

Diversidade e desenvolvimento dos tricomas glandulares de *Lomatozona artemisiifolia* Baker (*Asteraceae* - *Eupatorieae*) - uma planta endêmica do Cerrado de Goiás¹

²Luma Mota Palmeira Trindade, ³Yanne Sousa Fernandes & ⁴Letícia de Almeida Gonçalves

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal, Universidade Federal de Goiás.

^{2,3} Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal.

⁴ Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica - Campus Samambaia, C.P. 131, CEP:74001-970 - Goiânia - Goiás, Brasil. leticia.icb.ufg@gmail.com

Recebido em 03.IX.2013. Aceito em 25.VI.2014.

RESUMO – *Lomatozona artemisiifolia* é encontrada apenas no estado de Goiás, Brasil. O presente trabalho identificou os tricomas glandulares presentes em seus órgãos vegetativos aéreos e flores, bem como descreveu as principais etapas ontogenéticas dos tricomas que ocorrem na folha e no caule. Foram utilizadas amostras caulinares, foliares, florais e brácteas involucreais, analisadas em microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. *L. artemisiifolia* possui tricomas glandulares classificados no presente trabalho em quatro tipos. O tipo I possui pedúnculo unisseriado e cabeça bisseriada; o tipo II é bisseriado pedunculado; o tipo III é bisseriado de aspecto vesiculoso e o tipo IV é unisseriado recurvado sobre a epiderme, com pedúnculo longo e cabeça unicelular. O evento inicial do desenvolvimento dos tricomas é a expansão da célula protodérmica. Para os tricomas de pedúnculo unisseriado a primeira divisão é periclinal. Para os bisseriados é anticlinal.

Palavras chave: estruturas secretoras, ontogenia, tricoma vesiculoso

ABSTRACT – Diversity and development of glandular trichomes in *Lomatozona artemisiifolia* Baker (*Asteraceae* - *Eupatorieae*) – an endemic plant species from the Cerrado of Goiás. *Lomatozona artemisiifolia* is found only in the State of Goiás, Brazil. In this study we identified glandular trichomes on aerial vegetative organs and flowers, and described the main ontogenetic stages of trichomes in leaves and stems. Samples of stems, leaves, flowers, and involucre bracts were analyzed under optical and scanning electron microscopy. *L. artemisiifolia* has glandular trichomes, classified into four types. Type I has a uniseriate peduncle and biseriate head; type II is biseriate peduncular; type III is biseriate with a vesicular aspect; and type IV is uniseriate and curved towards the epidermis, with a long peduncle and unicellular head. The initial event in trichome development is the expansion of the protodermal cell. In trichomes with uniseriate peduncles, the first division is periclinal. In biseriate trichomes, it is anticlinal. These results contribute to the knowledge on the genus and may support taxonomic studies of the tribe.

Keywords: ontogeny, secretory structures, vesicular trichome

INTRODUÇÃO

O gênero *Lomatozona* Baker (*Asteraceae*, *Eupatorieae*) é encontrado em áreas de cerrado

rupestre da região Centro-Oeste do Brasil, principalmente nos estados de Mato Grosso e Goiás (Oliveira 2014), sendo reconhecidas quatro espécies (King & Robinson 1987). *L. artemisiifolia* Baker é

um subarbusto com ocorrência restrita ao estado de Goiás (King & Robinson 1987) e já foi registrada para as cidades de Serranópolis, Mossâmedes e Jataí (Oliveira 2014). Na lista vermelha da flora brasileira ameaçada de extinção, está classificada como DD (Nakajima *et al.* 2012), o que significa que é uma espécie de distribuição restrita, com poucos registros de informação.

Os tricomas glandulares são anexos epidérmicos que variam muito quanto à composição química das substâncias secretadas, quanto à estrutura e à localização (Werker 2000) e estão relacionados à proteção da planta contra fatores bióticos e abióticos (Johnson 1975, Werker 2000). Os tricomas glandulares que secretam óleos essenciais são muito comuns nas Asteraceae (Solereider 1908, Metcalfe & Chalk 1950), onde podem ocorrer em órgãos aéreos e subterrâneos (Apezato-da-Gloria *et al.* 2012), e considerados importantes microcaracterísticas na sistemática da família (Robinson 2009).

As investigações recentes sobre os tricomas glandulares na tribo Eupatorieae incluem discussões sobre suas funções ecológicas (Aschenbrenner *et al.* 2013), sobre a produção de metabólitos secundários em plantas de uso medicinal (Hensel *et al.* 2011) e sobre a importância dos seus tipos morfológicos na sistemática do grupo (Roque *et al.* 2012). Entretanto, para o gênero *Lomatozona* apenas King & Robinson (1987) relatam a presença de glândulas unisseriadas, raramente bisseriadas, recobrando as folhas e o caule.

Tendo em vista que a caracterização das estruturas secretoras, bem como a descrição de aspectos relacionados ao desenvolvimento das mesmas pode subsidiar trabalhos ecológicos e taxonômicos das *Asteraceae* e, ainda, contribuir para a conservação de suas espécies, o objetivo deste trabalho é identificar e caracterizar os tipos de tricomas glandulares que ocorrem nos órgãos vegetativos aéreos e nas flores de *Lomatozona artemisiifolia*, bem como descrever as principais etapas ontogenéticas dos tricomas que ocorrem nas folhas e no caule.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi coletado na Reserva Biológica da Universidade Federal de Goiás “Prof. José Ângelo Rizzo”, situada no Parque Estadual da Serra Dourada, que se localiza nos municípios de Mossâmedes, Goiás e Buritis de Goiás. Os indivíduos foram encontrados em cerrado rupestre, crescendo sobre fina camada de solo. Para a caracterização dos tricomas glandulares foram utilizadas plantas

crescidas em ambiente natural. Para o estudo da ontogenia dos tricomas glandulares foram utilizadas plantas jovens obtidas por germinação de sementes. Para cada estudo foram utilizadas amostras de, no mínimo, três indivíduos. Os ramos férteis foram coletados em julho, agosto e setembro e as exsicatas estão depositadas no herbário da Universidade Federal de Goiás (UFG).

As folhas completamente expandidas inseridas no 3º ao 5º nó (a contar do ápice para a base), amostras do 2º ao 5º entrenós, flores do disco e brácteas involucrais foram usadas para caracterizar os tipos de tricomas. Ápices caulinares foram utilizados para o estudo da ontogenia. As amostras foliares e caulinares foram transportadas em embalagens plásticas até o laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Goiás. Parte das amostras foi fixada em FAA50 (Johansen 1940) para análise em microscópio óptico e outra parte foi fixada em Karnovsky (Karnovsky 1965) para análise em microscopia eletrônica de varredura.

As amostras caulinares e foliares foram seccionadas a mão livre. Os ápices caulinares foram incluídos em parafina (Johansen 1940) para obtenção de cortes longitudinais e as flores e as brácteas involucrais foram analisadas apenas em microscopia eletrônica de varredura. Os cortes caulinares e foliares obtidos a mão livre foram submetidos à fucsina básica 0,1 % e azul de astra 0,3% (Kraus *et al.* 1998) por 10 minutos. Os cortes longitudinais dos ápices foram submetidos à hematoxilina férrica de Heidenhain (Sass 1951) por 24 horas, fucsina básica 0,1% e azul de astra 0,3% (Kraus *et al.* 1998, modificado) por aproximadamente 15 minutos. Os cortes obtidos a mão livre foram montados, entre lâmina e laminula, em glicerina 50% e os cortes obtidos em micrótomo rotativo foram montados em verniz vitral incolor 500® (Paiva *et al.* 2006). A documentação fotográfica foi realizada em microscópio Leica DM 500 acoplado ao sistema de captura de imagens.

O material destinado a microscopia de varredura foi, após fixação, lavado e mantido em tampão cacodilato 0,05 M em pH 7,2. Após desidratação em soluções crescentes de álcool etílico (Bozzola & Russel 1999), as amostras foram submetidas à secagem ao ponto crítico de CO₂ líquido e metalizadas com de filmes de ouro no “Denton Vacuum”. A análise foi realizada em microscópio eletrônico de varredura, Jeol, JSM – 610, equipado com “EDS e Thermo scientific NSS Spectral Imaging”, operado a 4 Kv.

RESULTADOS

O caule e a folha de *L. artemisiifolia* possuem elevada densidade de tricomas glandulares. Esses tricomas foram classificados em quatro tipos. O tipo I possui pedúnculo unisseriado (2-6 células) e cabeça secretora bisseriada (3 a 6 pares) (Figs. 1A-D, 2A-D); o tipo II é bisseriado pedunculado, o pedúnculo possui 1 a 4 pares de células e a cabeça 5 a 6 pares (Figs. 1E, F, 2E, F); o tipo III é bisseriado vesiculoso com espaço subcuticular ampliado, possui 6 a 7 pares de células e localiza-se em depressões na epiderme (Figs. 1G, H, 2G) e o tipo IV é unisseriado recurvado sobre a epiderme com pedúnculo longo (4 a 6 células) e cabeça secretora unicelular volumosa, globosa a obilonga (Figs. 1I, 2H). O amplo espaço subcuticular do tricoma bisseriado vesiculoso (Fig. 1H) indica o local de armazenamento da secreção.

Todos os tipos de tricomas registrados ocorrem em ambas às faces da lâmina foliar e no pecíolo. Entretanto, o tipo IV (unisseriado recurvado sobre a epiderme) é encontrado em maior frequência na região da nervura mediana e principalmente na face adaxial da lâmina foliar. Na face abaxial das brácteas involucrais (Figs. 3A, B) e na região mais apical da face abaxial das pétalas (Figs. 3C, D), foram observados apenas tricomas do tipo I.

Os tricomas glandulares não ocorrem nos cotilédones e no epicótilo de *Lomatozona artemisiifolia*. Entretanto, eles foram observados no epicótilo e nos prófilos. Os tricomas que ocorrem nas folhas e no caule (tipos I, II, III e IV) se diferenciam ainda no ápice caulinar, onde foram observados em várias fases de desenvolvimento (Fig. 4A). Entretanto, o evento inicial da ontogenia de todos os tipos é semelhante: a expansão de uma célula protodérmica no sentido anticlinal, com o vacúolo na porção basal e o núcleo na porção distal (Fig. 4B).

No tricoma de pedúnculo unisseriado e cabeça bisseriada (tipo I) a primeira divisão da célula protodérmica expandida ocorre no sentido periclinal (Fig. 4C). Após sucessivas divisões periclinais que darão origem ao pedúnculo (Figs. 4D, E), ocorre, uma divisão anticlinal da célula mais apical (Fig. 4F) e, posteriormente, sucessivas divisões periclinais para formação da cabeça bisseriada.

Nos tricomas bisseriados (tipos II e III) a primeira divisão da célula protodérmica expandida é anticlinal (Fig. 5A). As duas células resultantes, que ainda permanecem com aspecto mais expandido se comparadas as demais células protodérmicas,

passam então por sucessivas divisões periclinais (Figs. 5B, C).

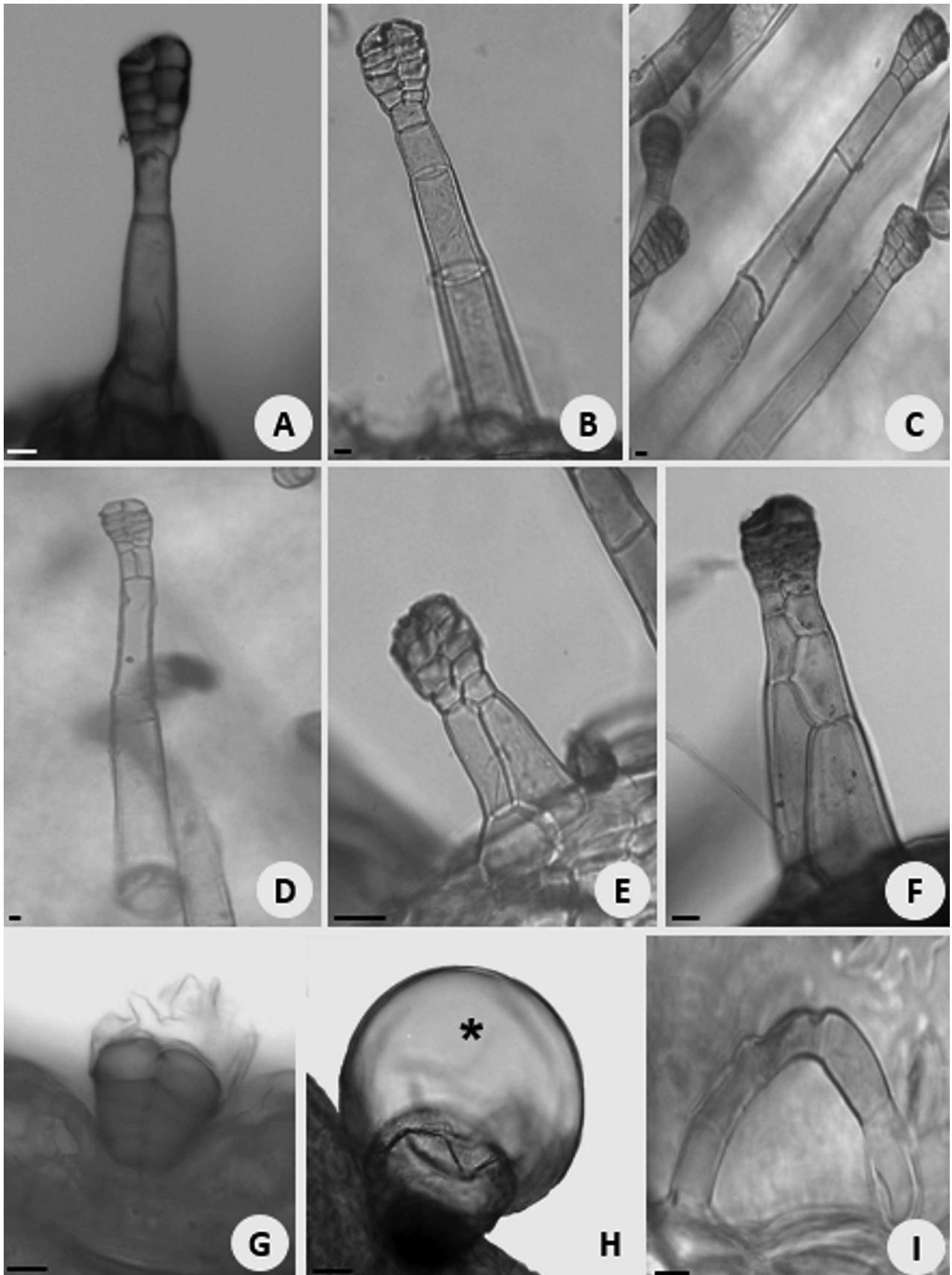
A ontogenia do tricoma tipo unisseriado recurvado (tipo IV) ocorre, provavelmente, como resultado de sucessivas divisões periclinais da célula protodérmica expandida. Entretanto, ele foi observado apenas em fase avançada de desenvolvimento nos ápices analisados (Fig. 6D).

DISCUSSÃO

Nas folhas e no caule de *L. artemisiifolia* foram identificados e caracterizados quatro tipos de tricomas glandulares densamente distribuídos. Segundo King & Robinson (1987) as folhas e o caule das espécies do gênero *Lomatozona* são cobertos com glândulas pedunculadas unisseriadas, raramente bisseriadas. Entretanto, em *L. artemisiifolia* ocorrem dois tipos de tricomas bisseriados amplamente distribuídos nas folhas e no caule: o tipo II (bisseriado pedunculado) e o tipo III (bisseriado vesiculoso).

A pubescência formada pelos tricomas glandulares, assim como pelos tectores, pode proteger a planta contra fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores abióticos, a função mais discutida é a de proteção contra perda excessiva de água, seja pela manutenção de uma atmosfera saturada em vapor de água na superfície do órgão, seja pela reflexão da radiação solar que chega até as folhas e, conseqüentemente, diminuição da temperatura (Johnson 1975). Considerando os fatores bióticos, destaca-se a produção de compostos secundários que podem conferir proteção contra herbívoros e patógenos (Levin 1976, Picman *et al.* 1978, Wagner 1991). Considerando que *L. artemisiifolia* ocorre em ambiente de cerrado rupestre, com solos arenosos e pouco profundos e sob elevada incidência de radiação, a ocorrência densa dos tricomas glandulares está relacionada, provavelmente, a proteção contra transpiração excessiva durante a abertura dos estômatos nos períodos de estiagem. Além disto, conferem certamente proteção contra herbívoros e patógenos.

Além de ocorrer em outras espécies da tribo Eupatorieae, o tricoma bisseriado vesiculoso, identificado nas folhas no caule e nas flores de *L. artemisiifolia*, ocorre também em várias espécies de outras tribos como Astereae, Heliantheae, Inuleae, Mutisieae e Vernonieae (Cortadi *et al.* 1999, Castro *et al.* 1997). Tricomas unisseriados recurvados, que ocorrem nas folhas e no caule de *L. artemisiifolia*, também foram relatados por Castro *et al.* (1997) em



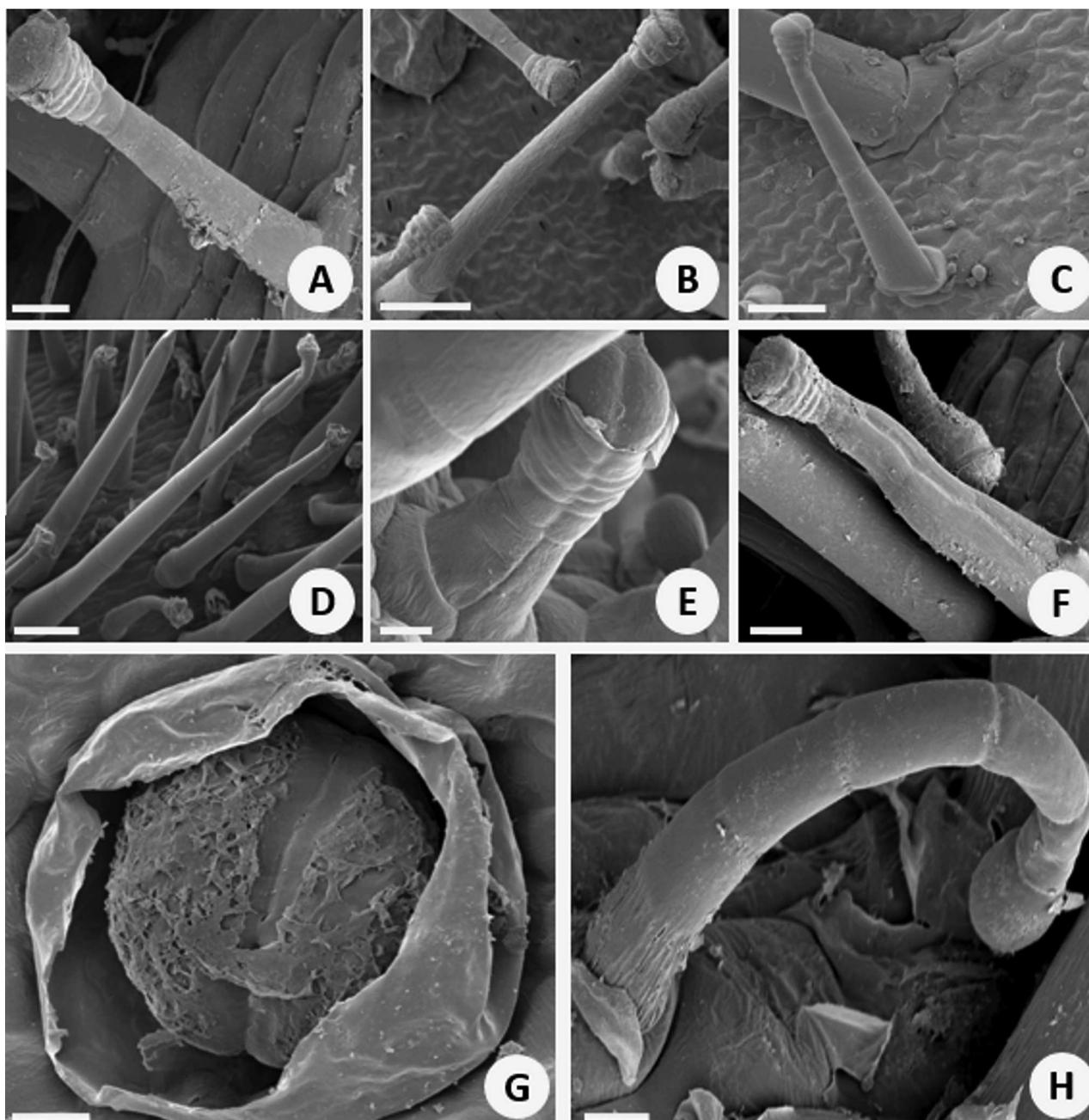
Figs. 1 A-I. Tricomas glandulares de *Lomatozona artemisiifolia* em microscopia óptica; **A-D.** Tipo I, com pedúnculo unisseriado e cabeça bisseriada; **E, F.** Tipo II, bisseriado pedunculado; **G, H.** Tipo III, bisseriado vesiculoso localizado em depressões na epiderme, com espaço subcuticular (*) ampliado; **I.** Tipo IV, unisseriado recurvado sobre a epiderme. Barras = 10 μ m.

outras espécies de Eupatorieae (gêneros *Mikania* Willd. e *Stevia* Cav.) e ainda em espécies de vários gêneros de Heliantheae.

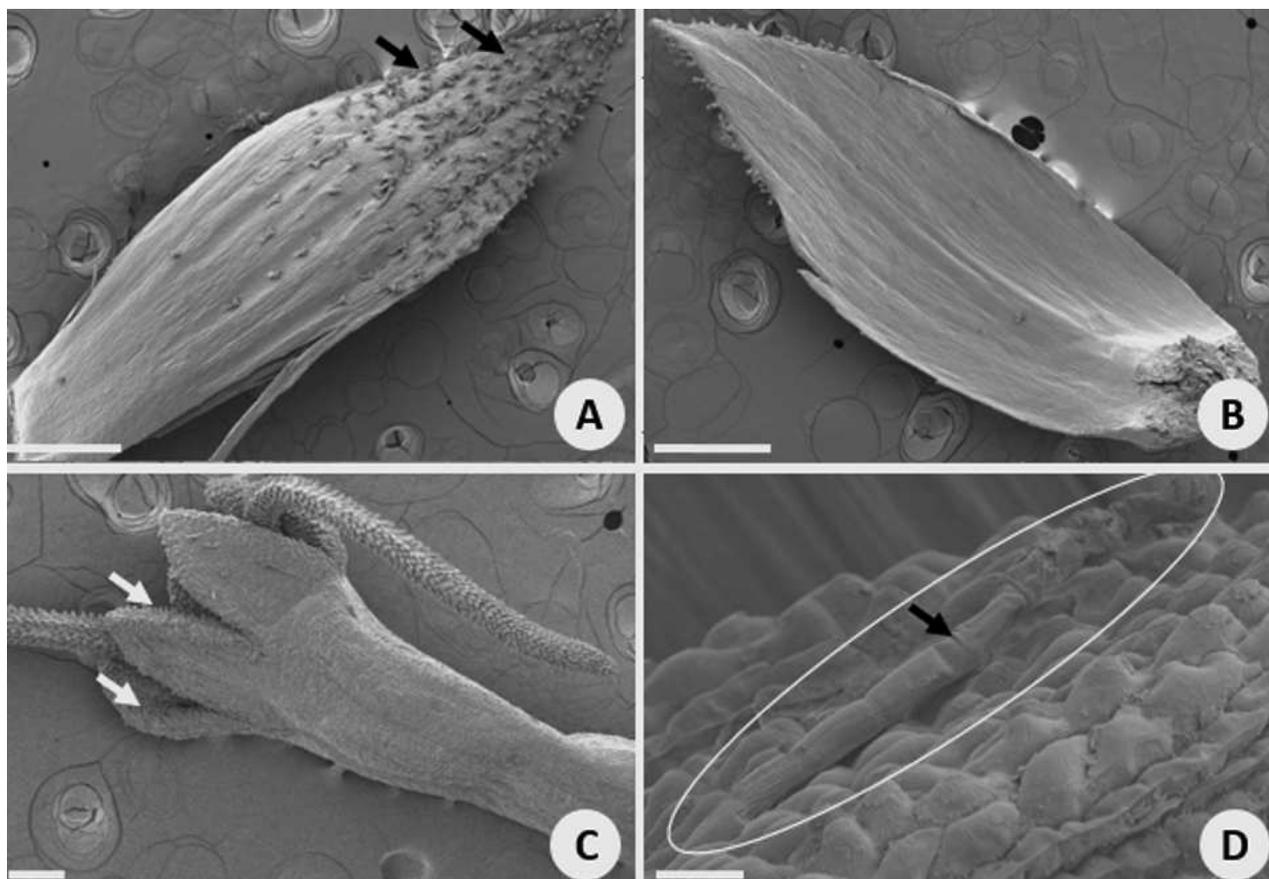
Considerando a diversidade de tipos morfológicos dos tricomas em *L. artemisiifolia* foi possível determinar apenas as primeiras etapas ontogenéticas dos mesmos. Os resultados indicam que a primeira divisão da célula protodérmica, geneticamente comprometida com a formação de um tricoma, define a natureza final da estrutura. Se a primeira divisão for

periclinal, o produto final é um tricoma com pedúnculo unisseriado. Se a primeira divisão for anticlinal, o produto final será, entretanto, um tricoma bisseriado. Os resultados são semelhantes aos que foram obtidos em outras espécies de Asteraceae como *Inula viscosa* (L.) Ait. (Werker & Fahn 1981) *Artemisia campestris* (spp. *maritima*) (Ascensão & Pais 1987) e *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bert. (Monteiro *et al.* 2001).

Conclui-se, portanto, que em *L. artemisiifolia* ocorrem quatro tipos morfológicos de tricomas



Figs. 2 A-H. Tricomas glandulares de *Lomatozona artemisiifolia* em microscopia eletrônica de varredura; **A-D.** Tipo I, com pedúnculo unisseriado e cabeça bisseriada; **E, F.** Tipo II, bisseriado pedunculado; **G.** Tipo III, bisseriado vesiculoso com a cutícula rompida; **H.** Tipo IV, unisseriado recurvado sobre a epiderme.



Figs. 3A-D. Micromorfologia das brácteas involucrais e da flor de *Lomatozona artemisiifolia*; **A.** Face abaxial da bráctea involucral com tricomas tipo I (seta); **B.** Face adaxial da bráctea involucral sem tricomas; **C.** Vista geral da flor evidenciando a ocorrência dos tricomas nas regiões mais apicais das pétalas (setas); **D.** Detalhe de um tricoma do tipo I na face abaxial da pétala (seta).

glandulares densamente distribuídos nas folhas e no caule. A ontogenia no ápice caulinar inicia-se a partir de uma célula protodérmica expandida e a primeira divisão define a estrutura final do tricoma. Considerando que a diferenciação ocorre nos ápices caulinares, os tricomas que ocorrem nas folhas e caule estão presentes mesmo em plantas jovens. Os resultados relatados no presente trabalho ampliam o conhecimento sobre o gênero e poderá subsidiar estudos taxonômicos na tribo.

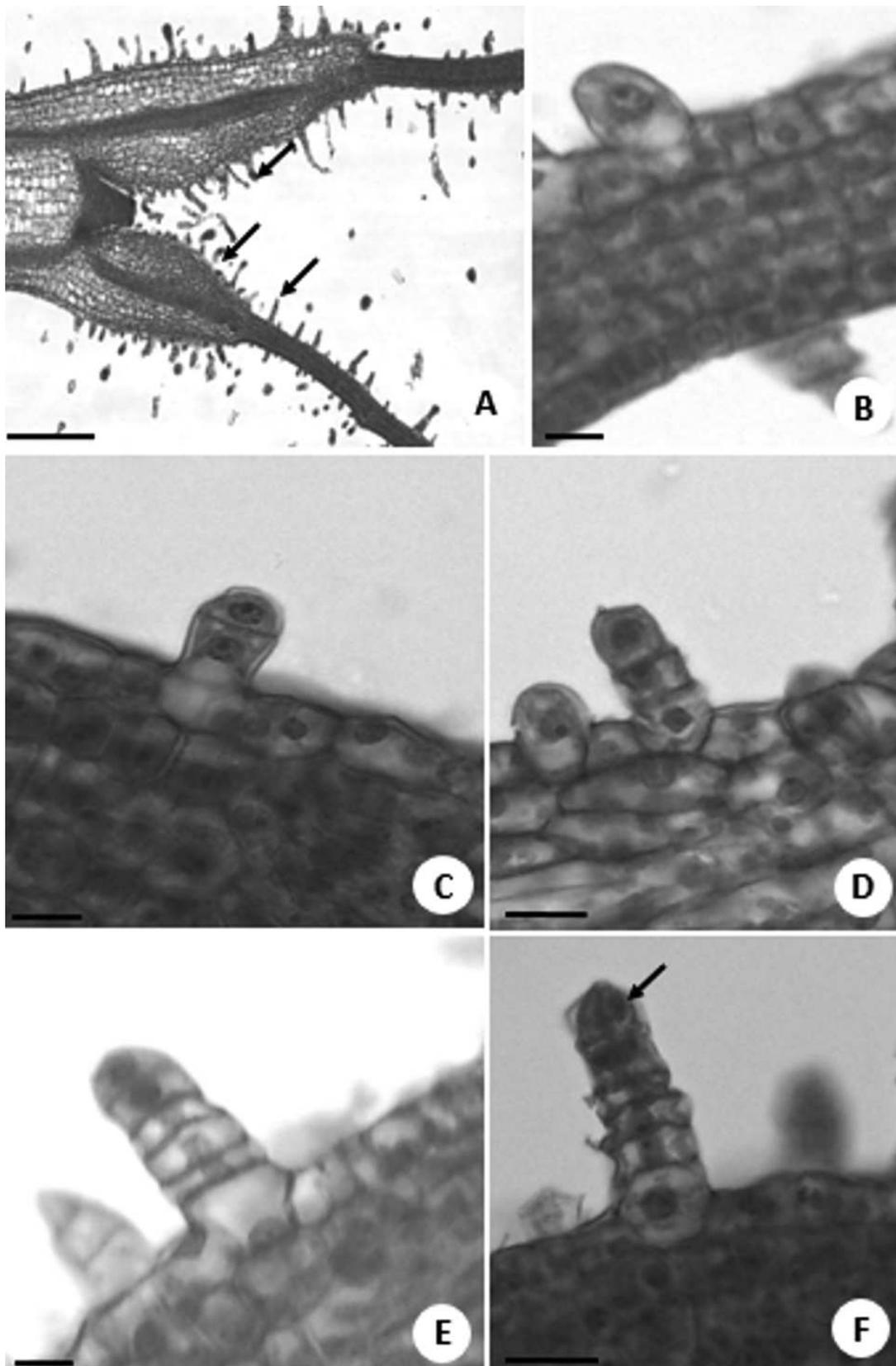
A ocorrência densa dos tricomas nas folhas e no caule de *L. artemisiifolia* está relacionada, provavelmente, a função de proteção da planta contra a perda de água nos períodos de estiagem do ambiente de cerrado rupestre. Além disto, é possível que esta característica, aliada ao fato dessas estruturas secretarem substâncias do metabolismo secundário, proteja a planta contra patógenos e herbívoros. Sugere-se, portanto, o estudo fitoquímico da espécie.

AGRADECIMENTOS

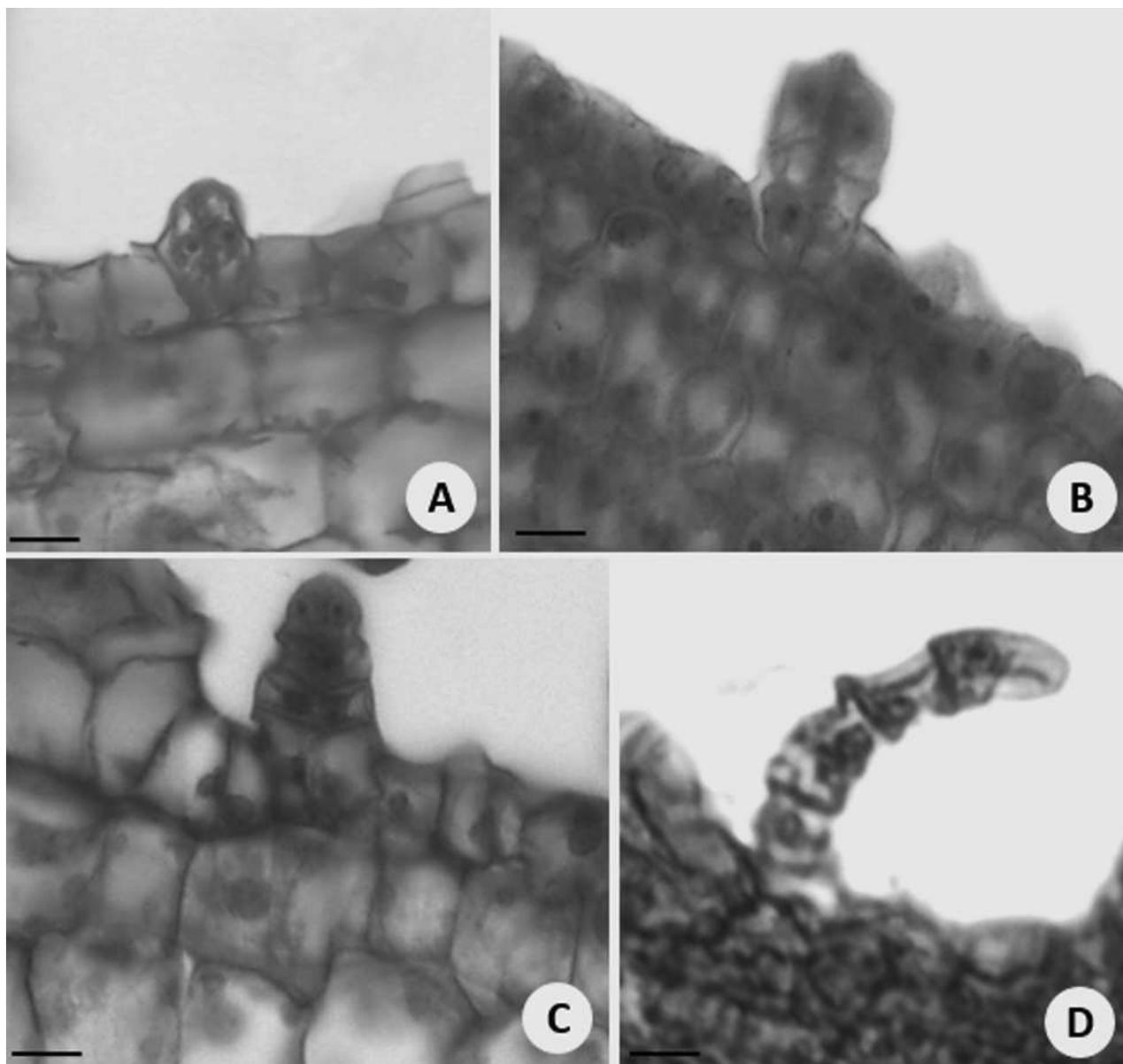
Ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa concedida. Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução da Universidade Federal de Goiás pelas análises em MEV.

REFERÊNCIAS

- Apezatto-da-Glória, Da Costa, F.B.C., Silva, V.C., Gobbo-Neto, L., Rehder, V.L.G. & Hayashi, A.H. 2012. Glandular trichomes on aerial and underground organs in *Chrysolaena* species (*Vernonieae* – *Asteraceae*): Structure, ultrastructure and chemical composition. *Flora* 207: 878-887.
- Ascensão, L. & Pais, M.S. 1987. Glandular trichomes of *Artemisia campestris* (ssp. *maritima*): ontogeny and histochemistry of the secretory product. *Botanical Gazette* 148:221-227.
- Aschenbrenner, A.K., Horakh, S. & Spring, O. 2013. Linear glandular trichomes of *Helianthus Asteraceae*: morphology, localization, metabolite activity and occurrence. *AoB Plants* 5: 1-9.



Figs. 4A-F. Aspectos do desenvolvimento dos tricomas glandulares com pedúnculo unisseriado e cabeça bisseriada que ocorrem nas folhas e no caule de *Lomatozona artemisiifolia*; **A.** Vista geral do ápice caulinar, em corte longitudinal, com tricomas em várias fases de desenvolvimento (setas); **B.** Célula protodérmica expandida; **C.** Produto de uma divisão periclinal; **D.** Produto de duas divisões periclinais; **E.** Produto de sucessivas divisões periclinais; **F.** Detalhe para divisão anticlinal da célula mais apical (seta). Barras: **Figs. 4A** = 500 μm ; **Figs. 4C-F** = 2,5 μm



Figs. 5A-D. Aspectos do desenvolvimento dos tricomas glandulares com pedúnculo bisseriado (A-C) e do tricoma glandular unisseriado recurvado (D) que ocorre nas folhas e no caule de *Lomatozonia artemisiifolia*; **A.** Produto da divisão anticlinal; **B.** Produto da primeira divisão periclinal; **C.** Produto de sucessivas divisões periclinais; **D.** Aspecto do tricoma recurvado em desenvolvimento avançado. Barras = 2,5 μ m.

Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1999. Electron Microscopy: principles and techniques for biologists. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 670p.

Castro, M.M., Leitao-Filho, H.F. & Monteiro, W.R. 1997. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de *Asteraceae* de uma vegetação de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 20(2): 163-174.

Cortadi, A., Di-Sapio, O., Mccargo, J., Scandizzi, A., Gattuso, S. & Gattuso, M. 1999. Anatomical studies of *Baccharis articulata*, *Baccharis crispa* and *Baccharis trimera*, "Carquejas" used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology* 37(5): 357-365.

Hensel A., Maas, M., Sendker, J., Lechtenberg, M.,

Petereit, F., Deters, A., Schmidt, T. & Stark, T. 2011. *Eupatorium perfoliatum* L.: phytochemistry, traditional use and current applications. *Journal of Ethnopharmacology* 138: 641– 651.

Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York. 523p.

Johnson, H.B. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. *Botanical Review* 41: 233-258.

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

King, R.M. & Robinson, H. 1987. The genera of the *Eupatorieae* (*Asteraceae*). Missouri Botanical Garden,

- St. Louis. Monographs in Systematic Botany, vol. 2, 581 p.
- Kraus, J.E., Sousa, H.C., Rezende, M.H., Castro, N.M., Vecchi, C. & Luque, R. 1998. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. *Biotechnic & Histochemistry* 73(5):235-243.
- Levin, D.A. 1976. The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Annual review of Ecology and Systematics* 7: 121-159.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford. 1500p.
- Monteiro, W.R., Castro, M.M., Mazzoni-Viveiros, S.C. & Mahlberg, P.G. 2001. Development and some histochemical aspects of foliar glandular trichomes of *Stevia rebaudiana*(Bert.) Bert. - *Asteraceae*. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 349-357.
- Nakajima, J.N., Junqueira, T.V., Freitas, F.S. & Teles, A.M. 2012. Comparative analysis of red lists of the Brazilian flora: *Asteraceae*. *Rodriguésia* 63(1): 039-054.
- Oliveira, C.T. 2014. *Lomatozona* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB27240>>. Acesso em 13.02. 2014.
- Paiva, J.G.A., Fank-de-Carvalho, S.M.t, Magalhães, M.P. & Graciano-Ribeiro, D. 2006. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasilica* 20(2): 257-264.
- Picman, A.K., Elliott, R.H. & Towers, G.H. 1978. Insect feeding deterrent property of alantolactone. *Biochemical Systematics and Ecology* 6: 333-335.
- Robinson, H. 2009. An introduction to micro-characters of *Compositae*. In: *Systematics, evolution and biogeography of Compositae* (V.A. Funk, A. Susanna, T.F. Stuessy & R.J. Bayer, eds.). International Association for Plant Taxonomy, Vienna, p. 89-99.
- Roque, N., Bautista, H.P. & Mota, A.C. 2012. Taxonomic Revision of *Trichogonia* (*Eupatorieae*, *Asteraceae*): a South American Genus. *Systematic Botany* 37: 525-553.
- Sass, J.E. 1951. *Botanical microtechnique*. Iowa State College Press, Ames. 228 p.
- Solereider, H. 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons. A handbook for laboratories of pure and applied botany*. Clarendon Press, Oxford. 1182p.
- Wagner, G.J. 1991. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physiology* 96: 675-679.
- Werker, E. 2000. Trichome diversity and development. In *Advances in Botanical Reserch. Plant Trichomes* (D.L. Hallahan, J.C. Gray & J.A. Callow, eds.), vol.31. Academic Press, Califórnia, p. 1-30.
- Werker, E. & Fahn, A. 1981. Secretory hairs of *Inula Viscosa* (L.) Ait. - Development, Ultrastructure, and Secretion. *Botanical Gazette* 142: 461-476.

