

Nectários estipulares em *Monnina exalata* A.W. Benn (Polygalaceae)

Joana Patrícia Pantoja Serrão Filgueira^{1*}, José Floriano Barêa Pastore², Diego Demarco³, Ana Cristina Andrade de Aguiar-Dias⁴

1. Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Botânica Tropical, Belém, Pará, Brasil.

2. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

3. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo, São Paulo, Brasil.

4. Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, Pará, Brasil.

*Autor para correspondência: joanapfilgueira@gmail.com

RESUMO

Glândulas nodais são encontradas em um terço dos gêneros de Polygalaceae e possuem grande importância taxonômica, ecológica e evolutiva. No Brasil, ocorrem em cinco, dos onze gêneros já registrados. A origem dessas glândulas tem sido alvo de investigações sobre possuírem ou não origem estipular. Este estudo investigou a origem e estrutura das glândulas nodais de *Monnina exalata* A.W. Benn. Para isso, amostras de regiões nodais foram fixadas e processadas de acordo com os métodos usuais para microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Em campo, para verificar a presença de glicose na secreção, usou-se Glicofita Plus que permitiu classificar as glândulas nodais como nectários extraflorais (NEFs). Por meio de cortes anatômicos seriados da região nodal, observou-se que os NEFs nodais têm sua origem nas extremidades do traço foliar, o que os define como NEFs estipulares. Os NEFs estipulares, em seção longitudinal, apresentam epiderme uniestratificada; parênquima nectarífero com células arredondas, de parede celular delgada e protoplasto denso; também foi observado a presença de um orifício orbicular conectando o tecido nectarífero com o ambiente para qual o néctar será secretado. A origem estipular em glândulas nodais é um dado inédito para *Monnina*.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, estruturas secretoras, Polygalaceae.

Stipular nectaries in *Monnina exalata* A.W. Benn (Polygalaceae)

ABSTRACT

Nodal glands are found in one third of the Polygalaceae genera and have valuable taxonomic, ecological and evolutionary significance. In Brazil, they occur in five of the eleven genera already registered. The origin of the glands has been the subject of investigations on whether or not they originate stipulated. This study investigated a structure and structure of the nodal glands of *Monnina exalata* A.W. Benn. For this, samples from normal regions were fixed and processed according to the usual methods for light microscopy and scanning electron microscopy. In the field, to verify the presence of glucose in the secretion, was used Glyphyte Plus that allowed to classify like nodal glands like extraflorais nectaries (EFNs). By means of serial anatomical cuts of the nodal region, it was observed that the nodal NEFs have their origin in the ends of the leaf trait, what defines them as stipulated EFNs. Stipulated EFNs, in longitudinal section, show unstratified epidermis; Nectariferous parenchyma with round cells, cell wall and dense protoplast; it was also observed the presence of an orbicular orifice connecting the nectariferous tissue with the environment to which the nectar will be secreted. The origin stipulate in nodal glands is an unprecedented data for *Monnina*.

Keywords: Plant anatomy, secretory structures, Polygalaceae.

Introdução

Polygalaceae Hoffmanns. & Link compreende 20 gêneros e cerca de 1.200 espécies. No Brasil, está representada por duas tribos, Polygaleae e Moutabeae, onze gêneros e cerca de 200 espécies (PASTORE et al., 2015) que ocorrem em todas as formações vegetacionais (AGUIAR-DIAS et al., 2012).

Dentre os caracteres com valor taxonômico significativo presentes na família destacam-se as estruturas secretoras, em particular, as glândulas nodais. Estas estruturas estão presentes em cinco dos onze gêneros que ocorrem no Brasil: *Caamemba* J.F.B. Pastore, *Diclidanthera* Mart., *Monnina* Ruiz & Pav., *Moutabea* Aubl. e *Securidaca* L. (PASTORE et al., 2015).

Desde os trabalhos de Chodat (1891), estas glândulas são alvos de especulação sobre serem ou não estípulas modificadas. Dickison (1973) foi o primeiro que estudou essas estruturas no gênero *Xanthophyllum* Roxb., verificando que estavam ligados ao traço foliar. Já Erikson; Persson (2007) e Marques; Peixoto (2007) sugerem que as glândulas na família, sem especificar grupos, são nectários pertencentes ao caule e não à folha. Finalmente Aguiar-Dias et al., (2011) constatam, por meio da análise de seções anatômicas das glândulas nodais de *Caamemba laureola* (A. St-Hil. & Moq.) J. F. B.

Pastore, que estas estão, de fato, ligadas ao traço foliar denominando-as glândulas estipulares. Filgueira et al. (2016) também encontraram glândulas de origem estipular em *Caamemba spectabilis* (DC.) J.F.B.Pastore.

Aguiar-Dias (2008) ressalta a importância de se investigar a origem das glândulas nodais em outros gêneros, proporcionando assim um melhor entendimento da evolução destas estruturas em Polygalaceae, pois o fato de glândulas nodais de origem estipular serem registradas para um gênero, não significa que este é um caráter presente para todos os outros. *Monnina* Ruiz & Paiva é representada no Brasil por 13 espécies e está incluído na tribo Polygaleae (PASTORE et al., 2015). Ludtke et al., (2009) ao estudar o gênero na região sul do Brasil usou a presença ou ausência de glândulas nodais como estado de caráter fundamental para a identificação das espécies.

O objetivo deste estudo foi investigar a origem e estrutura das glândulas nodais de *Monnina exalata* A.W. Benn com o intuito de ampliar o conhecimento das glândulas nodais em Polygalaceae e constatar a sua origem em mais de um gênero da família.

Material e Métodos

As amostras das glândulas nodais (1^o ao 4^o nó) de *Monnina*

exalata foram coletadas em Brasília-DF-Brasil e fixadas em FAA₅₀ (JOHANSEN, 1940). A identificação da espécie foi feita por especialista da família. Para verificar a ocorrência de glicose no exsudado das estruturas nodais utilizou-se, ainda em campo, o teste da Glicofita Plus (Glicofita Plus®, Accu-Chek Active® - F. Hoffmann La Roche Ltd.©).

Para a análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV), amostras previamente fixadas foram desidratadas em série etílica crescente, secas pelo método de ponto crítico de CO₂ (SOUZA, 1998), montadas em suportes metálicos e metalizadas com ouro em camada de 20 nm de espessura, por 150 segundos em corrente de 25 mA. As eletromicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (Leo Electron Microscopy Ltd, 1450 VP, Cambridge, Inglaterra), com escalas micrométricas projetadas nas mesmas condições ópticas.

Para as análises em microscopia de luz, as amostras nodais também previamente fixadas foram desidratadas em série butílica e incluídas em parafina. Cortes seriados foram realizados por meio de micrótomo rotativo (modelo Leica® RM 2245), corados em safranina e azul de astra (GERLACH, 1984) e montados em resina sintética *Permout* (Permout, Nova Jersey, EUA). As fotomicrografias foram obtidas em microscópio (Axiolab, Zeiss, Jena, Alemanha) com câmera digital acoplada. Amostras também foram submetidas à luz polarizada com intuito de evidenciar constituintes celulares de natureza birrefringente.

Resultados

Monnina exalata possui em cada região nodal um par de glândulas próximas à base do pecíolo. Utilizando Glicofita Plus, foi possível verificar a natureza do exsudato composto por açúcar, caracterizando essas estruturas como nectários extraflorais (NEFs) (Figuras 1A-B).

Morfologicamente, os NEFs nodais possuem formato cilíndrico, com aproximadamente 0,2 - 0,8 mm de comprimento e 0,2 - 0,6 mm de largura; o ápice das glândulas é sulcado, no qual é possível notar um orifício orbicular centralizado pelo qual a secreção (néctar) será liberada (Figura 1C). Tricomas tectores de parede conspicua e ápice afilado estão presentes na base nectarífera, enquanto que papilas são visualizadas próximas ao ápice das glândulas. Hifas foram observadas próximas ao orifício nectarífero (Figuras 1B-C).

Por meio da análise dos cortes seriados dos nós caulinares, foi verificado que as glândulas nodais têm sua vascularização ligada ao traço foliar. Este emite de suas extremidades dois feixes de xilema e floema que participam da vascularização de cada glândula. Assim, cada par de NEFs nodais está ligado à folha, confirmando sua origem estipular (Figura 1D).

Em seção longitudinal, os NEFs estipulares possuem epiderme nectarífera uniestratificada, com células em paliçadas, recobertas por uma fina camada cuticular. (Figuras 1D-E). O tecido parenquimático nectarífero é constituído por células arredondadas, de parede celular delgada e protoplasto denso (Figura 1E) que são delimitadas na região apical pela epiderme nectarífera, na região mediana por elementos de condução apenas do floema e na porção basal por elementos de condução do floema e xilema (Figura 1F).

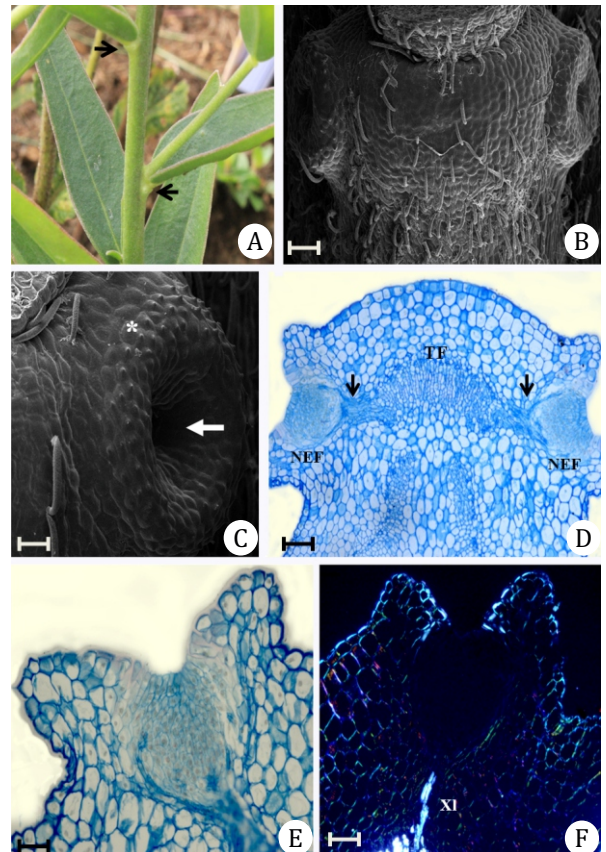


Figura 1. NEF estipulares em *Monnina exalata* A.W.Benn: **A.** Localização nodal dos NEFs (seta); **B.** Posicionamento dos NEFs na região nodal; **C.** Detalhe do NEF, notar orifício pelo qual o néctar é secretado (setas) e epiderme com papilas (*); **D.** Vascularização do nectário ligada ao traço foliar (seta); **E.** Estrutura geral do nectário; **F.** Estrutura do nectário sob luz polarizada, notar xilema localizado apenas na região basal. Legendas: TF: Traço Foliar; NEF: Nectário Extrafloral; Xl: Xilema. Escalas: B: 400µm; C: 150µm; D: 200µm; E-F: 100µm. / **Figure 1.** Stipulates EFN in *Monnina exalata* A.W.Benn: **A.** Nodal location of the EFNs (arrow); **B.** Positioning of the EFNs in the nodal region; **C.** Detail of EFNs, note hole through which nectar is secreted (arrows) and epidermis with papillae (*); **D.** Vascularization of nectary linked to leaf trait (arrow); **E.** General structure of the nectary; **F.** Structure of the nectary under polarized light, note xylem located only in the basal region. Subtitles: TF: Foliar Trait; NEF: Extrafloral Nectary; Xl: Xylem. Scales: B: 400µm; C: 150µm; D: 200µm; E-F: 100µm.

Discussão

Os resultados encontrados nesse trabalho corroboraram estudos de Aguiar-Dias et al. (2011) e Filgueira et al. (2016) que também encontraram glândulas nodais com origem estipular em espécies do gênero *Caamembeca*, todavia esse é um dado inédito para o gênero *Monnina*.

A presença de glândulas estipulares em mais de um gênero de Polygalaceae é um fato relevante e que aponta a necessidade de mais estudos que procurem explicar como essas estruturas se distribuíram na família, já que este não é um caráter presente em todos os gêneros do grupo. Aguiar-Dias et al. (2011), sugerem que Polygalaceae pode ter compartilhado a condição estipular com Leguminosae. A ausência de estípulas propriamente ditas é um dos estados de caracteres distintivos entre Polygalaceae e as demais famílias que compõe a ordem Fabales (JUDD et al., 2009, SOUZA; LORENZI, 2012), todavia a presença de estípulas modificadas pode ser observada frequentemente nas Angiospermas (WEBBERLING, 2006).

Mesmo que morfologicamente diferentes, as glândulas nodais de *Monnina exalata* apresentam características anatômicas homólogas aos nectários estipulares de *Caamembeca* estudados por Aguiar-Dias et al. (2011) e Filgueira et al. (2016). Assim, a presença de tecido secretor

evidente, delimitado em sua maior parte apenas por elementos do floema, com os elementos do xilema restritos a posição basal as células do parênquima nectarífero, podem ser um padrão estrutural para os NEFs nodais presentes em Polygalaceae.

Segundo Fahn (1979) a liberação do néctar pode ocorrer através de estômatos, de tricomas ou por ruptura da cutícula. Em *Monnina exalata* a liberação é feita por meio do orifício localizado ao centro do ápice nectarífero. Provavelmente no tecido secretor, a seiva retirada do floema é transformada em pré-néctar e mais tarde em néctar, para que, através do orifício nectarífero possa ser liberada para o ambiente (FAHN, 1979).

A presença de glicose no exsudato é o que permite classificar as glândulas nodais como nectários extraflorais. A presença de NEFs possibilita a ocorrência de relações ecológicas entre plantas e insetos, em especial com a entomofauna de formigas que podem exercer função importante na proteção de plantas contra o ataque de insetos maiores (BENTLEY, 1977; ELIAS, 1983). Aguiar-Dias et al. (2015) ressaltam que a presença de glicose na secreção das glândulas, a presença de floema em torno do tecido secretor, bem como a posição das glândulas e a ocorrência de formigas coletoras de néctar sugerem que sua função dos NEFs nodais não está associada ao processo de polinização, mas associada a interações com formigas. Aguiar-Dias et al. (2011) e Filgueira et al. (2016) encontraram formigas nos nectários nodais de espécies de *Caamembeca*, e mesmo que o enfoque ecológico não tenha sido o objetivo desse trabalho, a presença dessas características pode indicar a possível existência de uma relação semelhante.

Conclusão

As glândulas nodais presentes em *Monnina exalata* foram identificadas como nectários de origem estipular, sendo este um registro inédito para o gênero. Contudo essa identificação não pode ser generalizada para todos os gêneros nodais da família, sendo necessária a ampliação de estudos que continuem a investigar a possível origem estipular dessas estruturas.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao Laboratório de Microscopia de Varredura e ao Laboratório de Anatomia Vegetal do Museu Paraense Emílio Goeldi onde as análises foram conduzidas. *Este artigo é resultado da dissertação de mestrado do primeiro autor que agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Botânica Tropical.*

Referências Bibliográficas

- AGUIAR-DIAS, A. C. A. **Estudos morfológicos em cinco espécies de *Polygala* L. (Polygalaceae) com ênfase nas estruturas secretoras.** 2008. 239 f. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- AGUIAR-DIAS, A. C. A.; FEIO, A. C.; PASTORE, J. F. B. Development, structure and function of bracteal nectaries in *Caamembeca laureola* (A.St.Hil & Moq.) JFB Pastore (Polygalaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 38, n. 3, p. 657-667, 2015.
- AGUIAR-DIAS, A. C. A.; YAMAMOTO, K.; CASTRO, M. M. Anatomia foliar de cinco espécies de *Polygala* de restinga e cerrado. **Rodriguésia**, v. 63 p. 395-404, 2012.

- AGUIAR-DIAS, A. C. A.; YAMAMOTO, K.; CASTRO, M. M. Stipular extranuptial nectaries new to *Polygala*: morphology and ontogeny. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 166, p. 40-50. 2011.
- BENTLEY, B. L. Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 8, p. 407-427. 1977.
- CHODAT, R. H. Sur la distribution et l'origine Polygalacées. **Archives des Sciences Physiques et Naturelles**, v. 25, p. 695-714, 1891.
- DICKISON, W. C. Nodal and leaf anatomy of *Xanthophyllum* (Polygalaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 67, p. 103-115, 1973.
- ELIAS, T. S. Extrafloral nectarines: their structure and distribution. In: BENTLEY B. L.; ELIAS T. S. (ed.) **The biology of nectaries**. Columbia University Press, New York, 1983. p. 74-203.
- ERIKSEN, B.; PERSSON, C. Polygalaceae. In: KUBITZKI, K. (ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants** vol. IX. Springer. Verlag, Berlin, 2007. p. 345-363.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. Academic Press, London, 1979.
- FILGUEIRA, J. P. P. S.; KIKUCHI, T. Y. S.; COELHO-FERREIRA, M. R. Morphology, ontogeny and structure of the stipular nectaries in *Caamembeca spectabilis* (Polygalaceae). **Acta Amazonica**, v. 46, n. 2, p. 127-132, 2016.
- GERLACH, D. **Botanische mikrotechnik**. Stuttgart: Thieme Verlag. p. 311. 1977.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New Deldi: MacGraw-Hill. 523p. 1940.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLONGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGUE, M. J. **Sistemática vegetal: um Enfoque Filogenético**, (3. Ed.), Porto Alegre, RS. Atmed Editora, 2009.
- LUDTKE, R.; SOUZA-CHIES, T. T.; MIOTTO, S. T. S. O gênero *Monnina* (Polygalaceae) na Região Sul do Brasil. **Acta botânica brasileira**, v. 23, n. 1, p. 175-195. 2009.
- MARQUES M. C. M.; PEIXOTO, A. L. Estudo taxonômico de *Polygala* subgênero *Liguistrina* (Chodat) Paiva (Polygalaceae). **Rodriguésia**, v. 58, n. 1, p. 095-146, 2007.
- PASTORE, J. F. B.; LUDTKE, R.; FERREIRA, D. M. C.; KUNTZ, J. Polygalaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB20541> (Acessada em 20/02/2017).
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.
- SOUZA, W. Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicada às ciências biológicas. Rio de Janeiro: **Sociedade de Microscopia Eletrônica**, p.179, 1998.
- WEBERLING, F. Las estípulas como caracteres sistemáticos confiables. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 41, n. 1-2, p. 127-150, 2006.