

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 27/02/2025.



ANÁLISES ANATÔMICAS E ULTRAESTRUTURAIS EM FOLHAS
DE *MIMOSA* (LEGUMINOSAE) COM DIFERENTES TIPOS DE
MOVIMENTO FOLIAR E INFLUÊNCIA DO CÁLCIO EM ASPECTOS
ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DOS PULVINOS

STEFANY CRISTINA DE MELO SILVA

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Biociências, campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, AC: Morfologia e Diversidade Vegetal.

**BOTUCATU-SP
2023**

ANÁLISES ANATÔMICAS E ULTRAESTRUTURAIS EM FOLHAS
DE *MIMOSA* (LEGUMINOSAE) COM DIFERENTES TIPOS DE
MOVIMENTO FOLIAR E INFLUÊNCIA DO CÁLCIO EM ASPECTOS
ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS DOS PULVINOS

STEFANY CRISTINA DE MELO SILVA

PROF^a DR^a TATIANE MARIA RODRIGUES

ORIENTADORA

**BOTUCATU-SP
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silva, Stefany Cristina de Melo.

Análises anatômicas e ultraestruturais em folhas de Mimosa (Leguminosae) com diferentes tipos de movimento foliar e influência do cálcio em aspectos estruturais e funcionais dos pulvinos / Stefany Cristina de Melo Silva.
- Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Tatiane Maria Rodrigues

Capes: 20302002

1. Anatomia vegetal. 2. Análise foliar. 3. Oxalatos. 4. Pulvínulo. 5. Leguminosa.

Palavras-chave: Cristais de oxalato de cálcio; Elemento de tubo crivado; Endoderme; Pecíolo; Pulvino.

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista a minha família, em especial aos meus pais, Cecília e José, ao meu irmão Lucas, à minha avó Catarina e ao meu companheiro Henrique por todo o amor, incentivo e apoio nas diferentes fases da minha vida.

Agradecimentos

A **Deus**, por todas as bênçãos na minha vida, pela força para superar os desafios e pela conquista de mais essa vitória.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – CAPES** pelo apoio financeiro (Código de Financiamento 001).

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq** pela concessão da bolsa de Doutorado (Processo- 140743/2019-7).

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, Câmpus de Botucatu, e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), pela estrutura e formação acadêmica.

À **Profa. Dra. Tatiane Maria Rodrigues** pela orientação, por todo o apoio, paciência, incentivo e ensinamentos que foram fundamentais durante esse processo de desenvolvimento pessoal e profissional.

Aos alunos de Iniciação científica **Lúcio Queiroz de Carvalho** e **Yasmin Massimino Sampaio de Souza** pela participação e colaboração na realização deste trabalho.

Ao **Centro de Microscopia Eletrônica**, Unesp – Botucatu, pelo processamento de amostras.

Aos membros da banca de qualificação, **Profa. Dra. Silvia Rodrigues Machado**, **Profa. Dra. Makeli Garibotti Lusa** e a **Profa. Dra. Rosani do Carmo de Oliveira Arruda** pelas contribuições.

Aos membros da banca da defesa **Profa. Dra. Aline Rodondo Martins**, **Prof. Dr. João Paulo Rodrigues Marques**, **Prof. Dr. Luiz Ricardo dos Santos Tozin**, **Profa. Dra. Yve Canaveze**, e aos suplentes por aceitarem o convite para auxiliar na qualidade dessa pesquisa.

Aos **docentes do Departamento de Biologia Vegetal** pelas contribuições na minha formação acadêmica.

A todos os **funcionários do Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia (DBBVPZ)**, pela convivência e auxílios.

Aos **funcionários da biblioteca** pelo ótimo atendimento e pela edição da ficha catalográfica.

Aos **funcionários da seção de pós-graduação**, IBB, UNESP pela assistência.

Aos **colegas da pós-graduação**, e a todos os membros do **LaPAV (Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal)** pela convivência e amizade. Em especial, a **Diana P. Seixas** pelos ensinamentos e auxílio na montagem dos experimentos.

Às queridas amigas **Laisa Cabral** e **Eliandra Nunes** pelo agradável convívio, apoio e amizade.

À **minha família**, em especial minha mãe Cecília, por todo amparo, carinho, inspiração e força.

Agradeço ao meu **companheiro**, Henrique Vasque, pelo auxílio durante o experimento, por estar sempre ao meu lado, por todo o suporte e companheirismo.

Muito obrigada!

Sumário

Resumo	8
Abstract	10
Introdução geral	11
Capítulo 1: Pulvinus and petiole comparative anatomy in a species of <i>Mimosa</i> with slow nyctinastic movement.....	18
Capítulo 2: Influência do cálcio na formação de cristais em pulvinos e pecíolos e na movimentação foliar em duas espécies de <i>Mimosa</i> (Leguminosae).....	33
Capítulo 3: Morphometry of sieve members and P-protein accumulation in pulvini and petioles of <i>Mimosa</i> species (Leguminosae, Caesalpinioideae) with different types of leaf movement.....	61
Considerações finais	77

SILVA, SCM. **Análises anatômicas e ultraestruturais em folhas de *Mimosa* (Leguminosae) com diferentes tipos de movimento foliar e influência do cálcio em aspectos estruturais e funcionais dos pulvinos.** 2023. 77p. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

Resumo

Leguminosas são caracterizadas pela presença de pulvinos que garantem às folhas capacidade de movimentação em resposta à estímulos endógenos ou exógenos. O funcionamento dos pulvinos está relacionado com mudanças na pressão de turgor e alterações na conformação do citoesqueleto nas células corticais (células motoras), o que envolve proteínas cálcio-dependentes, além das características do sistema vascular, especialmente do floema. Estudos demonstram que pulvinos de folhas com movimentos lentos apresentam cristais prismáticos de oxalato de cálcio na endoderme, enquanto que pulvinos de espécies com movimentos rápidos apresentam endoderme desprovida de cristais. Este trabalho teve como objetivo investigar aspectos anatômicos e ultraestruturais de pulvinos e pecíolos de forma comparativa entre espécies de *Mimosa* com diferentes tipos de movimento foliar com ênfase nas características subcelulares do floema, além de averiguar se a disponibilidade de cálcio influencia na formação de cristais na endoderme e no funcionamento dos pulvinos. Indivíduos de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., espécie com movimentos foliares nictinásticos lentos, e *Mimosa pudica* L., espécie com movimentos foliares seismonásticos rápidos, foram submetidos a 360, 240, 120 e 0 mgL⁻¹ de Ca²⁺ em meio hidropônico. Pulvinos e pecíolos foram processados segundo técnicas convencionais em microscopia de luz e eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET). Análises utilizando espectroscopia por energia dispersiva foram realizadas ao MEV para quantificação de cálcio; técnica ultracitoquímica foi aplicada para localização de depósitos subcelulares de cálcio ao MET. Os pulvinos de *M. caesalpiniiifolia* apresentam características comumente encontradas em outras espécies de leguminosas, incluindo espécies de *Mimosa* com movimentos foliares rápidos. Embora seja um aspecto comum para pulvinos com movimentos lentos, a detecção de cristais de oxalato de cálcio na endoderme é uma novidade para pulvinos de *Mimosa*, corroborando a ideia de que o conteúdo da endoderme dos pulvinos está relacionado ao tipo de movimento foliar apresentado. Proteínas filamentosas, tubulares e corpos paracristalinos foram observados nos elementos de tubo crivado de pulvinos e pecíolos de ambas as

espécies, sendo que a abundância de proteína-P pareceu ser maior nos pulvinos que nos pecíolos, o que pode estar relacionado ao envolvimento do floema no funcionamento dos pulvinos. Nos pulvinos e pecíolos de *M. pudica*, o acúmulo de proteína-P pareceu ser maior que em *M. caesalpinifolia*, o que parece ter relação com o tipo de movimento foliar apresentado. Além disso, a abundância de proteína-P no pecíolo de *M. pudica* sugere o papel do floema peciolar na transmissão basípeta de estímulos dos folíolos para o pulvino. As paredes dos elementos de tubo crivado se mostraram mais espessas nos pulvinos em comparação com pecíolo, especialmente em *M. pudica*, sugerindo seu envolvimento no transporte radial de íons durante a movimentação foliar. Cristais prismáticos de oxalato de cálcio se formaram na endoderme de pulvinos e pecíolos de *M. caesalpinifolia* em todos os tratamentos, exceto na ausência de Ca^{2+} . Nos pulvinos de *M. pudica* não houve formação de cristais de oxalato de cálcio em nenhum dos tratamentos; por outro lado, nos pecíolos dessa espécie, cristais foram formados em todos os tratamentos, exceto na ausência de cálcio. Em *M. caesalpinifolia*, as folhas apresentaram movimentos nictinásticos lentos em todos os tratamentos, inclusive na ausência de cálcio. Plantas de *M. pudica* mantiveram sua capacidade de movimentação foliar em resposta a estímulos mecânicos, exceto na ausência de Ca^{2+} . Nossos resultados sugerem o maior envolvimento do cálcio nos mecanismos de funcionamento e reações celulares em pulvinos de folhas com movimentos seismonásticos rápidos em comparação com pulvinos de folhas com movimentos foliares nictinásticos lentos.

Palavras-chave: cristais de oxalato de cálcio, elemento de tubo crivado, endoderme, pecíolo, pulvino, proteína-P

Abstract

Legumes are characterized by the presence of pulvini guarantee the ability of leaves to move in response to endogenous or exogenous stimuli. The functioning of the pulvini is related to changes in the turgor pressure and changes in the conformation of the cytoskeleton in the cortical cells (motor cells), which involves calcium-dependent proteins, in addition to the characteristics of the vascular system, especially the phloem. Studies show that pulvini from leaves with slow movements have prismatic crystals of calcium oxalate in the endodermis, while pulvini from species with fast movements have endoderm devoid of crystals. Aspects of pulvini and petioles in a comparative way between *Mimosa* species with different types of leaf movement with emphasis on the subcellular characteristics of the phloem, in addition to investigating whether the availability of calcium influences the formation of crystals in the endoderm and in the functioning of the pulvini. Individuals of *Mimosa caesalpinifolia* Benth., a species with slow nyctinastic leaf movements, and *Mimosa pudica* L., a species with fast seismonastic leaf movements, were submitted to 360, 240, 120 and 0 mgL⁻¹ of Ca²⁺ in hydroponic solution. Pulvini and petioles were processed according to conventional techniques in light and scanning electron (SEM) and transmission (TEM) microscopy. Analyzes using energy dispersive spectroscopy were performed under SEM for calcium quantification; The ultracytochemical technique was applied to localize subcellular calcium deposits to TEM. Pulvini of *M. caesalpinifolia* exhibit features commonly found in other legume species, including *Mimosa* species with rapid leaf movements. Although it is a common aspect for pulvini with slow movements, the detection of calcium oxalate crystals in the endodermis is a novelty for pulvini of *Mimosa*, corroborating the idea that the content of the endodermis of pulvini is related to the type of leaf movement presented. Filamentous, tubular proteins and paracrystalline bodies were observed in the sieve tube elements of pulvini and petioles of both species, and the abundance of P-protein appeared to be greater in pulvini than in petioles, which may be related to the involvement of the phloem in the pulvini functioning. In the pulvini and petioles of *M. pudica*, the accumulation of P-protein seemed to be greater than in *M. caesalpinifolia*, which seems to be related to the type of leaf movement presented. Furthermore, the abundance of P-protein in the petiole of *M. pudica* suggests the role of the petiolar phloem in the basipetal transmission of stimuli from the leaflets to the pulvinus. The walls of sieve-tube elements were thicker in pulvini compared to petioles, especially in *M. pudica*, suggesting their involvement in radial ion transport during leaf movement. Prismatic crystals of calcium oxalate formed in the endodermis of pulvini and petioles of *M. caesalpinifolia* in all treatments, except in the absence of Ca²⁺. In *M. pudica* pulvinus there was no formation of calcium oxalate crystals in any of the treatments; on the other hand, in the petioles of this species, crystals were formed in all treatments, except in the absence of calcium. In *M. caesalpinifolia*, the leaves showed slow nyctinastic movements in all treatments, even in the absence of calcium. *M. pudica* plants maintained their leaf movement capacity in response to mechanical stimuli, except in the absence of Ca²⁺. Our results suggest a greater involvement of calcium in the functioning mechanisms and cellular reactions in leaf pulvini with fast seismonastic movements compared to leaf pulvini with slow nyctinastic leaf movements.

Key-words: calcium oxalate crystals, endodermis, P-protein, petiole, pulvinus, sieve tube members

Introdução geral

Leguminosae Adans. é a terceira maior família de Angiospermas com aproximadamente 770 gêneros e mais de 19.500 espécies e possui distribuição cosmopolita (LPWG 2017). Esta é a maior família em número de espécies da flora brasileira e seus representantes ocorrem em todos os tipos de vegetação, apresentando grande diversidade de formas, incluindo desde pequenas ervas até árvores de grande porte (Souza et al. 2018). A família é particularmente importante no cerrado, onde ocorrem aproximadamente 110 gêneros e 1000 espécies de Leguminosae (Souza et al. 2018). Além de sua grande importância ecológica relacionada a fixação biológica de nitrogênio (Hungria & Nogueira 2022), diversos representantes de Leguminosae apresentam importância econômica e medicinal (Souza & Lorenzi 2012), incluindo ainda espécies bastante utilizadas na restauração de áreas degradadas (Silva & Corrêa 2011, Ferreira et al. 2007).

Atualmente, Leguminosae é composta por seis subfamílias: Cercidoideae LPWG, Detarioideae Burmeister. *emend.* LPWG, Duparquetioideae LPWG, Dialioideae LPWG, Papilionoideae DC. e Caesalpinioideae DC. *emend.* LPWG, onde está inserido o clado Mimosoide que inclui os mesmos representantes da antiga subfamília Mimosoideae (LPWG 2017). De forma geral, as leguminosas compartilham características morfológicas como folhas compostas alternas com pulvinos, inflorescência geralmente racemosa, flores bissexuadas, ovário monocarpelar e frutos do tipo legume, mas outros tipos podem ser encontrados, incluindo drupa, fóliculo, sâmaras, craspédio ou lomento (LPWG 2017, Souza et al. 2018).

Espécies de leguminosas são capazes de ajustar o posicionamento das folhas ou movimentar seus folíolos em respostas a estímulos externos ou endógenos (Accorsi 1952, Minorsky 2019). Movimentos foliares nictinásticos são bastante comuns entre as leguminosas e são caracterizados pela mudança na orientação das folhas ao longo do dia; no período diurno as folhas permanecem abertas, enquanto que no período noturno as folhas se fecham com o posicionamento vertical dos folíolos (Minorsky 2019). Esse é um processo rítmico controlado pelas interações entre o ambiente externo e o relógio biológico da planta (Accorsi 1952, Minorsky 2019). Além disso, alguns representantes do clado Mimosoide são conhecidos por apresentarem movimentos foliares seismonásticos que fazem com que os folíolos rapidamente se fechem em resposta ao toque (Accorsi 1952, Weintraub 1952), o que representa uma forma de proteção contra ataques de insetos herbívoros (Chaudhary et al. 2018, Hagihara et al. 2022).

Os pulvinos são as estruturas responsáveis pelos movimentos foliares rápidos ou lentos (Campbell & Thomson 1977, Campbell et al. 1979, Satter et al. 1982, Moysset & Simón 1991, Grignon et al. 1992, Rodrigues & Machado 2006). Morfologicamente, o pulvino é um espessamento que ocorre na base de folhas (pulvino primário), folíolos (pulvino secundário) e foliólulos (pulvino terciário), semelhante a uma articulação (Esau 1974, Fleurat-Lessard & Bonnemain 1978). É caracterizado pela presença de córtex amplo constituído por células parenquimáticas ricas em taninos (células motoras), escassez de lignificação, sistema vascular em posição central, ausência ou redução de medula e extensiva continuidade simplástica entre suas células e tecidos (Toriyama 1955, Fleurat-Lessard & Bonnemain 1978, Campbell et al. 1979, Campbell & Garber 1980, Fleurat-Lessard 1981, Fleurat-Lessard & Roblin 1982, Satter et al. 1982, Fleurat-Lessard & Millet 1984, Fleurat-Lessard 1988, Moysset & Simón 1991, Rodrigues & Machado 2004, Machado & Rodrigues 2006). Essas características estruturais têm sido relacionadas com a maior flexibilidade do pulvino em relação às demais regiões foliares como pecíolo e raque (Fleurat-Lessard & Roblin 1982, Rodrigues & Machado 2004).

Estudos sugerem que o movimento foliar em espécies de leguminosas ocorre devido a diferenças na pressão de turgor entre as células motoras do córtex dos pulvinos que, devido à redistribuição de íons potássio, cloreto e de água, podem sofrer rápida reorganização no número e tamanho de seus vacúolos (Campbell & Thomson 1977, Campbell et al. 1979, Campbell & Garber 1980, Satter & Galston 1981, Satter et al. 1982, Mayer et al. 1985, Fleurat-Lessard 1988, Moysset & Simón 1991). Além das mudanças de turgor das células motoras, alterações na conformação do citoesqueleto em tais células, especialmente dos microfilamentos de actina estão envolvidas no funcionamento do pulvino (Fleurat-Lessard et al. 1988, Kameyama et al. 2000, Hewitson 2001, Yamashiro et al. 2001).

A interação entre elementos do citoesqueleto e o cálcio tem sido demonstrada em estudos envolvendo diferentes tipos de células motoras, como as de pulvinos. Yao et al. (2008) demonstraram que a despolimerização dos microfilamentos de actina nas células do pulvino de *Mimosa pudica* acarretou a elevação do cálcio intracelular. Assim, supomos que a deficiência de cálcio poderia afetar processos de polimerização dos elementos do citoesqueleto, em especial actina, comprometendo o funcionamento dos pulvinos. Por outro lado, o excesso de cálcio no corpo da planta pode causar toxidez (White & Broadley 2003). Estudos sugerem que o excesso de cálcio pode ser imobilizado na forma de cristais de oxalato de cálcio (Franceschi 2001) que se depositam em tecidos específicos como um

mecanismo para regulação dos níveis desse elemento nos tecidos vegetais (Franceschi & Nakata 2005). Entretanto, as funções desses cristais são ainda muito especulativas (Paiva 2019).

Em espécies com movimentos foliares násticos rápidos, a endoderme dos pulvinos apresenta somente grãos de amido, enquanto que nas espécies que apresentam movimentos foliares násticos lentos, cristais de oxalato de cálcio ocorrem juntamente com amiloplastos nas células endodérmicas (Fleurat-Lessard 1988, Morse & Satter 1979, Rodrigues & Machado 2007). Rodrigues & Machado (2007) mostraram que cristais prismáticos de oxalato de cálcio na endoderme de pulvinos de leguminosas com movimentos násticos lentos são envoltos por um compartimento formado por espessamentos, lignificados ou não, das paredes anticlinais e periclinal interna das células endodérmicas.

Estudos sugerem que em pulvinos de folhas com movimentos násticos rápidos, o cálcio se encontra livre e disponível para atuar em reações cálcio-dependente (Roblin et al. 1989, Rodrigues & Machado 2007) como a polimerização dos microfilamentos de actina nas células motoras. Por outro lado, o cálcio imobilizado na forma de cristais não pode agir na produção de sinais fisiológicos, impedindo a rápida resposta do pulvino à estímulos externos (Rodrigues & Machado 2007). Nós arguimos se as plantas com movimentos foliares rápidos que recebem doses excessivas de cálcio passam a acumular cristais no pulvino e se o suposto acúmulo de cristais de oxalato de cálcio na endoderme do pulvino de folhas com movimentos rápidos poderia comprometer seu funcionamento.

O sistema vascular dos pulvinos, especialmente o floema, pode atuar na redistribuição de íons e na transmissão de estímulos durante os movimentos foliares (Pfeffer 1907, Toriyama 1953, Satter & Galston 1981, Fleurat-Lessard & Bonnemain 1978, Moysset & Simón 1991, Rodrigues & Machado 2008). Estudos mostram que as paredes dos elementos de tubo crivado de pulvinos são espessas e com arranjo frouxo das microfibrilas de celulose, sendo que em algumas espécies foram relatados elementos de tubo crivado com paredes nacaradas (Rodrigues & Machado 2008). Nos elementos de tubo crivado de pulvinos, merece destaque a diversidade morfológica de proteína-P (filamentos curtos ou longos, agregados tubulares, material fibroso, corpos cristalinos), além da abundância de retículo de tubo crivado formando redes de membranas tubulares com vários graus de desenvolvimento (Rodrigues & Machado 2008). Entretanto, não há informações sobre a existência de relação entre a abundância e diversidade morfológica da proteína-P nos elementos de tubo crivado dos pulvinos e o tipo de movimento foliar.

Se a abundância e diversidade morfológica da proteína-P nos elementos de tubo crivado é restrita ao floema dos pulvinos em detrimento de outras regiões foliares foi um aspecto investigado nesse estudo.

Assim, esse trabalho teve como objetivo investigar aspectos anatômicos e ultraestruturais de pulvinos e pecíolos de forma comparativa entre espécies de *Mimosa* com diferentes tipos de movimento foliar com ênfase nas características subcelulares do floema, além de averiguar se a disponibilidade de cálcio influencia na formação de cristais na endoderme e no funcionamento dos pulvinos. Como modelo para o estudo, foram escolhidas duas espécies de *Mimosa* que apresentam folhas compostas bipinadas e diferentes tipos de movimentos foliares: *Mimosa pudica* L. que apresenta movimentos foliares seismonásticos rápidos em resposta ao toque, e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., cujas folhas apresentam movimentos nictinásticos lentos. Especificamente, nós investigamos a) a anatomia foliar de *M. caesalpiniiifolia* de forma comparativa entre pulvinos e pecíolos; b) a influência de diferentes concentrações de cálcio na formação de cristais na endoderme de pulvinos e na movimentação foliar em *M. pudica* e *M. caesalpiniiifolia*; e c) os aspectos ultraestruturais do floema, em especial as características das paredes dos elementos de tubo crivado e a abundância e diversidade de proteína-P, em pecíolos e pulvinos de *M. pudica* e *M. caesalpiniiifolia*.

Referências bibliográficas

- Accorsi, W.R. 1952. Os fenômenos de movimento no reino vegetal: Aula Inaugural. Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, v. 9.
- Campbell, N.A., Garber, R.C. 1980. Vacuolar reorganization in motor cells of *Albizzia* during leaf movement. *Planta* 148: 251-255.
- Campbell, N.A., Stika, K.M., Morrison, G.H. 1979. Calcium and potassium in the motor organ of the sensitive plant: localization by ion microscope. *Science* 204: 185-187.
- Campbell, N.A., Thomson, W.W. 1977. Multivacuolate motor cells in *Mimosa pudica* L. *Annals of Botany* 41: 1361-1362.
- Chaudhary, A., Bala, K., Thakur, S., Kamboj, R., Dumra, N. 2018. Plant defenses against herbivorous insects: A Review. *International Journal of Chemical Studies* 5: 681-688.
- Esau, K. 1970. On the phloem of *Mimosa pudica* L. *Annals of Botany* 34:505-515.
- Ferreira, R.L.C.; Lira Junior, M.A.; Rocha, M.S. da; Santos, M.V.F. dos; Lira, M.A.; Barreto, L.P. 2007. Deposição e acúmulo de matéria seca e nutrientes em serapilheira em um bosque de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth.). *Revista Árvore*, Viçosa-MG, 31: 7-12.
- Fleurat-Lessard, P. 1981. Ultrastructural features of the starch sheath cells of the primary pulvinus after gravistimulation of the sensitive plant (*Mimosa pudica* L.). *Protoplasma* 105: 177-184.
- Fleurat-Lessard, P., Bonnemain, J.P. 1978. Structural and ultrastructural characteristics of the vascular apparatus of the sensitive plant (*Mimosa pudica* L.). *Protoplasma* 94: 127-143.
- Fleurat-Lessard, P., Millet, B. 1984. Ultrastructural features of cortical parenchyma cells (“motor cells”) in stems of *Berberis canadensis* Mill. and tertiary pulvini of *Mimosa pudica* L. *Journal of Experimental Botany* 35:1332-1341.
- Fleurat-Lessard, P., Roblin, G. 1982. Comparative histocytology of the petiole and the main pulvinus in *Mimosa pudica* L. *Annals of Botany* 50:83-92.
- Fleurat-Lessard, P., Roblin, G., Bonmort, J., Besse, C. 1988. Effects of colchicine, vinblastine, cytochalasin B and phalloidin on the seismonastic movement of *Mimosa pudica* leaf and on motor cell ultrastructure. *Journal of Experimental Botany* 39: 209-221.
- Franceschi, V. 2001. Calcium oxalate in plants. *Trends in Plant Science* 6: 331.
- Franceschi, V.R., Nakata, P.A. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and Function. *Annual Review of Plant Biology* 56:41-71
- Grignon, N., Touraine, B., Grignon, C. 1992. Internal phloem in the pulvinus of soybean plants. *American Journal of Botany* 50: 83-92.

- Hagihara, T., Mano H., Miura, T., Hasebe, M., Toyota, M. 2022. Calcium-mediated rapid movements defend against herbivorous insects in *Mimosa pudica*. *Nature communications* 13:6412.
- Hewitson, J. 2001. Nyctinasty and *Mimosa* leaf movement. Disponível em: <http://www.saps.plantsci.ca.ac.uk/records/rec117.htm>. Acesso em: 3 janeiro. 2022.
- Hungria M., Nogueira M.A. Fixação biológica de nitrogênio. In. Bioinsumos na cultura da soja. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Soja Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Brasília, 2022.
- Kameyama, K., Kishi, Y., Yoshimura, M., Kanzawa, N., Sameshima, M. & Tsuchiya, T. 2000. Tyrosine phosphorylation in plant bending. *Nature* 407: 37.
- Mayer, W.E., Flach, D., Raju, M.V.S., Starrach, N., Wiech, E. 1985. Mechanics of circadian pulvini movements in *Phaseolus coccineus* L. *Planta* 163: 381-390.
- Minorsky, P.V. 2019. The functions of foliar nyctinasty: a review and hypothesis. *Biological Reviews* 94: 216–229.
- Morse, M.J., Satter, R.L. 1979. Relationship between motor cell ultrastructure and leaf movements in *Samanea saman*. *Physiology Plantarum* 46: 338-346.
- Moysset, L., Simón, E. 1991. Secondary pulvinus of *Robinia pseudoacacia* (Leguminosae): structural and ultrastructural features. *American Journal of Botany* 78:1467-1486.
- Paiva, E.A.S. 2019. Are calcium oxalate crystals a dynamic calcium store in plants? *New Phytologist* 223: 1707-1711.
- Pfeffer, W. 1907. *The physiology of plants*. Clarendon Press, Oxford, v. 3.
- Roblin, G., Fleurat-Lessard, P., Bonmort, J. 1989. Effects of compounds affecting calcium channels on phytochrome- and bluepigment-mediated pulvinal movements of *Cassia fasciculata*. *Plant Physiology* 90: 697-701.
- Rodrigues, T.M., Machado, S.R. 2004. Anatomia comparada do pulvino, pecíolo e raque de *Pterodon pubescens* Benth. (Fabaceae-Faboideae). *Acta Botanica Brasilica* 18: 381-390.
- Rodrigues, T.M., Machado, S. R. 2006. Anatomia comparada do pulvino primário de leguminosas com diferentes velocidades de movimento foliar. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 709-720.
- Satter, R.L., Galston, A.W. 1981. Mechanisms of control of leaf movements. *Annual Review of Plant Physiology* 32: 83-110.
- Satter, R.L., Garber, R.C., Khairallah, L., Cheng, Y-S. 1982. Elemental analysis of freeze-dried thin sections of *Samanea* motor organs: barriers to ion diffusion through the apoplast. *The Journal of Cell Biology* 95: 893-902.
- Silva, L. C. R.; Corrêa, R. S. 2011. Evolução da qualidade do substrato de uma área minerada no Cerrado revegetada com *Stylosanthes* spp *Revista Árvore*, Viçosa, MG, 35: 907- 918.

- Souza, V. C., Lorenzi, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. Nova Odessa: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 2012. 768 p.
- The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44-77.
- Toriyama, H. 1953. Observational and experimental studies of sensitive plants I: The structure of parenchymatous cells of pulvinus. *Cytology* 18: 283-292.
- Toriyama, H. 1955. Observational and experimental studies of sensitive plants. V. The development of the tannin vacuole in the motor cell of the pulvinus. *Botanical Magazine* 68: 203-208.
- Weintraub, M. 1952. Leaf Movements in *Mimosa pudica* L. *The New Phytologist* 50: 357-382.
- White, P.J., Broadley M.R. 2003. Calcium in Plants. *Annals of Botany*. 92: 487-511.
- Yamashiro, S., Kameyama, K., Kanzawa, N., Tamiya, T., Mabuchi, I., Tsuchiya, T. 2001. The gelsolin/fragminfamily protein identified in the higher plant *Mimosa pudica*. *Journal of Biochemistry* 130: 243-249.
- Yao H., Xu, Q., Yuan, M. 2008. Actin dynamics mediates the changes of calcium level during the pulvinus movement of *Mimosa pudica*. *Plant Signaling & Behavior* 3: 954-960.

Considerações finais

Este trabalho aborda aspectos anatômicos e ultraestruturais de pulvinos e pecíolos numa abordagem comparativa entre *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., espécie com movimentos foliares nictinásticos lentos, e *Mimosa pudica* L., espécie com movimentos foliares seismonásticos rápidos.

Os pulvinos de *M. caesalpiniiifolia* apresentam características comumente encontradas em outras espécies de leguminosas, incluindo espécies de *Mimosa* com movimentos foliares rápidos. A novidade verificada nesse trabalho foi a presença de cristais de oxalato de cálcio na endoderme dos pulvinos de *Mimosa*, reforçando a ideia de que o conteúdo da endoderme dos pulvinos está relacionado ao tipo de movimento foliar. Assim, nossos dados preenchem uma lacuna na literatura no que diz respeito aos aspectos estruturais de pulvinos de espécies de *Mimosa* com movimentos foliares lentos.

Ultraestruturalmente, analisamos de forma comparativa o floema de pulvinos e pecíolos de ambas as espécies, focando na abundância e diversidade estrutural de proteína-P. De forma geral, maior abundância de proteína-P foi observada nos pulvinos, especialmente em *M. pudica*, sugerindo seu envolvimento na movimentação foliar, em especial em folhas com movimento rápido. A análise detalhada das inclusões proteicas dos elementos de tubo crivado e das características de suas paredes de forma comparativa entre pulvinos e pecíolos e entre espécies com diferentes tipos de movimentos foliares mas pertencentes ao mesmo gênero é inédita e complementa estudos que sugerem a importância do floema na movimentação foliar.

Nossa investigação sobre a influência da disponibilidade de cálcio na formação de cristais na endoderme de pulvinos e pecíolos e na movimentação foliar mostrou respostas diferentes entre pulvinos de ambas as espécies, comprovando de forma experimental a ideia de que cristais de cálcio não se formam em pulvinos de folhas com movimentos rápidos.

Folhas de *M. caesalpiniiifolia* apresentaram movimentos nictinásticos em diferentes concentrações de cálcio, enquanto que as folhas de *M. pudica* perderam sua capacidade de movimentação foliar em resposta a estímulos mecânicos na ausência de Ca^{2+} . Tais resultados sugerem maior envolvimento do cálcio nos mecanismos de funcionamento e reações celulares em pulvinos de folhas com movimentos seismonásticos rápidos em comparação com pulvinos de folhas com movimentos foliares nictinásticos. Assim, nossos dados fornecem subsídios para o melhor entendimento dos mecanismos fisiológicos e eletro-químicos envolvidos na movimentação foliar.