Fig. 14h). O acúmulo de material fibrilar, pequenos grânulos de material osmofílico ou gotas de óleo na membrana plasmática, parede celular e no lúmen indicam uma liberação de secreção do protoplasto da célula pelo processo écrino (Fig. 14b-c, g-l). A desintegração da parede celular das células epiteliais dos ductos do floema da nervura e do mesofilo de *Tapiria obtusa* indica uma liberação de secreção do tipo holócrina (14e-f). As células da bainha mostram grandes reservatórios de substâncias fenólicas (Fig. 14a-b, e).

Figura 14 - Microscopia Eletrônica de Transmissão dos ductos da nervura central (a-e, g-l) de *Anacardium giganteum* (a, k), *Anacardium occidentale* (b-d, l), *Tapiria obtusa* (e, g, h-j) e do mesofilo de *Tapiria obtusa* (f).



Legenda: (a-b) células do epitélio (ep) com parede celular (pc) sinuosa ou reta, vacúolos fenólicos (vf) grandes e pequenos e gota de óleo (go). (c) parede celular com grânulos osmofílico (seta cinza), membrana plasmática (*), retículo endoplasmático rugoso (rer), ribossomos (seta preta), mitocôndrias (mi), vacúolo (vc) e vesículas (v). (d) célula do epitélio perdendo a atividade secretora com plastídios (pt) e núcleo (nu). (e-f) parede celular desintegrando (pd). (g) parede celular com grânulos osmofílico (seta cinza) e vesícula. (h) membrana plasmática rompida e várias vesículas secretoras próximas a parede (v). (i) lúmen com material fibrilar (lmf) e célula da bainha (mf). (j) célula do epitélio com dictiossomo (dt). (k) lúmen com material fibrilar e óleo. (l) parede celular com material osmofílico (mf).

4.3 Discussão

A descrição anatômica, histoquímica e ultraestrutural dos ductos secretores em espécies de enclaves de Cerrado da Amazônia e as interações planta-ambiente são novidades deste estudo, visto que não há estudos pontuais que dão ênfase a esses atributos. Na literatura, existem alguns relatos destas estruturas em *Anacardium occidentale* (REIS et al., 2014; RAMOS et al., 2016), porém, neste estudo foram realizadas as primeiras descrições de ductos em *Anacardium giganteum* e *Tapirira obtusa*. Nas espécies estudadas, os ductos consistem de um epitélio unisseriado e são circundados por uma bainha parenquimática que pode ser unisseriada ou multisseriada. Em Anacardiaceae, o padrão comumente encontrado é de ductos com epitélio unisseriado e uma bainha parenquimática composta por uma ou duas camadas de células (SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006; TÖLKE et al., 2021). No entanto, foi observado um maior investimento em camadas múltiplas na bainha parenquimática nos ductos da nervura central em *Anacardium occidentale*, podendo chegar até quatro camadas. Royo et al. (2015) relataram ductos associados ao floema com células epiteliais circundadas por uma bainha parenquimática composta por quatro camadas de células em *Anacardium humile* A.St.-Hil. (Anacardiaceae). No entanto, estas informações continuam desconhecidas e negligenciadas nas descrições dos ductos na maioria dos estudos (ex., REIS et al., 2014; RAMOS et al., 2016; MACHADO et al., 2019).

Evidências estruturais em ductos secretores de Anacardiaceae, Burseraceae e Fabaceae têm revelado que a bainha parenquimática desempenha um papel importante na manutenção e substituição de células não funcionais do epitélio (MACHADO; CARMELLO-GUERREIRO, 2001; RODRIGUES et al., 2011a, b; LEITE et al., 2014; PALERMO et al., 2018). Nesse sentido, este estudo sugere que a bainha que circunda o epitélio secretor dos ductos pode estar produzindo novas células epiteliais que atuam na reposição de células epiteliais não funcionais durante a fase adulta dos ductos. Ademais, números diferentes de camadas múltiplas foram observados na bainha parenquimática armazenando terpenos, substâncias fenólicas, mucilagem e alcaloides.

Neste estudo foi identificado um sistema ramificado de ductos oriundos da coalescência lateral de ductos adjacentes e anastomose. Em *Anacardium giganteum* os ductos do mesofilo surgem a partir do meristema fundamental e o desenvolvimento do lúmen é iniciado por esquizogênese, seguido do processo esquizolisígeno. Todos esses

dados corroboram com Machado e Carmello-Guerreiro (2001) e Tölke et al., (2021) ao analisar ductos secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae.

Na nervura central, o padrão de distribuição, a quantidade, o tamanho e o formato do lúmen dos ductos são atributos diagnósticos das espécies. Em *Anacardium giganteum* foi frequente a presença de ductos corticais e rara a ocorrência em *Anacardium occidentale*. Esses dados adicionais são importantes para ampliar o conhecimento para o gênero *Anacardium* L. (Anacardiaceae), com base no padrão de distribuição, visto que apenas um estudo relata a presença de ductos corticais na espécie *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Anacardiaceae) (PAULA; ALVES, 1993). Diferente, em outros estudos não foram observados a presença de ductos na nervura central (REIS et al., 2014; RAMOS et al., 2016).

Todas as espécies estudadas compartilham ductos associados ao floema, corroborando com as descrições realizadas para a família (SAMPIETRO et al., 2017; EMINAGAOGLU; OZCAN, 2018; MACHADO et al., 2019; LEITE et al., 2022). Em contraposição, nas espécies estudadas foram observados ductos localizados no parênquima central da nervura. No entanto, esse atributo não é visto em outras espécies de Anacardiaceae, como *Schinopsis lorentzii* (Griseb.) (SAMPIETRO et al., 2017), *Rhus chinensis* Mill. (EMINAGAOGLU; OZCAN 2018), *Schinus molle* L. (MACHADO et al., 2019) e *Astronium fraxinifolium* Schott (LEITE et al., 2022). Ademais, foi relatado apenas em um estudo de ductos localizados no parênquima central da nervura de *Mangifera indica* L. (SÁ et al., 2019).

Na nervura central, também foi observada uma variação na quantidade, no tamanho e no formato do lúmen dos ductos entre as espécies. Essa variação pode ter sido moldada por filtros ambientais, visto que as condições do ambiente podem influenciar nestes atributos (LANGENHEIM, 2003; MOREIRA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2014). Neste contexto, Rodrigues et al. (2014) testaram o efeito da luz e da temperatura sob a quantidade de ductos secretores e cavidades em *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae) e detectaram um aumentando significativo e conseqüentemente uma melhor capacidade de proteção das plantas a estas condições. Medri et al. (2007) constataram uma redução de ductos e do formato do lúmen em ductos secretores localizados no eixo vegetativo de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae) submetidas ao alagamento. Outros fatores como, ataque de herbívoros e patógenos, lesões mecânicas, disponibilidade hídrica, de nutrientes e o próprio histórico evolutivo das duas estruturas secretoras, têm sido relatados como fatores que podem afetar a quantidade de ductos e

cavidade e o tamanho do lúmen (PHILLIPS; CROTEAU, 1999; LANGENHEIM, 2003; MEDRI et al., 2007; MOREIRA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2014; LANGE, 2015).

Levando em consideração estes fatores, foi observado que a diferença encontrada nos ductos secretores das espécies estudadas, com relação a quantidade, o tamanho e formato do lúmen pode ser explicada pelas propriedades edáficas do solo e pelo próprio histórico evolutivo das fitofisionomias estudadas. Zortéa (2018) relata que a savana amazônica florestada, área de ocorrência de *Anacardium giganteum*, a textura do solo é mais argilosa que a savana amazônica típica, área de ocorrência de *Tapirira obtusa*. Contudo, quando comparadas, a textura argilosa do solo da savana amazônica florestada revela uma capacidade maior de retenção de água no solo. Em contraposição, a área de ocorrência de *Anacardium occidentale* é sobre afloramentos rochosos, em solos rasos e de textura arenosa, onde a água é lixiviada com rapidez. No entanto, no período chuvoso, grande parte do solo fica completamente inundada (PESSOA et al., 2021; observação pessoal dos autores). Neste sentido, foi observado que a maior quantidade de ductos de *Anacardium giganteum* e *Tapirira obtusa* pode estar relacionada com a maior capacidade do solo da savana amazônica florestada e típica em reter água (ZORTÉA, 2018) e a menor quantidade de *Anacardium occidentale* com baixa capacidade da savana amazônica rochosa em reter água (PESSOA et al., 2021). No entanto, é importante considerar que a diferença encontrada pode ser também uma predisposição genética de cada espécie.

Importante destacar que as plantas das fitofisionomias estudadas estão sujeitas a uma radiação solar maior por se tratar de uma vegetação aberta e a temperaturas extremas, principalmente, a savana amazônica rochosa que é mais aberta que as demais fitofisionomias (ARIANO et al., 2022). Essa diferença estrutural de quantidade, tamanho e formato do lúmen dos ductos de todas as espécies pode também ser explicada pela influência da luz e da temperatura conforme relatado por Rodrigues et al. (2014) e pela influência de micro-organismos. Este fato pode ser explicado pelo clima da Amazônia que é propício para a proliferação de insetos e patógenos. Além disso, a maior quantidade de ductos em *Tapirira obtusa* e *Anacardium giganteum* e o maior tamanho dos ductos laterais do floema de *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale* podem indicar uma maior produção de substâncias biologicamente ativas como terpenos, substâncias fenólicas, mucilagem e alcaloides. Estas substâncias podem proteger as espécies contra herbívoros, patógenos e garantir o estabelecimento das espécies em diversos ambientes tropicais, conforme sugerido por Palermo et al. (2017) em *Taralea oppositifolia* Aubl. (Fabaceae). Estas informações corroboram com os dados obtidos em Calophyllaceae

onde os autores sugerem que estes atributos podem estar promovendo o condicionamento físico e o estabelecimento das espécies em savanas amazônicas (Capítulo 1 desta tese).

Lacchia e Carmello-Guerreiro (2009) relataram que a secreção heterogênea dos ductos de Anacardiaceae é composta de substâncias lipofílicas e hidrofílicas. Neste sentido, associamos que o aspecto heterogêneo da secreção acumulada nos ductos do floema pode estar relacionado com uma síntese maior de substâncias terpênicas, fenólicas e de alcaloides, enquanto o aspecto homogêneo dos ductos localizados na região cortical e central da nervura pode indicar uma síntese maior de substâncias hidrofílicas como mucilagem. Resultado semelhante foi detectado por Tölke et al. (2021), por este motivo, classificamos os ductos do floema como ductos de resina *sensu lato* e os da região cortical e central como ductos de goma.

Apesar de não ter sido realizado o estudo ontogenético dos ductos secretores, foi possível associar que os ductos do floema da nervura são de origem procambial, enquanto os ductos do parênquima central e cortical são originados pelo meristema fundamental. Este fato explica a ocorrência de ductos de resina *sensu lato* no floema e de ductos de goma no parênquima central e cortical (TÖLKE et al., 2021). Essa relação origem e o metabolismo dos ductos secretores também foi inferida por Costa et al. (2021) em *Kielmeyera apparicana* Saddi (Calophyllaceae). Estas implicações funcionais são novas e merecem serem mais exploradas em Calophyllaceae, Anacardiaceae e em outras famílias botânicas.

Na literatura, a bainha parenquimática dos ductos sempre é mencionada como um tecido produtor de substância fenólica (TÖLKE et al., 2021). No entanto, neste estudo foi identificado que a bainha não consiste apenas de substâncias fenólicas, mas também de terpenos, mucilagem e alcaloides. Outro dado importante é que em um mesmo ducto, as células do epitélio e da bainha não sintetizam ao mesmo tempo apenas terpenos, mas pode sintetizar também outras substâncias adicionais (ver Fig. 6b). Resultado semelhante foi relatado por Fahn (1988).

Levando em consideração a função dos terpenos, substâncias fenólicas, mucilagem, alcaloides e das proteínas de defesa, é sugerido que a presença destas substâncias nos ductos das espécies estudadas atue como mecanismo de defesa química contra o ataque de herbívoros, patógenos, lesões físicas e ao déficit hídrico, corroborando com vários autores (PHILLIPS; CROTEAU 1999; LANGENHEIM, 2003; MIGUEL et al., 2006; MUMM; HILKER 2006; BEZERRA et al., 2018; GALLOWAY et al., 2020). Como as espécies estudadas estão sujeitas a altos índices de radiação solar, é sugerido

que a síntese de substâncias fenólicas provavelmente esteja desempenhando um papel importante de proteção das plantas contra o excesso luz, corroborando com estudos de Castro; Demarco (2008) e Silva et al. (2016). A presença de substâncias hidrofílicas, como polissacarídeos e mucilagem, pode estar suprindo a necessidade hídrica das plantas em períodos prolongados de seca e de temperaturas extremas e, conseqüentemente, evitando a dessecação das folhas (SAWIDIS, 1998; SILVA et al., 2016; GALLOWAY et al., 2020).

Além destas interações, é importante destacar que a presença de terpenos voláteis, como os óleos essenciais diagnosticados neste estudo pode exercer efeito alelopático mediado pela decomposição das folhas no solo e, conseqüentemente pode afetar a microbiota do solo. Ademais, ao serem volatilizados por lesões físicas pode atuar como sinalizadores químicos na polinização, bem como reduzir o consumo alimentar de mamíferos de grande porte devido a ingestão destas substâncias que inibe a atividade bacteriana no rúmen do animal (GOTTLIEB; SALATINO, 1987; GONÇALVES-SOUZA et al., 2018). De modo geral, as espécies estudadas crescem em solos arenosos, com baixa retenção de água, períodos prolongados de seca e a elevados níveis de precipitação em uma determinada época do ano, o que ajuda na proliferação de insetos e micro-organismos (PESSOA et al., 2021; ARIANO et al., 2022). Neste contexto, os dados histoquímicos deste estudo indicam possíveis interações nos em savanas amazônicas, como planta-micróbio, planta-inseto, planta-planta e planta animal.

Entre as espécies, *Anacardium occidentale* foi a espécie que mais investiu em atributos anatômicos e histoquímicos dos ductos. *Anacardium occidentale* é uma espécie nativa que mantém populações com altas abundâncias na savana amazônica rochosa e em fitofisionomias do Cerrado (SANTOS et al., 2012; ABADIA et al., 2018; PESSOA et al., 2021). Neste contexto, a representatividade desta espécie em fitofisionomias savânicas pode também estar relacionada com capacidade aclimatativa dos ductos de investir em defesa física e química e de promover interações ecológicas mediadas por substâncias volatilizadas.

Na nervura central, a presença de ductos corticais, de feixes acessórios, de dois grandes ductos laterais situados no floema, de um único ducto associado ao floema, a maior densidade de ductos no parênquima central, as camadas múltiplas da bainha parenquimática, o formato do lúmen irregular, a diversidade de cores da secreção em amostras do branco e a micromorfologia com predominância heterogênea da secreção de *Anacardium giganteum* e *Anacardium occidentale* são atributos com valor diagnóstico

para *Anacardium*. Enquanto, a ausência de ductos corticais em *Tapirira obtusa*, a presença frequente de um a três ductos associados ao floema, a maior densidade de ductos, a presença de bainha unisseriada, o formato do lúmen de isodiamétrico a circular, a predominância de secreção verde em amostras do branco e a micromorfologia da secreção com a predominância do aspecto homogêneo são atributos diagnósticos de *Tapirira obtusa*. No mesofilo, o sistema ramificado de ductos finos nas espécies de *Anacardium* e de ductos largos em *Tapirira obtusa*, a presença de ductos associados ao floema circundados por uma bainha esclerenquimática com extensão de bainha em *Anacardium* e a presença de ductos associados ao floema circundados por uma bainha parenquimática sem extensão de bainha em *Tapirira obtusa* são os atributos diagnósticos destas espécies. Atributos anatômicos de ductos, como ocorrência, localização, quantidade e tamanho têm sido promissores para delimitar espécies e gêneros (CASTRO et al., 1997; BOMBO et al., 2012; PALERMO et al., 2017; HARATYM et al., 2020) corroborando com este estudo.

Na nervura central, foi observado que a micromorfologia da secreção acumulada no lúmen dos ductos do floema é mais robusta com formato que variam entre monolítica facetada, esférica de textura enrugada, granular, cúbica facetada, trabécula e fasciculada, sendo a maior variação atribuída a *Anacardium occidentale*, seguida de *Anacardium giganteum*. Em contraposição, a micromorfologia da secreção dos ductos do parênquima cortical e central é mais lisa. Embora existam evidências que relatem a interferência de solventes utilizados durante o processamento do material botânico em parâmetros físicos e químicos das amostras (PAIVA, 2005), sugere-se que a micromorfologia robusta detectada na secreção dos ductos do floema pode estar relacionada com o aspecto heterogêneo e com a capacidade dos ductos em sintetizar mais terpenos, enquanto a micromorfologia lisa com o aspecto homogêneo e com a capacidade dos ductos do parênquima cortical e central de sintetizar mais substâncias hidrofílicas. Essa relação corrobora com a variação histoquímica mostrada neste estudo.

Os atributos ultraestruturais das células epiteliais, como citoplasma periférico, poucas organelas, inúmeras vesículas, fusão de vesículas, alto grau de vacuolização e acúmulo de material osmiofílico na membrana plasmática e na parede celular são atributos típicos de células epiteliais no estágio pós-secretor. Estes dados corroboram com Peng et al. (2012), Turner e Lange (2015) e com o primeiro capítulo desta tese, e difere dos dados obtidos em células epiteliais com atividade secretora ativa, onde o citoplasma

é denso, rico em plastídios, mitocôndrias, retículo endoplasmático, dictiossomas e com núcleo evidente (GOLÇAVES-SOUZA et al., 2018).

Neste estudo, os produtos da atividade secretora dos ductos saem do protoplasto e atravessam a membrana plasmática por meio de transportadores (mecanismo écrino), fusão com vesículas membranosas (mecanismo granulócrino) ou pela desintegração da célula (holócrino). Estes mecanismos corroboram com Lacchia e Carmello-Guerreiro (2009) e Machado e Carmello-Guerreiro (2001) em ductos secretores de órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae. No entanto, Paiva (2016) relata que esses mecanismos não respondem como essas substâncias chegam à superfície externa do corpo da planta. Neste sentido, Paiva (2016) sugeriu um modelo de ciclo celular desenvolvido com base em observações de diferentes sistemas secretores mostrando processos envolvidos tanto no processo secretório quanto na liberação de produtos de secreção de estruturas secretoras externas. Este mecanismo pode ser analisado também em células de epitélio dos ductos. Nossos dados mostram mudanças no volume e alterações de organelas no protoplasto das células do epitélio observadas na passagem destas células de processo secretor a pós-secretor. Esta alteração está condicionada a alterações em vacúolos, nas organelas e no núcleo. O protoplasto parece se degradar a medida que o processo secretor se acaba. Porém, mais estudos são necessários para desvendar todo o mecanismo de externalização da secreção para o lúmen dos ductos.

4.4 Conclusões

Nossas análises revelam pela primeira vez descrições inéditas de aspectos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais de ductos secretores em três espécies de Anacardiaceae. Estas informações são uteis para compreender a arquitetura, a vida útil e o papel ecológico de ductos secretores em espécies de savanas amazônicas. A organização anatômica dos ductos, a histoquímica e a micromorfologia é distinta entre espécies estudadas, podendo, estes atributos serem usados como diagnósticos. Os metabólitos da secreção são semelhantes e dependendo da localização dos ductos podem sintetizar mais terpenos ou substâncias hidrofílicas. A secreção é sintetizada nas células epiteliais e o mecanismo de secreção écrino, granulócrino e holócrino. As substâncias sintetizadas

pelos ductos indicam que as propriedades do solo, a radiação solar, temperatura, a proliferação de micro-organismos, herbívoros e o próprio histórico evolutivo das savanas amazônicas são possíveis filtros ambientais que podem estar contribuindo para que os ductos das espécies invistam em defesa física e química. *A. occidentale* foi a espécie que mais investiu na organização anatômica do ducto, na coloração da secreção e na micromorfologia. Adicionalmente, as substâncias sintetizadas pelos ductos sugerem ainda possíveis interações planta-micróbio, planta-inseto, planta-planta e planta-animal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As savanas amazônicas são áreas desconhecidas, pouco exploradas do ponto de vista científico, de difícil acesso e importantes para conservação por garantir serviços ecossistêmicos importantes, como a conservação de recursos hídricos, a disponibilidade de polinizadores e por abrigar espécies com potencial biotecnológico e para a produção de novos fármacos. No estado de Mato Grosso, o estudo dos atributos estruturais e funcionais das plantas desta fitofisionomia têm sido motivados a partir do levantamento florístico realizado por Pessoa et al. (2021) “Floristic composition, diversity and edaphic effects in two rocky savanna communities in the Amazon and Cerrado, Brazil”. A partir deste estudo, percebemos a necessidade de estudos que investigasse aspectos anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais de estruturas secretoras e realizamos uma intensa investigação da ocorrência de possíveis estruturas secretoras em plantas lenhosas pertencentes a duas savanas amazônicas com base no levantamento florístico de Zortéa (2018) e Pessoa et al. (2021).

Neste sentido, foram investigadas 76 espécies lenhosas, pertencentes a 29 famílias, sendo três objetos de estudo desta tese, Calophyllaceae, Anacardiaceae e Myrtaceae (Anexo 1). No entanto, devido aos problemas gerados e as restrições provocadas pela pandemia e o vírus Covid-19, com o fechamento de laboratórios e o não acesso aos equipamentos necessários para a continuidade deste estudo, não apresentamos os resultados anatômicos, histoquímicos e ultraestruturais do terceiro capítulo desta tese com cinco espécies de Myrtaceae: *Eugenia puniceifolia* (Kunt) DC., *Myrcia citrifolia* (Aubl.) Urb., *Myrcia guianensis* (Aubl.) D., *Myrcia splendens* (Sw.) DC. e *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. Nas 29 famílias, foi identificado sete tipos de estruturas secretoras, sendo ductos secretores, cavidades, idioblastos, tricomas, laticíferos e nectários (Anexo 1). Os ductos, as cavidades e os idioblastos foram identificados com base em secções transversais e longitudinais realizadas à mão livre do terço médio das folhas e coradas com azul de Astra, revelando a celulose e Fucsina básica, revelando a lignina (JOHANSEN, 1940), enquanto as demais estruturas foram identificadas utilizando de informações disponibilizadas na literatura. Estas informações são promissoras, e abrem espaços para que futuros trabalhos com estruturas secretoras sejam realizados, servindo também de subsídio para que outras lacunas do conhecimento sejam preenchidas.

O estudo anatômico, histoquímico e ultraestrutural de ductos e de cavidades secretores realizado em folhas de Calophyllaceae, Anacardiaceae e Myrtaceae é inédito e representam importantes contribuições estruturais, ecofuncionais e taxonômicas. A ocorrência, o tipo de estrutura secretora estudada (ductos e cavidades), a anatomia, o padrão de distribuição, a quantidade, o tamanho e os metabólitos da secreção são características conservadoras de cada família ou da espécie. A capacidade das espécies de Calophyllaceae e Anacardiaceae de investir em aspectos anatômicos e histoquímicos, em particular *Anacardium occidentale* mostra um potencial intrínseco de cada estrutura secretora de promover o condicionamento físico e o estabelecimento das plantas em savanas amazônicas expostas a severos filtros ambientais na região de transição entre a Amazônia e o Cerrado, além de promover novas investigações ecológicas e anatômicas.

A variação encontrada na localização das estruturas secretoras de Calophyllaceae, Anacardiaceae e Myrtaceae, a quantidade, o tamanho, o formato, o diâmetro do lúmen, os tipos de metabólitos e a diversidade de cores da secreção podem ser respostas específicas das espécies mediadas por filtros ambientais como, histórico evolutivo das áreas, propriedades do solo, disponibilidade hídrica, altos níveis de precipitação, temperatura, radiação solar e pelo ataque de herbívoros e patógenos. As evidências recentes mostram que as comunidades de plantas lenhosas da região sul da Amazônia, local de ocorrência das espécies de savanas estudadas, estão expostas a uma elevada sazonalidade de chuvas e altos níveis de radiação solar. Estes fatores adicionados aos solos pobres característicos desta fitofisionomia tornam-se propícios a ser povoada por plantas aclimatadas (SIMIONI et al., 2017; 2020; MARIMON et al., 2020; SULLIVAN et al., 2020; PESSOA et al., 2021; ARIANO et al., 2022).

No presente estudo, a espécies de Anacardiaceae mostram a presença de poucos ductos com atividade secretora e a uma quantidade maior de ductos evidenciados no estágio pós-secretor. Os ductos podem apresentar uma ou mais camadas de células parenquimáticas na bainha e a presença de dois ductos localizados na nervura central. Alguns ductos mostram ainda ser mais especializados em sintetizar terpenos misturados com outras classes de metabólitos, enquanto os outros ductos sintetizam mais polissacarídeos, podendo estar relacionados com o metabolismo da planta ou influenciados por filtros ambientais ou pela ação de ambos. Esta diversidade de substâncias encontradas nos ductos abre espaço para que futuras investigações sejam feitas relacionando aspectos estruturais e o metabolismo da planta e potencializa a

descobertas de moléculas com potencial biotecnológico e a descoberta de novos fármacos.

Apesar de não termos acompanhando os estágios iniciais do desenvolvimento das duas estruturas secretoras, as características ultraestruturais evidenciadas em células epiteliais no estágio pós-secretor são informações adicionais para o estudo de ductos e cavidades, visto que a maioria dos estudos analisam células no estágio secretor e revelam células com citoplasma denso e rico em organelas. No entanto, nossas análises aventam sugestões para que sejam feitas a ontogenia destas estruturas e a análise dos mecanismos envolvidos na liberação da secreção.

Nossa investigação com as 76 espécies tem subsidiado trabalhos de iniciação científica, mostram como nossa flora e principalmente a flora das savanas amazônicas ainda precisam ser desvendadas. A realização desta tese com a publicação do primeiro capítulo em uma revista internacional *Plant Biology* e com fator de impacto muito bom vislumbra a continuidade do que não foi respondido nesta pesquisa com o pós-doutorado. Nossas análises mostram ainda um conjunto de parâmetros que são úteis para compreender estratégias de defesa químicas das plantas para sobreviver às condições ambientais locais e fazer futuras previsões, mediante as mudanças de clima. Além disto, todos os nossos dados podem ser usados para criar políticas públicas que conservem as savanas amazônicas e na formação de pessoas por meio de publicações, livros ou cartilhas.

REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A. N. **Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas**. Ateliê editorial, São Paulo - SP: p. 159, 2003.
- ABADIA, A.C.; LENZA, E.; MEWS, H.A.; MARACAHIPES-SANTOS, L.; WINCK, N.; PESSOA, M.J.G. Savannas on two different substrates in Brazil have a similar species diversity, but distinct edaphic conditions and species composition. **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, p. 57-64, 2018.
- AGUILAR-ORTIGOZA, C.J.; SOSA, V. The evolution of toxic phenolic compounds in a group of Anacardiaceae genera. **Taxon**, v. 53, p. 357-364, 2004.
- ALENCAR, A.C.; TÖLKE, E.D., MAYER, J.L.S. New perspectives on secretory structures in *Clusia* (Clusiaceae – Clusiod clade): production of latex or resins? **Botany**, v. 98, p. 161-172, 2020.
- ALMEIDA, A.L.; PAIVA, E.A.S. Colleters in *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae): Anatomy and biology of the secretory process. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 258, p. 151443, 2019.
- AL-SAGHIR, M.G.; PORTER, D.M. Taxonomic Revision of the Genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 12-32, 2012.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; DE MORAES GONÇALVES, J.L.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, p. 711–728, 2013.
- APG - ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 1-20, 2016.
- ARIANO, A. P. R.; PESSOA, M. J. G.; RIBEIRO-JÚNIOR, N. G.; EISENLOHR, P. V.; SILVA, I. V. Da. Structural leaf attributes indicate different degrees of xeromorphism: New discoveries in co-occurring species of savanna and forest formations. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 286, p. 151972, 2022.
- ARIANO, A.P.R.; SILVA, I.V. Leaf anatomy of *Qualea parviflora* (Vochysiaceae) in three phytophysiognomies of the Mato Grosso State, Brazil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 45, p. 337-346, 2016.
- ARMBRUSTER W.S. The role of resin in Angiosperm pollination: ecological and chemical considerations. **American Journal of Botany**, v. 71, p. 1149-1160, 1984.
- AUBREVILLE, A. Étude écologique des principales formations végétales du Brésil, et contribution à la connaissance des forêts de l'Amazonie brésilienne. Nogent-sur-Marne, **Centre Technique Forestier Tropical**, França, p. 368, 1991.

BARBOSA, R.I.; CAMPOS, C.; PINTO, F.; FEARSIDE, P.M. 2007. The “Lavrados” of Roraima: biodiversity and Conservation of Brazil’s Amazonian Savannas. **Functional Ecosystems and Communities**, v.1, p.29-49, 2007.

BARBOSA, R.I.; FEARNESIDE, P.M. Above-ground biomass and the fate of carbon after burning in the savannas of Roraima, Brazilian Amazonia. **Forest Ecology and Management**, v. 216, p. 295-316, 2005.

BARBOSA, R.I.; NASCIMENTO, S.P.; AMORIM, P.A.F.; SILVA, R.F. Notas sobre a composição arbórea- arbustiva de uma fisionomia das savanas de Roraima, Amazônia Brasileira. **Acta Botanica Brasilica**, v.19, p-323-329, 2005.

BARTOLI, A.; GALATI, B.G.; TORTOSA, R.D. Anatomical studies of the secretory structures: Glandular trichomes and ducts, in *Grindelia pulchella* Dunal (Astereae, Asteraceae). **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 206, 1063–1068, 2011.

BATALHA, M. A. O cerrado não é um bioma. **Biota Neotropica**, v.1, p. 21-24, 2011.

BENAYOUN, J.; A FAHN. Intracellular transport and elimination of resin from epithelial duct-cells of *Pinus halepensis*. **Annals of Botany**, v. 43, p. 179–181, 1979.

BEZERRA, L.D.A.; CALLADO, C.; DA CUNHA M. Does an urban environment affect leaf structure of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)? **Acta Botânica Brasilica**, v. 34, p. 266-276, 2020.

BEZERRA, L.D.A.; MANGABEIRA, P.A.O.; OLIVEIRA, R.A.; COSTA, L.C.D.B.; DA CUNHA M. Leaf blade structure of *Verbesina macrophylla* (Cass.) F. S. Blake (Asteraceae): ontogeny, duct secretion mechanism and essential oil composition. **Plant Biology**, v. 20, p. 433-443, 2018.

BIERAS, A.C.; SAJO, M.G. Leaf structure of the cerrado (Brazilian savanna) woody plants. **Trees**, v. 23, p. 451-471, 2009.

BITTRICH, V; TRAD, R.J.; CABRAL, F.N.; NASCIMENTO-JR, J.E.; SOUZA, V.C. (2015) Calophyllaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB121875>>.

BOMBO, A.B.; DE OLIVEIRA, T.S.; DE OLIVEIRA, A.D.S.S.; REHDER, V.L.G.; MAGENTA, M.A.G.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomy and essential oils from aerial organs in three species of *Aldama* (Asteraceae–Heliantheae) that have a difficult delimitation. **Australian Journal of Botany**, v. 60, p. 632-642, 2012.

BONINI, I.; PESSOA, M.J.G.; SEABRA-JÚNIOR, S. Faces da produção agrícola na Amazônia mato-grossense: tipos de exploração, origem dos agricultores e impactos na conservação ambiental no município de Alta Floresta (MT). **Novos Cadernos NAEA**, v. 16, p. 173-190, 2013.

BRANDÃO, M.; FERREIRA, P.B.D. Flora apícola do Cerrado. **Informe Agropecuário**, v. 15, p. 7-14, 1991.

BRANDO, P.M.; BALCH, J.K.; NEPSTAD, D.C.; MORTON, D.C.; PUTZ, F.E.; COE, M.T.; SILVÉRIO, D.; MACEDO, M.N.; DAVIDSON, E.A.; NOBREGA, C.C.; ALENCAR, A.; SOARES-FILHO, B.S. Abrupt increases in Amazonian tree mortality due to drought-fire interactions. **Proceedings of National Academy of Sciences**. v. 111, p. 6347–6352, 2014.

BUDEL, J.M.; DUARTE, M.R.; DOLL-BOSCARDIN, FARAGO, P.V.; MATZENBACHER, N.I.; SARTORATTO, A.; MAIA, B.H.L.N.S. Composition of essential oils and secretory structures of *Baccharis anomala*, *B. megapotamica* and *B. ochracea*. **Journal of essential oil research**. v. 24, p. 19-24, 2012.

CABRAL, F.N.; TRAD, R.J. 2020. Calophyllaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
<<https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB121875>>.

CABRAL, F.N.; TRAD, R.J.; AMORIM, B.S.; FANTIN, C.; ALBUQUERQUE, P.M.; CARDOZO, N.M.D. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Calophyllaceae. **Rodriguésia**, v. 72, p. 1-13, 2021.

CABRITA, P. A model for resin flow. In: Ramawat K.G., Ekiert H.M., Goyal S. Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites, **Reference Series in Phytochemistry**, p. 28, 2019.

CADDAH, M.K.; MAYER, J.L.S.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. Species limits in the *Kielmeyera coriacea* complex (Calophyllaceae) – a multidisciplinary approach. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 168, p. 101-115, 2012.

CARDOSO DA SILVA, J.M.; BATES, J.M. Biogeographic patterns and conservation in the South American cerrado: a tropical Savanna hotspot. **BioScience**, v. 52, p. 225–234, 2002.

CARNEIRO-FILHO, A. Cerrados amazônicos: fósseis vivos? algumas reflexões. **Revista do Instituto Geológico**. São Paulo, v.14, p. 63-68, 1993.

CARVALHO, W.D.; MUSTIN, K. The highly threatened and little-known Amazonian savannahs. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, p. 1-3, 2017.

CASTRO, M.M.; DEMARCO, D. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: A brief review. **Natural Product Communications**, v. 3, p. 1273–1284, 2008.

CASTRO, M.M.; LEITÃO-FILHO, H.F.; MONTEIRO, W.R. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 20, p. 163–174, 1997.

CICCARELLI, D., ANDREUCCI, A.D., PAGNI, A.M. Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. **Annals of Botany**, v. 88, p. 637–644, 2001.

CNC FLORA. (2021) Centro Nacional de Conservação da Flora.
<http://www.cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha>.

CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, p. 1287-1300, 2006.

COSTA, E. R.; TANGERINA, M. M. P.; FERREIRA, M. J. P.; DEMARCO, D. Two origins, two functions: The discovery of distinct secretory ducts formed during the primary and secondary growth in *kielmeyera*. **Plants**, v. 10, p. 1-13, 2021.

COSTA, I.S.C.; LUCENA, E.M.P.; BONILLA, O.H.; GUESDON, I.R.; COUTINHO I.A.C. Seasonal variation in colleter exudates in *Myrcia splendens* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 68, p. 403-412, 2020b.

COSTA, I.S.C.; LUCENA, E.M.P.; BONILLA, O.H.; RADOSAVLJEVIC, A.; COUTINHO, I.A.C. Ontogenesis, histochemistry, and seasonal and luminous environmental characterization of secretory cavities in leaves of *Myrcia splendens* (Myrtaceae). **Botany**, v. 98, p. 691-701, 2020a.

CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. Columbia University Press: New York, NY, USA, 1981.

DA CUNHA, M.; GOMES, V.M.; XAVIER FILHO, J.; ATTIAS, M.; SOUZA, W.; MIGUENS, F.C. Laticifer system of *Chamaesyce thymifolia*: a closed host environment for trypanosomatids. **Biocell**, v. 24, p. 123–132, 2000.

DAVID R., CARDE, J.P. (1964) Coloration différentielle des inclusions lipidiques terpeniques des pseudo phylles du pin maritime au moyen du reactif Nadi. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 258, p. 1338–1340, 1964.

DEVECCHI, M.F.; LOVO, J.; MORO, M.F.; ANDRINO, C.O.; BARBOSA-SILVA, R.G.; VIANA, P.L.; GIULIETTI, A.M.; ANTAR, G.; WATANABE, M.T.C.; ZAPPI, D.C. Beyond forests in the Amazon: biogeography and floristic relationships of the Amazonian savannas. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 193, p. 478-503, 2020.

DÍAZ, D.M.V. Multivariate analysis of morphological and anatomical characters of *Calophyllum* (Calophyllaceae) in South America. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, p. 587–626, 2013.

EITEN, G. Delimitação do conceito de cerrado. Arquivo do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 21, p. 125-134, 1977.

EMINAGAOGLU, Ö.; OZCAN, M. Morphological and anatomical studies of the newly recorded *Rhus chinensis* Mill. (Anacardiaceae) from Turkey. **Bangladesh Journal of Plant Taxonomy**, v. 25, p. 71–78, 2018.

FAHN, A. Secretory tissues in plants. **Academic Press**, Cambridge, MA, USA: p. 302, 1979.

- FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist**, v. 108, p. 229–257, 1988.
- FERNANDES, V. F.; THADEO, M.; DALVI, V.C.; MARQUETE, R.; SILVA, J. X.B.; PEREIRA, L.J.; MEIRA, R.M.S.A. How to distinguish cavities from ducts in *Casearia* Jacq. (Salicaceae): Anatomical characterization and distribution. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 240, p. 89-97, 2018.
- FERREIRA, C.S.; CARMO, W.S.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; OLIVEIRA, J.M.F.; MELO, R.B.; FRANCO, A.C. Anatomia da lâmina foliar de onze espécies lenhosas dominantes nas savanas de Roraima. **Acta Amazonica**, v. 45, p. 337–346, 2015.
- FISHER, D.B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, p. 92–96, 1968.
- FLORES, B.M.; HOLMGREN, M. White-sand savannas expand at the core of the amazon after forest wildfires. **Ecosystems**, v. 24, p. 1624-1637, 2021.
- FRANCO, M.J.C.S.; ALBIERO, A.L.M. Estruturas secretoras em folha e caule de *Esenbeckia febrifuga* (A.St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. e *Esenbeckia grandiflora* Mart. (Rutaceae). **Hoehnea**, v. 45, p. 468-483, 2018.
- GALLOWAY, A.F.; KNOX, P.; KRAUSE, K. Sticky mucilages and exudates of plants: putative microenvironmental design elements with biotechnological value. **New Phytologist**, v. 225, p. 1461-1469, 2020.
- GERRITS P.O. The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles. Department of Anatomy and Embryology State University Groningen, **Netherlands**: p. 160, 1991.
- GONÇALVES-SOUZA, P.; SCHLINDWEIN, C.; PAIVA, E.A.S. Floral resins of *Philodendron adamantinum* (Araceae): secretion, release and synchrony with pollinators. **Acta Botanica Brasilica**, v. 32, p. 392-401, 2018.
- GOODGER, J.Q.D.; HESKES, A.M.; MITCHELL, M.C.; KING, D.J.; NEILSON, E.H.; WOODROW, I.E. Isolation of intact sub-dermal secretory cavities from Eucalyptus. **Plants Methods**, v. 6, p. 1-10, 2010.
- GOTTLIEB, O.R.; SALATINO, A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**, v. 39, p. 707-716, 1987.
- HARATYM, W.; WERYSZKO-CHMIELEWKA, E.; KONARSKA, A. Microstructural and histochemical analysis of aboveground organs of *Centaurea cyanus* used in herbal medicine. **Protoplasma**, v. 257, p. 285-298, 2020.
- HUECK, K. As florestas da América do Sul. Editora Universidade de Brasília, Brasília, **Polígono**, São Paulo, p. 466, 1972.
- IRSHAD, M.; SUBHANI, M.A.; ALI, S.; HUSSAIN, A. Biological Importance of Essential Oils. **Intechopen**, London, UK: p. 1-15, 2019.

JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. **McGraw-Hill Book Co.** Inc., New York: p. 523, 1940.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137–138, 1965.

KLEIN, D.E.; GOMES, V.M.; SILVA-NETO, S.J.; DA CUNHA M. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). **Annals of Botany**, v. 94, p. 733-740, 2004.

KNAACK, N.; FIUZA, L.M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, p. 120-132, 2010.

KRAUS J.E., SOUSA H.C., REZENDE M.H., CASTRO N.M., VECCHI C., LUQUE R. Astra Blue and Basic Fuchsin Double Staining of Plant Materials. **Biotechnic and Histochemistry**, v. 73, p. 235-243, 1998.

KROMER, K.; KREITSCHITZ, A.; KLEINTEICH, T.; GORB, S.N.; SZUMNY, A. Oil secretory system in vegetative organs of three *Arnica* taxa: essential oil synthesis, distribution and accumulation. **Plant cell physiology**, v. 57, p. 1020-1037, 2016.

LACCHIA, A.P.S.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Aspectos ultraestruturais dos canais secretores em órgãos vegetativos e reprodutivos de Anacardiaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 376-388, 2009.

LACCHIA, A.P.S.; TÖLKE, E.D.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; ASCENSÃO, L.; DEMARCO, D. Foliar colleters in Anacardiaceae: first report for the family. **Botany**, v. 94, p. 337–346, 2016.

LANGE, B.M. The evolution of plant secretory structures and emergence of terpenoid chemical diversity. **Annual Review of Plant Biology**, v. 66, p. 139-159, 2015.

LANGENHEIM J.H. Plant resins: chemistry evolution, ecology and ethnobotany. **Timber Press**, Portland: p. 612, 2003.

LEITE, M.C.M.; LEAL, A.S.; PEREIRA, T.C.; MARTINS, A.R. Development of *Astronium fraxinifolium* Schott seedlings: A native tree from Cerrado. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 286, p. 1-7, 2022.

LEITE, V.G.; MANSANO, V.F.; PANSARIN, E.R.; TEIXEIRA, S.P. Presence of the anther gland is a key feature in pollination of the early-branching papilionoids *Dipteryx alata* and *Pterodon pubescens* (Leguminosae). **Plant Biology**, v. 21, p. 1016–1023, 2019.

LEITE, V.G.; MANSANO, V.F.; TEIXEIRA, S.P. Floral ontogeny in Dipterygeae (Fabaceae) reveals new insights into one of the earliest branching tribes in papilionoid legumes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 174, p. 529–550, 2014.

LICHTENTHALER, H.K.; SCHWENDER, J.; DISCH, A.; ROHMER, M. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway. **FEBS Letters**, v. 400, p. 271–274, 1997.

LUNA, B.N.; FREITAS, M.F.; BARROS, C.F. Diversity of leaf secretory structures in five Neotropical genera of Primulaceae: ecological aspects and evolutionary significance. **Botany**, v. 97, p. 35-51, 2019.

MACHADO, C.D.; RAMAN, V.; REHMAN, J.U.; MAIA, B.H.L.N.S.; MENEGHETTI, E.K.; ALMEIDA, V.P.; SILVA, R.Z.; FARAGO, P.V.; KHAN, I.A.; BUDEL, J.M. *Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 1–10, 2019.

MACHADO, S. R.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 2, p. 189–195, 2001.

MACHADO, S.R.; CANAVEZE, Y.; RODRIGUES, T. M. Structure and functioning of oil cavities in the shoot Apex of *Metrodorea nigra* A. St.-Hil. (Rutaceae). **Protoplasma**, v. 254, 1661-1674, 2017.

MAGNUSSON, E.W.; LIMA, A.P.; ALBERNAZ, A.L.K.M.; SANAIOTTI, T.M.; GUILLAUMET, J.L. Composição florística e cobertura vegetal das savanas na região de Alter do chão, Santarém-PA. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, p. 165-177, 2008.

MAIA, T.F.; DONATO, A.; FRAGA, M.E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.17, p.105-116, 2015.

MARACAHIPES, L.; CARLUCCI, M.B.; LENZA, E.; MARIMON, B.S.; MARIMON-JUNIOR, B.H.; GUILHERME, F.A.G.; CIANCIARUSO, M.V. How to live in contrasting habitats? Acquisitive and conservative strategies emerge at inter- and intraspecific levels in savanna and forest woody plants. **Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics**, v. 34, p. 17-25, 2018.

MARACAHIPES-SANTOS, L.; LENZA, E.; SANTOS, J.O.; MEWS, H.A.; OLIVEIRA, B. Effects of soil and space on the woody species composition and vegetation structure of three Cerrado phytophysiognomies in the Cerrado-Amazon transition. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, p. 830-839, 2017.

MARIMON, B.S.; OLIVEIRA-SANTOS, C.; MARIMON-JUNIOR, B.H.; ELIAS, F.; OLIVEIRA, E. A.; MORANDI, P.S.; PRESTES, N.C.C.S.; MARIANO, L.H.; PEREIRA, O.R.; FELDPAUSCH, T.R.; PHILLIPS, O.L. Drought generates large, long-term changes in tree and liana regeneration in a monodominant Amazon forest. **Plant Ecology**, v. 221, p. 733-747, 2020.

MEDRI, M. E.; FERREIRA, A. C.; KOLB, R. M.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J. A.; FABRO, V. M. D.; MEDRI, C. Alterações morfoanatômicas em plantas de *Lithraea*

molleoides (Vell.) Engl. submetidas ao alagamento. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 29, p. 15–22, 2007.

MELO, M.S.; BRITO, R.G.; SANTOS, P.L.; NOGUERIA, P.C.L.; MORAIS, V.R.S.; MATOS, M.C.P.; FERRO, J.N.S.; BARRETO, E.O.; DE LUCCA JUNIOR, W.; BOTELHO, M.A.; QUINTANS JUNIOR, L.J. Involvement of Cerebral Nervous System Areas and Cytokines on Antihyperalgesic and Anti-Inflammatory Activities of *Kielmeyera rugose* Choisy (Calophyllaceae) in Rodents. **Phytotherapy research**, v. 28, p. 1806-1815, 2014.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons. **Clarendon Press**, Oxford, UK: p. 724, 1950.

MIGUEL, E. C.; PIREDA, S.; BARROS, C.F.; ZOTTICH, U.; GOMES, V.M.; MIGUENS, F.C.; DA CUNHA, M. Outer cell wall structure and the secretion mechanism of colleters of *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, p. 411-419, 2017.

MIGUEL, E.C.; GOMES, V.M.; DE OLIVEIRA, M.A.; DA CUNHA, M. Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): Ultrastructure, secretion protein composition and antifungal activity. **Plant Biology**, v. 8, p. 715-722, 2006.

MILANI, J.F.; ROCHA, J.F.; TEIXEIRA, S.P. Oleoresin glands in copaíba (*Copaifera trapezifolia* Hayne: Leguminosae), a Brazilian rainforest tree. **Trees**, v. 26, p. 769-775, 2012.

MIRANDA, C.A.S.F.; CARDOSO, M.G.; CARVALHO, M.L.M.; MACHADO, S.M.F.; GOMES, M.S.; SANTIAGO, J.A.; TEIXEIRA, M.L. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 1783-1798, 2015.

MIRANDA, I. S., ABSY, M.L. Flora, fisionomia e estrutura das savanas de Roraima, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 30, p. 423-440, 2000.

MIRANDA, I.S.; ALMEIDA, S.S.; DANTAS, P.J. Florística e estrutura de comunidades arbóreas em cerrados de Rondônia, Brasil. **Acta Amazonica**, v.36, n.4, p. 419-430, 2006.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 1-14, 2009.

MORANDI, P.S.; REIS, S.M.; MARIMON, B.S.; OLIVEIRA-SANTOS, C.; OLIVEIRA, E.A.; OLIVEIRA, B.; PORTO, P.H.; MARIMON-JUNIOR, B.H. Mineral nutrition in the tree *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Calophyllaceae). **Revista Árvore**, v. 41, p. 1-10, 2017.

MOREIRA, A.C.; RIOS, P.D.R.; VIEIRA, H.C.; MORI, F.A. Análise química da cortiça das árvores de *Kielmeyera coriacea* Mart. **Brazilian Journal of Wood Science**, v. 8, p. 1-9, 2017.

MOREIRA, X.; SAMPEDRO, L.; ZAS, R.; SOLLA, A. Alterations of the resin canal system of *Pinus pinaster* seedlings after fertilization of a healthy and of a *Hylobius abietis* attacked stand. **Trees - Structure and Function**, v. 22, p. 771–777, 2008.

MUMM, R.; HILKER, M. Direct and indirect chemical defence of pine against folivorous insects. **TRENDS in Plant Science**, v. 11, p. 351-358, 2006.

NAIR, N.M.B. (1995) Some notes on gum and resin ducts and cavities in angiosperms. In *The Cambial Derivatives*. Edited by Iqbal, M. Gebr. Borntraeger, Berlin, Stuttgart, p. 317–340, 1995.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M.E. The study of plant structure principles and select methods. Melbourne: **Termarcarphi Pty**: p. 45, 1981.

PAIVA, E.A.S. effects of sample preparation for sem studies of epicuticular wax in *Tradescantia pallida* (Commelinaceae) leaves. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, supplement, p. 258, 2005.

PAIVA, E.A.S. How do secretory products cross the plant cell wall to be released? A new hypothesis involving cyclic mechanical actions of the protoplast. **Annals of botany**, v. 117, p. 533-540, 2016.

PAIVA, E.A.S.; MACHADO, S.R. Ontogênese, anatomia e ultraestrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae) **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 471-482, 2006.

PAIVA, E.A.S.; MACHADO, S.R. Structural and ultrastructural aspects of ontogenesis and differentiation of resin secretory cavities in *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae-Caesalpinioideae) leaves. **Nordic Journal of Botany**, v. 24, p. 423-431, 2007.

PAIVA, F.F.A.; GARRUTTI, D.S.; NETO, R.M.S. Aproveitamento industrial do caju. Fortaleza: **Embrapa-CNPAT/SEBRAE/CE**, p. 88, 2000.

PALERMO, F.H.; RODRIGUES, M.I.A.; NICOLAI, J.; MACHADO, S.R.; RODRIGUES, T.M. Resin secretory canals in *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand. (Burseraceae): a tridimensional branched and anastomosed system. **Protoplasma**, v. 255, p. 899-910, 2018.

PALERMO, F.H.; TEIXEIRA, S.P.; MANSANO, V.F.; LEITE, V.G.; RODRIGUES, T.M. Secretory spaces in species of Dipterygeae clade (Leguminosae, Papilionoideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, 374–381, 2017.

PAODJUENAS, R.; COSTA, G.M.; NUNES, E.N.; PAULINO, F.O.; LUCENA, R.F.P. Conhecimento tradicional e usos do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* arruda) por comunidades rurais do semiárido, paraíba, nordeste, brasil. **Ethnoscintia**, v. 4, p. 1-13, 2019.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: **Ed. Agronômica Ceres**, v.1, p.193-217, 1995.

- PAULA, J.E.; ALVES, J.L.H. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Bth, Ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). **Acta Amazonica**, v. 3, p. 1-15, 1973.
- PEARSE, A.G.E. Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology. 4th edition. Churchill Livingstone, **Edinburgh**, UK: p. 456, 1980.
- PELL, S.K, MITCHELL, J.D.; MILLER, A.J, LOBOVA, T.A. Anacardiaceae. In: Kubitzki K (ed.) **The families and genera of vascular plants. Flowering plants. Eudicots. Sapindales, Cucurbitales, Myrtales**. v. 10. Springer, Berlin. Pp. 7-50, 2011.
- PENG F.; GUO, H.; HAO, M.; GUO, J.; YANG, Y.; TAN, P. The ultrastructure characteristics of secretory cavities associated with the secretory products of *Ginkgo biloba*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 102-109, 2012.
- PERREIRA, A.S.S.; BARBOSA, C.V.O.; SILVA, E.F.; GUIMARÃES, J.T.F.; FILGUEIRA, L.A.T.; FÉLIX-DA-SILVA, M.M. Flora of *Anacardium* (Anacardiaceae) in the state of Pará, Brazil. **Rodriguésia**, v. 72, p.1-12, 2021.
- PESSOA, M. J. G.; MARACAHIPES-SANTOS, L.; ABADIA, A. C.; DE OLIVEIRA, Bianca; DA SILVA, I. V.; LENZA, E. Floristic composition, diversity and edaphic effects in two rocky savanna communities in the amazon and cerrado, Brazil. **Ciência Florestal**, v. 31, p. 1383–1406, 2021.
- PESSOA, M.J.G.; GUISONI, J.J.; SIMIONI, P.; PIREDA, S.; XAVIER, V.; SILVA, I.V. Leaf structural traits of three species of *Qualea* Mart. (Vochysiaceae) in a cerrado area in the Cerrado-Amazonian Forest transition. **Ciência Florestal**, v. 29, p. 1082-1089, 2019.
- PHILLIPS, M.A.; CROTEAU, R.B. Resin-based defenses in conifers. **Trends in Plant Science**, v. 4, p. 184-190, 1999.
- PINHEIRO, L.; CORTEZ, D.A.G.; VIDOTTI, G.J. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). *Química Nova*, v. 26, p. 157-160, 2003.
- PINHEIRO, M.H.O. Formações savânicas mundiais: uma breve descrição fitogeográfica. **Brazilian Geographical Journal: Geosciences and Humanities research medium**, v.1, p. 306-313, 2010.
- PIREDA, S.; OLIVEIRA, D.S.; BORGES, N.L.; FERREIRA, G.A.; BARROSO, L.M.; SIMIONI, P.; VITÓRIA, A.P.; DA CUNHA, M. Data on leaf structural, physiological and nutritional characteristics of species co-occurring in restinga and semideciduous seasonal forest ecosystems. **Data In Brief**, v. 30, p. 1–8, 2020.
- PIREDA, S.; OLIVEIRA, D.S.; BORGES, N.L.; FERREIRA, G.A.; BARROSO, L.M.; SIMIONI, P.; VITÓRIA, A.P.; DA CUNHA, M. Acclimatization capacity of leaf traits of species co-occurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. **Environmental and Experimental Botany**, v. 164, p. 190–202, 2019.

PRADO, E.; DEMARCO, D. Laticifers and secretory ducts: similarities and differences. In: Hufnagel, L. (Ed). *Ecosystem Services and Global Ecology*. **Intechopen**, London, UK: p. 103–123, 2018.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, p. 485-492, 2002.

RAMOS, G.Q.; COTTA, E.A.; FONSECA FILHO, H.D. Análise Morfológica das Folhas de *Anacardium occidentale* L. **Biota Amazônia**, v. 6, p. 16–19, 2016.

RATTER, J.A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J.F. Analysis of the floristic composition of the brazilian cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Endinburgh Journal of Botany**. v. 60, p. 57-109, 2003.

REEVE, R.M. Histochemical tests for polyphenols in plant tissues. **Stain Technology**, v. 26, p. 91-96, 1951.

REIS, A.L.L. E.; SILVA, D.S DA.; SILVA, K.L.F.; CHAGAS, D.B. DAS. Caracterização anatômica e histoquímica de raízes e folhas de plântulas de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v.38, p. 209-219, 2014.

REIS, R.C.; VIANA, E.S.; FONSECA, N.; ALMEIDA, J.M.; FILHO, J.A.A.R.; GUEDES, I.S.A.; SENA, L.O. Atributos físico-químicos de frutos de variedades de mangueira cultivadas em sistema orgânico. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, p. 22, 2019.

RIBEIRO, J.F.E.; WALTER, B.M.T. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.O.; RIBEIRO, J.F (eds.). *Cerrado: Ambiente e flora*. Brasília. **Embrapa Cerrados, Planaltina**, p.151-2012, 2008.

RIBEIRO, J.P.O.; SILVA, C.J. Ontogenia das cavidades secretoras de onze espécies de Myrtaceae. **Revista Fitos**, v. 15, p. 346-353, 2021.

RIGAMONTE-AZEVEDO, O.C.; WADT, P.G.S.; WADT, L.H.O. Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina. **Embrapa Acre**, p. 28, 2004.

ROCHA, A.E.S; NETO, S.V.C. Florística e fitossociologia do estrato herbáceo/arbustivo em 19 áreas de savanas amazônicas, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 14, p. 159-181. 2019.

ROCHA, J. F., PIMENTEL, R. R E MACHADO, S. R. 2011. Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. **Acta Botanica Brasilica**, v.25, p.751-763, 2011.

RODRIGUES, T.M.; BUARQUE, P.F.S.M.; CONEGLIAN, A.G.; REIS, D.C. Light and temperature induce variations in the density and ultrastructure of the secretory spaces in the diesel-tree (*Copaifera langsdorffii* Desf.-Leguminosae). **Trees - Structure and Function**, v. 28, p. 613–623, 2014.

RODRIGUES, T.M.; SANTOS, D.C.; MACHADO, S.R. The role of the parenchyma sheath and PCD during the development of secretory cavities in *Pterodon pubescens* (Leguminosae-Papilionoideae). **Comptes Rendus Biologies**, v. 334, p. 535–543, 2011a.

RODRIGUES, T.M.; TEIXEIRA, S.P.; MACHADO, S.R. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae-Caesalpinioideae). **Flora**, v. 206, p. 585–594, 2011b.

RODRIGUES, T.M.; MACHADO, S.R. Oil Glands in *Pterodon pubescens* Benth. (Leguminosae-Papilionoideae): Distribution, structure, and secretion mechanisms. **International Journal of Plant Sciences**, v. 173, p. 984-992, 2012.

ROYO, V.A.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; RIBEIRO, L.M.; DE OLIVEIRA, D. A.; AGUIAR, M.M.R.; COSTA, E.R.; FERREIRA, P.R.B. Anatomy, Histochemistry, and Antifungal Activity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae) Leaf. **Microscopy and Microanalysis**, v. 21, p. 1549–1561, 2015.

RUHFEL, B.R.; BITTRICH, V.; BOVE, C.P.; GUSTAFSSON, M.H.G.; PHILBRICK, C.T.; RUTISHAUSER, R.; XI, Z.; DAVIS, C.C. Phylogeny of the Clusioid clade (Malpighiales): evidence from the plastid and mitochondrial genomes. **American Journal of Botany**, v. 98, p. 306-325, 2011.

SÁ, R.D.; CAVALCANTI, G.S.; SANTOS, D.M.; SILVA, A.S.; PADILHA, R.J.R.; ALVES, L. C.; RANDAU, K. P. Anatomical characterization, histochemistry and crystal analysis of the leaf blade of *Mangifera indica* L. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 04, p. 266–272, 2019.

SÁ-HAIAD, B.; SILVA, C.P.; PAULA, R.C.V.; ROCHA, J.F.; MACHADO, S.R. Androecia in two *Clusia* species: development, structure and resin secretion. *Plant Biol* (Stuttg), v.17, n.4, p.816-24, 2015.

SAITO M.L.; SCRAMIN, S. 2000. Plantas aromáticas e seu uso na agricultura. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**. p. 48, 2000.

SAMPIETRO, D.A.; MERCADO, M.I.; ARISTIMUÑO FICOSECO, M.E.; PONESSA, G.; VATTUONE, M.A.; CATALÁN, C.A.N. Histochemical localization of urushiols in stems and leaflets of *Schinopsis lorentzii* and *S. marginata* using diazonium salts. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 236–237, p. 25–32, 2017.

SANAIOTTI, T.M.; MARTINELLI, L.A.; VICTÓRIA, R.L.; TRUMBORE, S.E.; CAMARGO, P.B. Past vegetation changes in Amazon Savannas determined using carbon isotopes of soil organic matter. **Biotropica**, v. 34, p. 2-16, 2002.

SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; THADEO, M.; MEIRA, R.M.S.A.; ASCENSÃO, L. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 481–489, 2006.

SANTANA, W.M.S.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R.A.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK, A.F.; PODEROSO, J.C.M. Morfologia de flores, frutos e sementes de

pau-pombo (*Tapirira guianensis* Aublet. - Anacardiaceae) na região de São Cristóvão, SE, Brasil. **Scientia Forestalis**, v. 37, p. 47-54, 2009.

SANTOS, A.P.B.; TRAD, R.J.; ESPÍRITO SANTO, F.S.; AMARAL, M.C.E.; RAPINI, A. *Kielmeyera ferruginosa* (Calophyllaceae), a new species from the Atlantic Forest, southern Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v. 221, p. 1-7, 2015.

SANTOS, T.R.R.; PINTO, J.R.R.; LENZA, E. Floristic relationships of the woody component in rocky outcrops savanna areas in Central Brazil. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n.7, p. 541-550, jul. 2012.

SAUERESSIG, D. **Plantas do Brasil: árvores nativas**. Editora Plantas do Brasil, Irati, PR, v. 1, 2014.

SAWIDIS, T.; DAFNIS, S.; WERYZKO-CHMIELEWSKA, E. 2000. Distribution, development and structure of resin ducts in *Pistacia lentiscus* var. *chia* Duhamel. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 195, p. 83-94, 2000.

SAWIDIS, T.H. The subglandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectaries. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 193, p. 327-335, 1998.

SEKI, K.; ORIHASHI, K.; SAITO, N.; KITA, K.; NAKATA, K. Relationship between the composition and distribution of nutritional substances, secondary metabolites, and internal secretory structures in the bark tissues of *Larix gmelinii* var. *japonica*, *L. kaempferi*, and their F₁ hybrid and susceptibility to vole herbivory. **Journal of Forest Research**, v. 24, p. 292-302, 2019.

SILVA, K.M.M.; LUNA, B.N.; JOFFILY, A.; PAIVA, S.R.; BARROS, C.F. Revealing the development of secretory structures in the leaves of *Clusia fluminensis* and *Clusia lanceolata* (Clusiaceae). **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 256, p. 69-78, 2019.

SILVA, M.M.; IRIGUCHI, E.K.K.; KASSUYA, C.A.L.; VIEIRA, M.C.; FOGLIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; RUIZ, A.L.T.G.; SOUZA, K.P.; FORMAGIO, A.S.N. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista brasileira farmacognosia**, Curitiba, v. 27, p. 445-452, 2017.

SILVA, S.C.M.; TOZIN, L.R.S.; RODRIGUES, T.M. Morphological and histochemical characterization of secretory sites of bioactive compounds in *Lantana camara* L. (Verbenaceae) leaves. **Botany**, 94, p. 321-336, 2016.

SILVA, S.S.; LEMES, R.S.; BITENCOURT, R.G.; DINIZ, V.S.S.; ESPERANDIM, V.R.; FERREIRA, D.S.; SILVA, M.L.A.; CAZAL, C.M. In vitro trypanocidal and cytotoxic activity of essential oils from native plants of the Brazilian cerrado. **Research, Society and Development**, v. 9, p. 1-16, 2020.

SILVA-LUZ, C.L.; PIRANI, J.R.; PELL, S.K.; MITCHELL, J.D. 2020. Anacardiaceae in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB44>>.

SILVEIRA, C.V.; TREVISAN, M.T.S.; RIOS, J.B.; ERBEN, G.; HAUBNER, R.; PFUNDSTEIN, B.; OWEN, R.W. Secondary plant substances in various extracts of the leaves, fruits, stem and bark of *Caraipa densifolia* Mart. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48 p.1597–1606, 2010.

SIMIONI, P.; CAMPBELL, G.; PINTO, V.D.; CASTELAR, J.V.S.; PESSOA, M.J.G.; SILVA, I.V.; DA CUNHA, M. Do anatomical wood traits suggest adjustments in the hydraulic architecture of dominant species in Amazonian savanna? **Plant Biosystems**, p. 1–12, 2020.

SIMIONI, P.F.; EISENLOHR, P.V.; PESSOA, M.J.G.; SILVA, I.V.D. Elucidating adaptive strategies from leaf anatomy: Do Amazonian savannas present xeromorphic characteristics? **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 226, p. 38-46, 2017.

SIMIONI, P.F.; PESSOA, M.J.G.; CARDOSO, M.A.; CABRAL, F.F.; TEIXEIRA, S.O.; DA SILVA, I.V. Leaf anatomy of *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae) occurring in a rocky savanna in the Brazilian Amazonian. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 40, p. 1–7, 2018.

SOARES, T.N.; SANT'ANA, L.L.; OLIVEIRA, L.K.; TELLES, M.P.C. COLLEVATTI, R.G. Transferability and characterization of microsatellite loci in *Anacardium humile* A. St. Hil. (Anacardiaceae). **Genetics and Molecular Research**, v.12, p. 3146-3149, 2013.

SOUZA, F.P. Tecnologia de Produtos Florestais. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro. p. 409, 1974.

SOUZA, L.R.; TRINDADE, F.G.; OLIVEIRA, R.A.; COSTA, L.C.D.B.; GOMES, V.M.; DA CUNHA, M. Histochemical characterization of secretory ducts and essential oil analysis of *Protium* species (Burseraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 28, p. 166–171, 2015.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamos nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3ª ed. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa, SP: p. 768, 2012.

STAEHELIN, L.A. Membrane structure and membranous organelles. In BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (2 ed). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. **American Society of Plant Biologists Wiley Blackwell**, Oxford-UK: 31, 2015.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, p. 18-46, 2011.

STEVENS, P.F. (2001, onwards) Angiosperm Phylogeny Website. **Version 14**, July 2017. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

STOJANOVIC, G.S.; JOVANOVIC, S.C.; ZLATKOVIC, B. K. Distribution and taxonomic significance of secondary metabolites occurring in the methanol extracts of

- the stonecrops (*Sedum* L., Crassulaceae) from the Central Balkan Peninsula. **Natural Product Communications**, v. 10, p. 941-944, 2015.
- STRASSBURG, B.B.V.; BROOKS, T.; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A. CROUZEILLES, R.; LOYOLA, R.; LATAWIEC, A.E.; FILHO, F.J.B.O.; SCARAMUZZA, C.A.M.; SCARANO, F.R.; SOARES-FILHO, B.; BALMFORD, A. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature ecology e evolution**, v. 1 p. 1-4, 2017.
- SULLIVAN, M.J.P.; LEWIS, S.L.; AFFUM-BAFFOE, K.; CASTILHO, C.; COSTA, F.; SANCHEZ, A.C et al. Long-term thermal sensitivity of Earth's tropical forests. **Science**, v. 368, p. 869-874, 2020.
- SVENDSEN, A.B.; VERPOORTE, R. Chromatography of alkaloids. **Elsevier Scientific Publish Company**, Amsterdam and New York: p. 531, 1983.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 888, 2017.
- THEN, M.; SZENTMIHÁLYI, K.; SÁRKÖZI, Á. VARGA, I.S. Examination on antioxidant activity in the greater celandine (*Chelidonium majus* L.) extracts by FRAP method. **Acta biologica Szegediensis**, v. 47, p. 115-117, 2003.
- TIPMONTIANE, K.; SRINUAL, A.; KESONBUA, W. Systematic significance of leaf anatomical characteristics in some species of *Mangifera* L. (Anacardiaceae) in Thailand. **Tropical Natural History**, v. 18, p. 68–83, 2018.
- TÖLKE, E.D.; BACHELIER, J.B.; LIMA, E.A.; FERREIRA, M.J.P.; DEMARCO, D.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Osmophores and floral fragrance in *Anacardium humile* and *Mangifera indica* (Anacardiaceae): an overlooked secretory structure in Sapindales. **AoB Plants**, v. 10, 1-14, 2018a.
- TÖLKE, E.D.; GALETTO, L.; MACHADO, S.R.; LACCHIA, A.P.S.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Diversity of floral nectary secretions and structure, and implications for their evolution in Anacardiaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 187, p. 209–231, 2018b.
- TÖLKE, E.E.A.D.; LACCHIA, A.P.S.; LIMA, E.A.; DEMARCO, D.; ASCENSÃO, L.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Secretory ducts in Anacardiaceae revisited: Updated concepts and new findings based on histochemical evidence. **South African Journal of Botany**, v. 138, p. 394-405, 2021.
- TÖLKE, E.E.A.D; LACCHIA, A.P.S.; DEMARCO, D.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Pericarp ontogeny of *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae) reveals a secretory endocarp in young stage. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, p. 319–329, 2017.
- TRESMONDI, F.; CANAVEZE, YVE.; GUIMARÃES, E.; MACHADO, S.R. Colleters in Rubiaceae from forest and savanna: the link between secretion and environment. **The Science of Nature**, v. 104, p. 1-12, 2017.

- TURNER, G.W. Comparative development of secretory cavities in the tribes Amorpheae and Psoraleeae (Leguminosae: Papilionoideae). **American Journal of Botany**, v. 73, p. 1178-1192, 1986.
- TURNER, G.W.; LANGE, M. Ultrastructure of grapefruit secretory cavities and immunocytochemical localization of (1)-limonene synthase. **International Journal of Plant Sciences**, v. 176, 643-661, 2015.
- VARELA-RODRÍGUEZ, I.; SÁNCHEZ-RAMÍREZ, B.; RODRÍGUEZ-REYNA, I.S.; ORDAZ-ORTIZ, J.J.; CHÁVEZ-FLORES, D.; SALAS-MUÑOZ, E.; OSORIO-TRUJILLO, J.C.; RAMOS-MARTÍNEZ, E.; TALAMÁS-ROHANA, P. Biological and toxicological evaluation of *Rhus trilobata* Nutt. (Anacardiaceae) used traditionally in Mexico against cancer. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, p.153, 2019.
- VASCONCELOS, A.L.; VASCONCELOS, A.L.; RANDAU, K.P.; Pharmacognostic Characterization of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae). **Pharmacognosy Journal**, v. 8, p. 513-519, 2016.
- VASSILYEV, A.E. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron*. **International Journal of Plant Sciences**, v. 161, p. 615-630, 2000.
- VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, C.; ZAS, R.; ERBILGIN, N.; FERRENBURG, S.; ROZAS, V.; SAMPEDRO, L. Resin ducts as resistance traits in conifers: linking dendrochronology and resin-based defences. **Tree Physiology**, v. 40, p. 1313-1326, 2020.
- VENKAI AH, K. Development, ultrastructure and secretion of gum ducts in *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merrill (Anacardiaceae). **Annals of Botany**, v. 69, p. 449-457, 1992.
- VENNING, F.D. The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. **American Journal of Botany**, v. 36, p. 637-644, 1948.
- VIEIRA, D.L.M.; AQUINO, F.G.; BRITO, M.A.; BULHÃO, C.F.; HENRIQUES, R.P.B. Síndromes de dispersão de espécies arbustivo-arbóreas em cerrado sensu stricto do Brasil Central e savanas amazônicas. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, p.215-220, 2002.
- WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, p. 3–19, 2003.
- WINK, M.; SCHIMMER, O. Modes of action of defensive secondary metabolites. **Annual Plant Reviews**, v. 3, p. 18–137, 1999.
- YOSHITAMA K. Recent advances in secondary metabolism research: regulation of biosynthesis and physiological functions of flavonoids and some phenolics. **Journal of Plant Research**, v. 113, p. 285, 2000.

ZAILAN, A.A.D.; KARUNAKARAN, T.; BAKAR, M.H.A.; MIAN, V.J.Y. The Malaysian genus *Calophyllum* (Calophyllaceae): a review on its phytochemistry and pharmacological activities. **Natural Product Research**, p. 1-12, 2021.

ZAPPI, D.C.; SASAKI, D.; MILLIKEN, W.; PIVA, J.; HENICKA, G.S.; BIGGS, N.; FRISBY, S. 2011. Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, Norte de Mato Grosso, Brasil. **Acta Amazônica**, v.41, p-29-30, 2011.

ZORTÉA, M. 2018. **Determinantes ambientais da vegetação savânica e florestal em enclaves de Cerrado na Amazônia Mato-Grossense**. 2018. 120 f. Dissertação de mestrado, Universidade do Estado de Mato Grosso –UNEMAT, Alta Floresta – MT, Brasil.

ZORTÉA, M.; KOCH, A.K.; MARIMON-JUNIOR, B.H.; CAMILLO DE CARVALHO, M.A.C. Plantas de um enclave de Cerrado na Amazônia Mato-Grossense, Alta Floresta – Brasil. **Fiel Museum**, Guia:1019, p. 1-11, 2020.

ANEXO - Lista das estruturas secretoras que podem ser detectadas nas espécies da savana de Alta Floresta e Nova Canaã do Norte - MT.

Família	Espécies	Coleta	Tipos de Estruturas Secretoras						
			DT	CV	ID	TC	CO	LA	NC
Calophyllaceae	<i>Kielmeyera rubriflora</i> Cambess	SNC	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Kielmeyera coriacea</i> Cambess	SAF	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess	SAF	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Caraipa densifolia</i> Mart.	SAF	+	+	+	+	-	-	-
Anacardiaceae	<i>Anacardium giganteum</i> W.Hancock ex Engl.	SAF	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Anacardium occidentale</i> L.	SNC	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Tapirira obtusa</i> (Benth.) J.D.Mitch.	SAF	+	-	+	+	-	-	-
Simaroubaceae	<i>Simarouba versicolor</i> A.St.-Hil.	SNC	+	-	+	+	-	-	-
Vochysiaceae	<i>Qualea parviflora</i> Mart.	SNC	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Vochysia rufa</i> Mart	SNC	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Vochysia haenkeana</i> Mart	SNC	+	-	+	+	-	-	-
Burseraceae	<i>Trattinnickia burserifolia</i> Mart.	SAF	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Dacryodes microcarpa</i> Cuatrec.	SNC	+	-	+	+	-	-	-
	<i>Protium ovatum</i> Engl.	SNC	+	-	+	+	-	-	-
Myrtaceae	<i>Myrcia splendens</i> (Sw.) DC.	SNC	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Myrcia guianensis</i> (Aubl.) DC.	SAF	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Myrcia sylvatica</i> (G.Mey.) DC.	SAF	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Myrcia citrifolia</i> (Aul.) Ubr	SNC	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Eugenia Punicifolia</i> (Kunth) DC.	SAF	-	+	+	+	-	-	-
Annonaceae	<i>Xylopia sericea</i> A.St.-Hil.	SAF	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Xylopia frutescens</i> Aubl.	SAF	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Xylopia aromatica</i> (Lam.) Mart.	SNC	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Bocageopsis mattogrossensis</i> (R.E.Fr.)	SAF	-	+	+	+	-	-	-
	<i>Guatteria discolor</i> R.E.Fr.	SAF	-	+	+	+	-	-	-
Primulaceae	<i>Cybianthus fulvopulverulentus</i> (Mez)	SNC	-	+	+	+	-	-	-
Rubiaceae	<i>Ladenbergia amazonenses</i> Ducke	SAF	-	-	+	+	+	+	-
	<i>Pagamea guianensis</i> Aubl.	SAF	-	-	+	+	+	-	-
	<i>Pagamea thyrsoiflora</i> Spruce ex	SNC	-	-	+	+	+	-	-
	<i>Ferdinandusa chlorantha</i> (Wedd.) Standl.	SNC	-	-	+	+	+	-	-
	<i>Ferdinandusa elliptica</i> (Pohl) Pohl	SAF	-	-	+	+	+	-	-
Apocynaceae	<i>Hancornia speciosa</i> Gomes	SNC	-	-	+	+	-	+	-
	<i>Aspidosperma macrocarpon</i> Mart.	SNC	-	-	+	+	-	+	-
	<i>Aspidosperma</i> sp.	SAF	-	-	+	+	-	+	-
	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	SAF	-	-	+	+	-	+	-
Fabaceae	<i>Inga heterophylla</i> Willd.	SAF	-	-	+	+	-	-	+
	<i>Inga alba</i> (Sw.) Willd.	SAF	-	-	+	+	-	-	+
	<i>Inga vera</i> Willd.	SAF	-	-	+	+	-	-	+
	<i>Inga acreana</i> Harms	SAF	-	-	+	+	-	-	+

	<i>Vatairea macrocarpa</i> (Benth.) Ducke	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Parkia cachimboensis</i> H.C. Hopkins	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Andira cujabensis</i> Benth.	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Tachigali vulgaris</i> L.G.Silva & H.C.Lima	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Tachigali subvelutina</i> (Benth.)	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Chamaecrista dumalis</i> (Hoehne) H.S.Irwin	SNC	-	-	+	+	+	-	-
Melastomataceae	<i>Mouriri guianensis</i> Aubl.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Mouriri</i> cf. <i>pusa</i> Gardner	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Miconia poeppigii</i> Triana	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Miconia holosericea</i> (L.) DC.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Miconia cuspidata</i> Naudin	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Miconia albicans</i> (Sw) Triana	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Miconia rubiginosa</i> (Sw) (Bonpl)	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Miconia lepidota</i> Shrank & Mart. ex DC	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Macairea radula</i> (Bonpl.) DC	SNC	-	-	+	+	-	-	-
Malpighiaceae	<i>Byrsonima chrysophylla</i> Kunth	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Byrsonima verbascifolia</i> (L.) DC.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	SAF	-	-	+	+	-	-	-
Ixonanthaceae	<i>Ochthocosmus barrae</i> Hallier f.	SAF	-	-	+	+	-	+	-
Aracaceae	<i>Oenocarpus distichus</i> Mart.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
Euphorbiaceae	<i>Maprounea guianensis</i> Aubl	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Alchornea discolor</i> Poepp	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Manihot caerulea</i> Pohl	SNC	-	-	+	+	-	-	-
Humiriaceae	<i>Humiria balsamifera</i> (Aubl.) A.St.- Hil.	SNC	-	-	+	+	-	+	-
	<i>Sacoglottis mattogrossensis</i> Malme	SAF	-	-	+	+	-	+	-
Chrysobalanaceae	<i>Licania egléri</i> Prance	SNC	-	-	+	+	-	-	-
	<i>Licania</i> cf. <i>apetala</i> (E.Mey.) Fritsch	SAF	-	-	+	+	-	-	-
Pentaphylacaceae	<i>Ternstroemia dentata</i> (Aubl.) Sw.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
Loganiaceae	<i>Bonyunia antoniiifolia</i> Progel	SAF	-	-	+	+	-	+	-
Moraceae	<i>Ficus</i> cf. <i>mathewsii</i> (Miq) Miq.	SNC	-	-	+	+	-	+	-
Proteaceae	<i>Roupala montana</i> Aubl.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
Marcgraviaceae	<i>Norantea guianensis</i> Aubl.	SNC	-	-	+	+	-	-	-
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum anguifugum</i> Mart.	SNC	-	-	+	+	-	-	-
Bignoniaceae	<i>Fridericia cinnamonea</i> (DC.) L.G. Lohmann	SNC	-	-	+	+	-	-	-
Pentaphylacaceae	<i>Ternstroemia dentata</i> (Aubl.) Sw.	SAF	-	-	+	+	-	-	-
Icacinaceae	<i>Emmotum nitens</i> (Benth.) Miers	SNC	-	-	+	+	-	-	-
Sapotaceae	<i>Chrysophyllum</i> sp.	SNC	-	-	+	+	-	+	-
Polygalaceae	<i>Bredemeyera</i> sp.	SNC	-	-	+	+	-	-	-

Legenda: (SAF) - Savana Amazônica de Alta Floresta; (SNC) Savana Amazônica de Nova Canãa do Norte; DT – Ducto secretor; CV – Cavidade secretora; ID – Idioblastos; TC – Tricomas; CO – Coléter; LA – Laticíferos; NC – Nectários.