

DESCRIÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA FOLIAR DE *Jacaranda* Juss. (BIGNONIACEAE): UMA ABORDAGEM COMPARATIVA DOS TRICOMAS FOLIARES E FLORAIS

DAIANE MAIA DE OLIVEIRA

Tese apresentada ao Instituto de Biotecnologia,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do
Título de Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica), Área de
concentração: Morfologia e Diversidade Vegetal.

**BOTUCATU – SP
2020**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

DESCRIÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA FOLIAR DE
Jacaranda Juss. (BIGNONIACEAE): UMA ABORDAGEM
COMPARATIVA DOS TRICOMAS FOLIARES E FLORAIS.

DAIANE MAIA DE OLIVEIRA

ORIENTADORA

DR^a SILVIA RODRIGUES MACHADO

CO-ORIENTADORA:

DR^a ELZA MARIA GUIMARÃES SANTOS

Tese apresentada ao Instituto de Biotecnologia,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção
do Título de Doutor no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Morfologia e
Diversidade Vegetal.

**BOTUCATU - SP
2020**

O48d

Oliveira, Daiane Maia de

DESCRIÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA FOLIAR DE *Jacaranda*
Juss. (BIGNONIACEAE): UMA ABORDAGEM COMPARATIVA DOS
TRICOMAS FOLIARES E FLORAIS. / Daiane Maia de Oliveira. --
Botucatu, 2020

71 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de
Biotecnologia, Botucatu

Orientadora: Silvia Rodrigues Machado

Coorientadora: Elza Maria Guimarães Santos

1. Botânica. 2. Anatomia vegetal. 3. Estruturas secretoras. 4. Bignoniaceae.

5. *Jacaranda*. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biotecnologia,
Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE DAIANE MAIA DE OLIVEIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BOTÂNICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 28 dias do mês de fevereiro do ano de 2020, às 08:00 horas, no(a) Herbário do IBB, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Profa. Dra. SILVIA RODRIGUES MACHADO - Orientador(a) do(a) Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Profa. Dra. BÁRBARA DE SÁ HAIAD do(a) Departamento de Botânica / Museu Nacional - UFRJ (por meio de parecer circunstanciado), Profa. Dra. TATIANE MARIA RODRIGUES do(a) Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Profa. Dra. ROSANA FARIAS SINGER do(a) Jardim Botânico / Fundação Zoobotânica de Porto Alegre (por meio de parecer circunstanciado), Profa. Dra. SIMONE DE PÁDUA TEIXEIRA do(a) Departamento de Ciências Farmacêuticas / FCFRP/USP - Ribeirão Preto/SP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de DAIANE MAIA DE OLIVEIRA, intitulada **CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE ESTRUTURAS SECRETORAS FOLIARES E FLORAIS DE Jacaranda Juss. (BIGNONIACEAE)**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: _____

APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. SILVIA RODRIGUES MACHADO

Profa. Dra. BÁRBARA DE SÁ HAIAD

Profa. Dra. TATIANE MARIA RODRIGUES

Profa. Dra. ROSANA FARIAS SINGER

Profa. Dra. SIMONE DE PÁDUA TEIXEIRA

Dedico:

Ao meu grande e poderoso Deus por mais essa conquista!

A minha mãe e ao meu pai pelo apoio incondicional!

Às minhas orientadoras e a todas as Mulheres na Ciência!

Sou grata:

A DEUS, companhia e força constante em todos os momentos.

À CAPES - O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À UNESP/IBB/ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO (Botânica), pela oportunidade, infraestrutura de qualidade, professores e funcionários qualificados.

À ORIENTADORA, Dr^a Silvia Rodrigues Machado, posso com certeza dizer: A MELHOR Orientadora do mundo, um grande exemplo de profissionalismo, dedicação e paixão pela Botânica, será sempre um modelo a ser seguido, por mim e por todas as mulheres na ciência. Grata pelos ensinamentos não só científicos, mas também da vida.

À co-ORIENTADORA, Dr^a Elza Guimaraes pelo carinho dedicação. Com sua simpatia, seu jeitinho meigo e imensa sabedoria me estimulou e me guiou no mundo da ecologia das interações das plantas com os animais, sou grata por me mostrar o lado humano de ser professora e orientadora. Grata pelo aconchego e segurança encontrados em cada conversa e, sobretudo pela inestimável amizade.

AOS MEUS PAIS, IRMÃO E CUNHADA – Paulo, Delvina, Ualiston e Mirtes – “Ohana quer dizer família. Família quer dizer nunca abandonar ou esquecer.” Vocês me deram a vida e me dão forças todos os dias para continuar. Meus sonhos e planos são compartilhados com todos vocês, e portanto minha vitória é coletiva, esse trabalho também é de vocês, também é por vocês. Talvez Dona Vina mereça mais um “cadinho” que o resto, várias noites em claro, auxílio físico e psicológico em plantões incansáveis. Obrigada por serem meu porto seguro, meu alicerce, em quem eu sei que posso contar 1001%.

A FAMÍLIA SILVA – Janaína, Samuel, Diovana e Juninho – que me adotaram como parte ativa da família, obrigada por cada momento compartilhado durante esses anos de estudos em São Paulo. Obrigada pelo incentivo, pela presença, pela amizade, pelas viagens, pelas comidinhas gostosas, pelo aconchego físico e emocional em vosso lar. Amo muito cada um de vocês.

AO MEU BEM (Milson Lima) que mesmo caindo de paraquedas no último ano dessa aventura, se fez presente e paciente frente a todas alterações de humor decorrente dessa etapa estressante do projeto.

AOS COLEGAS DO LaPAV (Lab. de Pesquisas em Anatomia Vegetal) - E DO LAB. DE ECOLOGIA E EVOLUÇÃO DAS. INTERAÇÕES PLANTA-ANIMAL, grata por estarem sempre presente, e disponíveis a me ajudar.

AOS FUNCIONÁRIOS E COLABORADORES, principalmente na pessoa da Helena, Ynara e Marcelo. Obrigada pelas conversas e risadas, pelas companhias durante os plantões noturnos, vocês contribuíram para que esse trabalho fosse finalizado com excelência.

E AOS AMIGOS, que diretamente ou indiretamente contribuíram nessa jornada, seja pessoalmente ou por meio virtual, o meu mais sincero Muito Obrigada!

*Aquele que traz à existência as coisas que não existem (Rom 4:17),
e antes de todas as coisas, nele tudo subsiste (Col 1:17).*

SUMÁRIO

Resumo Geral.....	09
Abstract.....	10
Introdução Geral.....	11
Referências.....	15
Capítulo I: LEAF MORPHOLOGY AND LEAFLET MICROMORPHOLOGY AND ANATOMY OF <i>Jacaranda</i> Juss. (Jacarandaeae, Bignoniaceae) AND THEIR SYSTEMATIC AND ECOLOGICAL IMPLICATIONS	19
Abstract.....	20
Introduction.....	21
Material and Methods.....	22
Results.....	25
Discussion.....	29
References.....	42
Capítulo II. CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE TRICOMAS GLANDULARES DE <i>Jacaranda</i> Juss. (Bignoniaceae).	46
Resumo.....	47
Abstrat.....	48
Introdução.....	49
Material e Métodos.....	50
Resultados.....	51
Discussão.....	69
Referências Bibliográficas.....	67
Considerações Finais.....	71

RESUMO GERAL

Oliveira, D.M. **DESCRIÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA FOLIAR DE *Jacaranda* Juss. (BIGNONIACEAE): UMA ABORDAGEM COMPARATIVA DOS TRICOMAS FOLIARES E FLORAIS.** 2020. TESE – Instituto de Biotecnologia de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo.

O gênero *Jacaranda* Juss. (Bignoniaceae), um representante da tribo Jacarandae, é constituído por 47 espécies, das quais 39 são endêmicas para o Brasil. Este gênero se destaca dos demais gêneros de Bignoniaceae principalmente por apresentar estaminódio alongado glandular e forte potencial etnobotânico e fitoquímico em várias espécies ocorrentes no Brasil. Estruturas secretoras são sítios de produção de substâncias bioativas, estudos sobre distribuição, morfologia e organização anatômica e sua composição química podem contribuir para conhecimento de *Jacaranda* no âmbito biológico, químico e farmacológico. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi realizar uma descrição anatômica foliar de 24 espécies de *Jacaranda* ressaltando características capazes de agrupar espécies e comparar com ambientes de ocorrência e evidenciar características diagnósticas para as espécies. Dentre elas, também foi objetivo desse estudo, realizar uma prospecção das estruturas secretoras foliares e florais em seis espécies associando o morfotipo das glândulas com sua localização, organização anatômica e as principais classes de compostos produzidos. Para isso, usamos técnicas rotineiras para o processamento de material herborizado e material coletado fresco para estudos anatômicos, micromorfológicos de superfície, histoquímicos e análises de agrupamento. Características morfológicas e anatômicas foliares, tais como, o tamanho, forma, tipo da margem e textura dos foliólulos, assim como a estrutura da ala e do bordo, bem como o tipo de aparelho estomático, morfologia de tricomas, ornamentação cuticular, presença e arranjo de fibras do esclerênquima, presença de colênquima na nervura principal, tipo de mesofilo e forma do sistema vascular da nervura mediana, quando utilizadas em conjunto, podem ser de importância diagnóstica para algumas espécies. A análise de agrupamento distribuiu as espécies estudadas em cinco grupos, sendo dois com maior representatividade (onze e oito espécies) apresentando distribuição geográfica e características muito próximas com relação ao espessamento de parede, cutícula e parênquima paliádico; um grupo menor, com três espécies, em que a principal característica responsável pelo agrupamento foi a cutícula na face abaxial ser mais espessa, e por fim, dois grupos compostos por espécies isoladas, que se distanciaram dos demais, um devido ao maior espessamento da cutícula em ambas as superfícies foliares e, o outro, pelo maior espessamento da cutícula na face abaxial e maior espessura do parênquima paliádico. Foram descritos cinco morfotipos de tricomas glandulares: estipitado, capitado, peltado, cupuliforme e pateliforme. Terpenos, lipídios totais e proteínas totais foram as principais classes de metabólitos presentes nos tricomas glandulares, independentemente da localização dos mesmos. Grande parte das espécies tiveram suas características anatômicas foliares e prospecção dos tricomas glandulares descritas pela primeira vez nesse trabalho, contribuindo com informações para estudos futuros sobre a evolução das características foliares, dos tricomas no gênero e as interações das secreções com animais visitantes. Tais informações, quando combinadas com dados de genética, ecologia e taxonomia, entre outros, poderão contribuir com estudos futuros sobre farmacologia, biologia reprodutiva e filogenia de *Jacaranda*. Ademais, o conhecimento aprofundado das estruturas secretoras de *Jacaranda* traz a possibilidade de desenvolver novas tecnologias para a exploração do potencial farmacológico e uso sustentável de suas espécies.

Palavras chave: Anatomia, Bignoniaceae, tricoma glandular, secreção.

ABSTRACT

Oliveira, D.M. **ANATOMIC AND FOLIAR HISTOCHEMICAL DESCRIPTION OF *Jacaranda* Juss. (BIGNONIACEAE): A COMPARATIVE APPROACH TO FOLIAR AND FLORAL TRICHOMES. 2020.** DOCTORAL THESIS - Institute of Biosciences of Botucatu, State University of São Paulo "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo.

The genus *Jacaranda* Juss. (Bignoniaceae), a representative of the Jacarandaeae tribe, consists of 47 species, 39 of which are endemic to Brazil. This genus stands out from the other genera of Bignoniaceae mainly for presenting elongated glandular staminode and strong ethnobotanical and phytochemical potential in several species occurring in Brazil. Secretory structures are sites of production of bioactive substances, studies on distribution, morphology and anatomical organization and their chemical composition can contribute to *Jacaranda* knowledge in the biological, chemical and pharmacological fields. In this context, the objective of this study was to perform a leaf anatomical description of 24 species of *Jacaranda* highlighting characteristics capable of grouping species and comparing with occurrence environments and highlighting diagnostic characteristics for the species. Among them, it was also the aim of this study, to prospect for leaf and floral secretory structures in six species associating the gland morphotype with its location, anatomical organization and the main classes of compounds produced. For this, we use routine techniques for the processing of herborized material and fresh collected material for anatomical, surface micromorphological, histochemical and cluster analysis studies. Leaf morphological and anatomical characteristics, such as the size, shape, type of margin and texture of the leaflets, as well as the structure of the wing and edge, as well as the type of stomatal system, trichome morphology, cuticular ornamentation, presence and arrangement sclerenchyma fibers, presence of collenchyma in the main vein, type of mesophyll and shape of the vascular system of the median vein, when used together, may be of diagnostic importance for some species. The cluster analysis distributed the species studied in five groups, two with greater representativeness (eleven and eight species) presenting geographic distribution and very close characteristics in relation to wall thickness, cuticle and palisade parenchyma; a smaller group, with three species, in which the main characteristic responsible for the grouping was the thicker cuticle on the abaxial face, and finally, two groups composed of isolated species, which distanced themselves from the others, one due to the greater thickening of the cuticle on both leaf surfaces and, the other, due to the greater thickening of the cuticle on the abaxial face and greater thickness of the palisade parenchyma. Five morphotypes of glandular trichomes have been described: stipulated, capitulated, pelted, cupuliform and patelliform. Terpenes, total lipids and total proteins were the main classes of metabolites present in glandular trichomes, regardless of their location. Most of the species had their leaf anatomical characteristics and prospecting for glandular trichomes described for the first time in this work, contributing with information for future studies on the evolution of leaf characteristics, trichomes in the genus and the interactions of secretions with visiting animals. Such information, when combined with data on genetics, ecology and taxonomy, among others, may contribute to future studies on *Jacaranda* pharmacology, reproductive biology and phylogeny. In addition, the in-depth knowledge of *Jacaranda* secretory structures brings the possibility of developing new technologies for the exploration of the pharmacological potential and sustainable use of its species.

Keywords: Anatomy, Bignoniaceae, glandular trichome, secretion.

INTRODUÇÃO GERAL

Bignoniaceae é uma família de plantas pantropical, predominantemente neotropical, inclui aproximadamente 82 gêneros e 840 espécies de árvores, lianas e arbustos (Gentry 1980; Judd et al. 1999; Zuntini & Lohmann 2016; Olmstead et al. 2009; Lohmann & Ulloa 2019; Rasgsac et al. 2019).

O Brasil aporta a maior diversidade de espécies da família Bignoniaceae com 33 gêneros e 413 espécies, sendo que dessas, 199 espécies são endêmicas (Olmstead et al. 2009; Alcantara & Lohmann 2010) e ocorrem em florestas úmidas, ou secas, em áreas abertas ou afloramentos rochosos (Lohmann 2004). Suas espécies são facilmente reconhecidas pelo porte lenhoso, folhas opostas, compostas, flores hermafroditas e gamopétalas, com quatro estames férteis e a presença de um estaminódio, podendo ser alongado ou reduzido (Lohmann & Ulloa 2019; Olmstead et al. 2009). Atualmente, Bignoniaceae possui seis tribos monofiléticas (Bignonieae, Catalpeae, Jacarandaeae, Oroxyleae, Tecomeae e Tourrettieae) e dois clados denominados informalmente de aliança Tabebuia e clado Paleotropical (Olmstead et al. 2009). Aliança Tabebuia (14 gêneros e 147 espécies) e a tribo Jacarandaeae (2 gêneros e 50 espécies) são os maiores clados de árvores e arbustos da família (Lohmann & Ulloa 2019).

A tribo Jacarandaeae possui 50 espécies de árvores e arbustos, inclui os gêneros *Digomphia* Benth e *Jacaranda* Juss. distribuídos da Guatemala à Argentina (Olmstead et al. 2009) sendo que destas, 39 são endêmicas do Brasil (Alcantara & Lohmann 2010; Olmstead et al. 2009). Análises filogenéticas moleculares indicaram que Jacarandaeae é a primeira linhagem a se diferenciar da família, sendo irmã das demais Bignoniaceae (Spangler & Olmstead 1999; Olmstead et al. 2009). Recentemente, um estudo filogenético realizado por Ragsac et al. (2019), subdividiu o gênero *Jacaranda* em quatro seções: (1) *Jacaranda* seção *Nematopogon*, consiste em três espécies do gênero *Digomphia* e distingue-se morfologicamente do resto do gênero pela presença de estaminódios com ápices profundamente divididos e cálices espatáceos; (2) *Jacaranda* seção *Copaia* compreende apenas de *J. copaia* (Aubl.) D.Don. sustentada pela distribuição da espécie e morfologia intermediária entre as seção *Jacaranda* e seção *Dilobos* como por exemplo os a madeira apresenta raios multiseriados e homocelulares, nas floras as anteras são monotecas e cálices cupuliformes; (3) *Jacaranda* seção *Jacaranda cuja espécies apresentam* combinação de anteras monotecas e um cálice campanulado, às vezes profundamente lobulado e (4) *Jacaranda* seção *Dilobos* a maior seção cujas espécies compartilham a presença de anteras ditecas, estaminódio indiviso e cálices cupulares e persistentes.

O gênero *Jacaranda* é caracterizado por apresentar espécies de vários hábitos, possuindo desde grandes árvores, arbustos e subarbustos com espécies xilopodíferas ou não

(Morawetz 1982; Gentry 1992; Farias 2000; Sampaio 2010). Morfologicamente são espécies que apresentam folhas opostas geralmente bipinadas, por vezes pinadas e raramente simples (Lohmann & Pirani 1996); flores com cálice amplamente campanulado a cupular, truncado a profundamente partido, geralmente 5-denticulado, e corola tubular-campanulada ou infundibuliforme, variando da cor violeta ao lilás e de magenta até púrpura; as anteras são bitecas, divaricadas com as duas tecas bem desenvolvidas (*Jacaranda* secção *Dilobos*) ou com uma das tecas reduzida (*Jacaranda* secção *Monolobos*) [Rasgsac et al. 2019] o estaminódio é alongado, acima dos estames, é conspicuo, colorido, com tricomas glandulosos; o ovário bicarpelar e bilocular é súpero, geralmente achatado, sendo base para o disco nectarífero, que se apresenta na forma elipsoide ou aneliforme; o fruto é capsular, oblongo a arredondado, glabro, perpendicularmente comprimido em direção ao septo; as valvas são glabras ou lepidotas, coriáceas a lenhosas, podendo as margens serem onduladas ou não; as sementes são finas, aladas, membranáceas, hialinas ou ligeiramente castanhas (Gentry 1992; Farias 2000; Olmstead et al. 2009).

Considerando que nos últimos anos aumentaram os estudos para o gênero *Jacaranda*, inclusive taxonômicos e filogenéticos (Spangler & Olmstead 1999; Olmstead et al. 2009; Rasgsac et al. 2019), ainda existe o fato da semelhança morfológica entre algumas espécies de *Jacaranda* serem evidente tanto nos caracteres vegetativos quanto reprodutivos, o que dificulta a delimitação específica (Morawetz 1982; Gentry 1992; Lohmann & Pirani 1996; Farias-Singer 2007). Para melhor compreensão do grupo, é necessário estudos combinados das estruturas vegetativas, reprodutivas (Farias 2000) e por vezes o local de ocorrência (Gentry 1992).

A anatomia foliar pode servir como um indicador seguro para a identificação de espécies (Metcalf & Chalk 1950; Stace 1965), e pode ajudar a entender os processos fisiológicos e adaptativos das plantas, especialmente em ambientes em mudança (Lindorf 1997; Hlwatika & Bhat 2002; Herrera et al. 2009). Segundo Carlquist (1961), diferenças em relação a algumas características anatômicas das folhas, por exemplo, a altura das células epidérmicas e a profundidade dos estômatos podem ser causadas pela pressão ambiental e resultar da adaptação das espécies às variações climáticas. Em toda a família Bignoniaceae, os caracteres anatômicos foliares significativos para a delimitação das espécies incluem estriação cuticular, tipos de estômatos e tricomas, presença de pregas peristomais, tipo de sinuosidade das paredes epidérmicas, presença de idioblastos, esclerênquima e fibras no mesofilo, presença de hipoderme e colênquima (Ogundipe & Wujek 2004; Pereira & Mansano 2008; Silva et al. 2009; Gonzalez 2013) no entanto, faltam estudos anatômicos foliares do gênero *Jacaranda*. Através de métodos histoquímicos é possível localizar diferentes substâncias nos estratos teciduais com base em reações químicas específicas, ou em interações macromoleculares de alta afinidade

(Jensen 1962; Pearse 1980). As reações histoquímicas também são promovidas com o objetivo de caracterizar classes gerais de metabólitos primários e secundários auxiliares na identificação das estruturas anatômicas de plantas com interesse farmacológico (Farias 2000).

Os representantes de Bignoniaceae apresentam uma notável diversidade de estruturas secretoras presentes em órgãos vegetativos e reprodutivos (Metcalf & Chalk 1979; Rivera 2000), sendo os tricomas glandulares as estruturas secretoras mais estudadas e seus morfotipos reportados para 21 gêneros (Seibert 1948; Mehra & Kulkarni 1989; Machado et al. 1995, 2006; Mauro et al. 2007; Guimarães et al. 2008; Martins et al. 2008; Zatta et al. 2009; Gonzalez 2013; Nogueira et al. 2013; Ugbabe et al. 2014; Fróes et al. 2015). Estruturas secretoras nos vegetais compreendem desde células isoladas (idioblastos secretores) ou estruturas multicelulares (tricomas glandulares) envolvidas na produção de substâncias específicas, muitas delas com atividades biológica, farmacológica e medicinal (Fahn 1979; Gachet & Schuhly 2009; Castro & Machado 2012). A origem ontogenética, localização (na superfície da planta ou embutida nos tecidos), formato e organização anatômica incluindo a presença ou ausência de vascularização são critérios utilizados para classificar determinada estrutura secretora, bem como, para a caracterização de diferentes taxa (Fahn 1979; Evert 2006).

As principais estruturas secretoras descritas para *Jacaranda* são os tricomas glandulares, osmóforos e os nectários (florais e extraflorais), cuja morfologia e distribuição são extremamente variáveis no corpo vegetal. Suas secreções têm sido relacionadas com atração, defesa e comunicação química (Pichersky & Gershenzon 2002; Nishida 2002; Possobom et al. 2015). De um modo geral, compostos químicos secretados pelos tricomas glandulares possuem atividade biológica diversa, possivelmente como resultado de co-adaptação de plantas e patógenos, herbívoros, polinizadores e outros organismos.

As espécies deste gênero também apresentam uma variedade de usos, especialmente na farmacologia e etnobotânica, pelo potencial biológico, químico e ecológico (Gentry & Morawetz 1992; Gachet & Schuhly 2009). Apesar do potencial farmacológico de *Jacaranda*, como amplamente ressaltado na revisão de Gachet & Schuhly (2009) e da importância dos tricomas glandulares como fonte de substâncias biologicamente ativas (Roschina & Roshchina 1993), estudos associando diversidade morfoanatômica com distribuição topológica e natureza química da secreção ainda são escassos em representantes de *Jacaranda*. Sabe-se porém que o gênero possui atividades antidepressivas, antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas, anti-leishmanias, antiprotozoárias e anti-hipertrigliceridêmicas, podendo ser explorado como fonte potencial de produtos farmacêuticos à base de plantas (Mostafa et al. 2014).

Sendo assim, a presente Tese teve por objetivo principal, realizar uma descrição anatômica foliar de 24 espécies de *Jacaranda* ressaltando características capazes de agrupar espécies e comparar com ambientes de ocorrência e evidenciar características diagnósticas para as espécies. Dentre elas, também foi objetivo desse estudo, realizar uma prospecção das estruturas secretoras foliares e florais em seis espécies associando o morfotipo das glândulas com sua localização, organização anatômica e as principais classes de compostos produzidos.

A presente tese é composta por dois capítulos com os seguintes títulos:

I: LEAF MORPHOLOGY AND LEAFLET MICROMORPHOLOGY AND ANATOMY OF *Jacaranda* Juss. (Jacarandaeae, Bignoniaceae) AND THEIR SYSTEMATIC AND ECOLOGICAL IMPLICATIONS. [Submetido até a data da defesa para a revista "*Plant Systematics and Evolution*", *qualis*: B1/A3, *fator de impacto*: 1,34]

II: CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE TRICOMAS GLANDULARES DE *Jacaranda* Juss. (Bignoniaceae). [Em processo de escolha de periódico.]

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcantara S, Lohmann LG (2010). Evolution of floral morphology and pollination system in Bignoniaceae (Bignoniaceae). American Journal of Botany, United States, v. 97, p. 782-796.
- Carlquist S (1961). Comparative plant anatomy. A Guide to Taxonomic and Evolutionary. Holt, Rinehart and Winston (New York) At Jodrell Lab.
- Castro MM, Machado SR (2012). Células e Tecidos secretores. In: Apazzato-da-Glória, B, Carmello-Guerreiro, SM. (eds). Anatomia Vegetal. 3th edn. Viçosa, UFV, pp 179-203.
- Evert RF (2013). Anatomia das Plantas de Esau. Trad. Carmen Regina Marcati. Blücher, São Paulo
- Fahn A (1979). Secretory tissues in plants. Academic Press Inc., London.
- Farias R. Fitogeografia dos gêneros *Jacaranda* Juss. e *Tabebuia* Gomes ex DC. no bioma Cerrado. 2000. Dissertação (Mestrado em) - Instituto de Biologia da UnB, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.
- Farias-Singer RF (2007). Estudos ontogenéticos de flor e fruto em espécies de Bignoniaceae com ênfase na taxonomia. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – SP, Brasil.
- Fróes FFPDC, Gama TDSS, Feio AC, Demarco D (2015). Estrutura e distribuição de tricomas glandulares em três espécies de Bignoniaceae. Acta Amazonica, Manaus, v. 45, n. 4, p. 347-354.
- Gachet MS, Schühly W (2009). *Jacaranda* - an ethnopharmacological and phytochemical review. Journal of Ethnopharmacology, South Africa, v. 121, p. 14-27.
- Gentry AH (1980). Anti-pollinators for mass flowering plants? Biotropica, v. 10, n. 1, p. 68-69.
- Gentry AH (1992). Bignoniaceae. Flora Neotropica, Monographs. part II. Missouri Botanical Garden, v. 25, n. 2, p. 51-105.
- Gonzalez AM (2013). Indumento, nectarios extraflorales y anatomía foliar en Bignoniáceas de la Argentina. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, Caba, v. 48, p. 221-245.
- Guimarães E, Di Stasi LC, Maimoni-Rodella RCS (2008). Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. Annals of Botany, United Kingdom, v. 102, p. 699-711.

- Herrera A, Escala M, Rengifo E (2009). Leaf anatomy changes related to physiological adaptations to flooding in Amazonian tree species. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 301-308.
- Hlwatika CNM, Bhat RB (2002). An ecological interpretation of the difference in leaf anatomy and its plasticity in contrasting tree species in Orange Kloof, Table Mountain, South Africa. *Annals of Botany*, United Kingdom, v. 89, p. 109-114.
- Jensen WA (1962). *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco, CA. Freeman Press
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF (1999). *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland, v. 25, p. 215-216.
- Lindorf H (1997). Wood and leaf anatomy in *Sessea corymbiflora* from an ecological perspective. *International Association of Wood Anatomists*, Netherlands, v. 18, n. 2, p. 157-168
- Lohmann LG (2004). Bignoniaceae. In *Flowering Plants of the Neotropics* (N. Smith, S.A. Mori, A. Henderson, D. Wm. Stevenson & S. Heald, eds.) Princeton University Press, Princeton, p. 51-53
- Lohmann LG, Pirani JR (1996). Tecomeae (Bignoniaceae) da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, Mato Grosso, v. 10, p. 103-138.
- Lohmann LG, Ulloa C (2019). Bignoniaceae em: iPlants Prototype Checklist. Disponível em: <http://www.iplants.org>, acessado em 03 de outubro de 2019
- Machado SR, Gregório EA, Guimarães E (2006). Ovary peltate trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): developmental ultrastructure and secretion in relation to function. *Annals of Botany*, United Kingdom, v. 97, p. 357-369.
- Machado SR, DP Barreiro, JF Rocha, TM Rodrigues (2012). Dendroid colleters on vegetative and reproductive apices in *Alibertia sessilis* (Rubiaceae) differ in ultrastructure and secretion. *Flora*, Germany, v. 207, p. 868– 877.
- Machado SR, Gregório EA, Guerreiro SMC (1995). Ultrastructural aspects of the peltate glandular trichomes of the gynoecium in *Zeyheria digitalis* (Vell.) Hoehne (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.18, p. 197-205.
- Martins MBG, Castro AA, Cavalheiro AJ (2008). Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 18, p. 600-607.
- Mauro C, Pereira MAS, Silva CDP, Missima J, Ohnuki T, Rinaldi RB (2007). Estudo anatômico das espécies de cerrado *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza (catuaba),

- Zeyheria montana* Mart.(bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba)-Bignoniaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba, v 17, p. 262-265.
- Mehra KR, Kulkarni AR. (1989). Floral trichomes in some members of Bignoniaceae. Indian Academy of Sciences (Plant Sciences), v. 99, p. 97-105.
- Metcalf CR, Chalk L (1950). Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. 1 ed., 2 v., Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L (1979). Anatomy of the dicotyledons; systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. 2nd ed., v.1, Clarendon Press, Oxford.
- Morawetz W (1982). Morphologisch-ökologische Differenzierung, Biologie, Systematik und Evolution der neotropischen Gattung *Jacaranda* (Bignoniaceae). Österr. Akad. Wiss. Math - Naturwiss. Denkschr, v. 123, p. 1-184.
- Mostafa NM, Eldahshan OA, Singab ANB (2014). The genus *Jacaranda* (Bignoniaceae): an updated review. Pharmacognosy Communications, v. 4, n. 3, p. 31-39.
- Nishida R (2002). Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. Annual Review of Entomology, Palo Alto-USA, v. 47, p. 57-92.
- Nogueira A, Ottra JHLE, Guimarães E, Machado SR, Lohmann LG (2013). Trichome structure and evolution in Neotropical lianas. Annals of Botany, United Kingdom, v. 112, p. 1331-1350.
- Ogundipe OT, Wujek DE (2004). Foliar anatomy on twelve genera of Bignoniaceae (Lamiales). Acta Botanica Hungarica, v. 46, p. 337-361.
- Olmstead RG, Zjhra ML, Lohmann LG, Grose SO, Eckert AJ (2009). A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. American Journal of Botany, United States, v. 96, p.1731-1743.
- Pearse AGE (1980). Histochemistry theoretical and applied. 4th ed.Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Pereira PH, Mansano VF (2008). Estudos taxonômicos da tribo Tecomeae (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Itatiaia, Brasil. Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p.265-289.
- Pichersky E, Gershenzon J (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. Current Opinion in Plant Biology, v. 5, n. 3, p. 237-243.
- Possobom CCF, Guimarães E, Machado SR (2015). Structure and secretion mechanisms of floral glands in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae), a neotropical species." Flora, Germany, v. 211, p. 26-39.
- Ragsac AC, Farias-Singer R, Freitas LB, Lohmann LG, Olmstead RG (2019). Phylogeny of the Neotropical tribe Jacarandae (Bignoniaceae). American Journal of Botany, United States, v. 106, p. 1589-1601.

- Rivera GL (2000). Nectarios extranupciales florales em espécies de Bignoniaceae de Argentina. *Darwiniana: Revista Del Instituto de Botánica Darwinion*, San Isidro, v. 16, p.125-126.
- Roshchina VV, Roshchina VD (1993). The excretory function of higher plants. Springer-Verlag, New York.
- Sampaio DS (2010). Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de auto-incompatibilidade. Tese. Universidade Federal de Uberlândia.
- Seibert RJ (1948). The use of glands in a taxonomy consideration of the family Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, St. Louis, v. 35, p. 123-137.
- Silva AML, Costa MFB, Leite VG, Rezende AA, Teixeira SP (2009). Anatomia foliar com implicações taxonômicas em espécies de ipês. *Hoehnea*, São Paulo, v. 36, p. 329-338.
- Spangler R, Olmstead R (1999). Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcl* and *ndhF*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, St. Louis, v. 86, p. 33-46.
- Stace CA (1965). *Cuticular Studies as an Aid to Plant Taxonomy*. London: British Museum, 1965.
- Ugbabe GE, Ayodele AE, Kalpana SJ, Okogun JI (2014). Ultrastructure of the leaf surfaces of the family Bignoniaceae Juss. in Nigeria. *Global Journal of Botanical Science*, Turquia, v. 02, p. 47-44.
- Zatta DT, Oliveira FNM, Bara MTF, Rezende MH (2009). Morfoanatomia foliar e parâmetros de qualidade da *Jacaranda decurrens* (Bignoniaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, Buenos Aires, v. 28, p. 358-365.
- Zuntini AR, Lohmann LG. Levantamento e distribuição das Bignoniaceae na Reserva Natural Vale. In: Rolim SG, Menezes LFT, Srbek-Araujo AC. (org.). *Floresta Atlântica de Tabuleiro: Diversidade e endemismos na Reserva Natural Vale*. Belo Horizonte: Rona, 2016, p 259- 268.

Capítulo I: LEAF MORPHOLOGY AND LEAFLET MICROMORPHOLOGY AND ANATOMY OF *Jacaranda* Juss. (Jacarandaeae, Bignoniaceae) AND THEIR SYSTEMATIC AND ECOLOGICAL IMPLICATIONS. [Submetido à “*Plant Systematics and Evolution*”, *qualis*: B1/A3, *fator de impacto*: 1,34]



Leaf morphology and leaflet micromorphology and anatomy of *Jacaranda* Juss. (Jacarandaeae, Bignoniaceae) and their systematic and ecological implications

Daiane Maia de Oliveira^{1*}; Elza Guimarães²; Silvia Rodrigues Machado^{2*}

¹ UNESP, São Paulo State University, Institute of Biosciences (IB), Graduation Program in Biological Sciences (Botany), Botucatu city, 18618-970, São Paulo state, Brazil.

² São Paulo State University (UNESP), Institute of Biosciences (IB), 18618-970, Botucatu City, São Paulo State, Brazil. daianemaia21@gmail.com

ABSTRACT

Jacaranda Juss. (Bignoniaceae) is widely used in ethnobotany and pharmacology, but the morphological similarity among some species makes it difficult to define specific limits. Using routine methods in light and scanning electron microscopies we described the leaf morphology, and leaflet micromorphology and anatomy of 24 *Jacaranda* species from savanna and forest. The size, shape, type of margin and texture of the leaflets, as well as the winged leaf blade structure and margin, stomatal apparatus type, trichomes morphology, cuticle ornamentation, presence and arrangement of fibers, presence of collenchyma in the median vein, mesophyll type and shape of the vascular system when taken all together showed diagnostic importance for some species. The presence of a homogeneous mesophyll, tetracytic stomatal apparatus and sunken stomata are novelty for the genus. Cluster analysis showed five groups of species, being that two of them concentrated the vast majority of species with similar geographical distribution, highly similar thickness of the cell wall, of the cuticle and of the palisade parenchyma. A smaller group (three species) was clustered mainly due to a thicker cuticle on the abaxial surface, and finally two isolated species, one associated to a thicker cuticle on both abaxial and adaxial surfaces, and another associated to a thicker cuticle only on the abaxial surface and to a thicker palisade parenchyma. Although these anatomical features are sensitive to environmental variations, we identified diagnostic and shared traits among species associating them with the vegetation types in which the species occur. Our results partially correlate with the group's phylogeny.

Keywords: Bignoniaceae, forest, *Jacaranda*, leaflet anatomy, leaflet micromorphology, savanna.

INTRODUCTION

The tribe Jacarandae (Bignoniaceae) with 55 species of trees and shrubs includes the genus *Digomphia* Benth. (with three species) and *Jacaranda* Juss. (with 47 species) has a strictly Neotropical distribution (Olmstead et al. 2009). Molecular phylogenetic analyses have indicated that Jacarandae is the most basal tribe in the family, and is a sister group to the other Bignoniaceae (Spangler and Olmstead 1999; Olmstead et al. 2009).

Jacaranda species are found in tropical and subtropical regions of the Latin America and the Caribbean, but are mainly native to Brazil (36 endemic species), occurring in a diverse range of environments including savannic and forest ecosystems (Morawetz 1982; Gentry and Morawetz 1992; Lohmann and Ulloa 2019).

A recent phylogenetic study using chloroplasts and nuclear markers carried out by Ragsac et al. (2019), suggested a division for the genus *Jacaranda* into four sections, which are: (1) *Jacaranda* section *Nematopogon*, species previously included in *Digomphia* and joined by divided staminodal apices and spatial chalices; (2) *Jacaranda* section *Copaia*, species with monothecate anthers and cupular chalices; (3) *Jacaranda* section *Jacaranda*, species with monotecal anthers and bell-shaped chalices; and (4) *Jacaranda* section *Dilobos*, species with dithecate anthers and cupular chalices, including more than half of the species of the genus, all restricted to Brazil.

Jacaranda species are medium- to large-sized trees, shrubs and subshrubs with or without xylopodia, characterized by opposed leaves usually bi-pinnate, occasionally pinnate and rarely simple; flowers with corolla blue or blue-purple to magenta, staminode elongate, exceeding the stamens, a calyx short and broadly campanulate to cupular, and fruit oblong, flattened, perpendicular to the septum (Morawetz 1982; Gentry and Morawetz 1992; Farias 2000). Some species can be used as ornamental plants, due to their showy flowers, especially in urban spaces and parks; they can also be used for wood harvest and construction, due to their durability and cellulose; besides, the *Jacaranda* genus has been widely used in ethnobotany and pharmacology (Oliveira et al. 2003, Gachet and Schühly 2009; Rahmatullah et al. 2010; Mostafa et al. 2014). Extracts of different *Jacaranda* species possess a wide range of pharmacological activities, such as antioxidant antidepressant, antimicrobial, anticancer, anti-leishmanial, antiprotozoal, hypotensive and anti-hypertriglyceridemic activities, and it could be exploited as a potential source for plant-based pharmaceutical products (Mostafa et al. 2014). However, the morphological similarity among some *Jacaranda* species is remarkable either in vegetative or reproductive organs, which make difficult to delimit species boundaries (Morawetz 1982; Gentry and Morawetz 1992; Lohmann and Pirani 1996; Singer 2007).

Leaf anatomy may serve as a safe proxy for species identification (Metcalf and Chalk 1950; Stace 1965), and it may help to understand plant physiological and adaptive processes, especially in changing environments (Lindorf 1997; Hlwatika and Bhat 2002; Herrera et al. 2009). According to Carlquist (1961), differences concerning to some leaf anatomical features, for example, the height of epidermal cells and the depth of stomata could be caused by environmental pressure and result from species adaptation to climate variances. Across the Bignoniaceae family, leaf anatomical characters which are significant for species delimitation include cuticular striation, stomata and trichomes types, presence of peristomal folds, type of sinuosity of epidermal walls, presence of sclerenchymatous idioblasts and fibers in the mesophyll, presence of hypodermis and collenchyma (Ogundipe and Wujek 2004; Pereira and Mansano 2008; Silva et al. 2009; Gonzalez 2013). However, anatomical study of the genus *Jacaranda* is lacking.

Therefore, one can ask the extent to which the phenotypic similarity of *Jacaranda* species will be visible in anatomical and micromorphological leaf characteristics. Can these leaflets features be taxonomically useful? To what extent would the micromorphological and anatomical characteristics associated with the environment? And finally, the differences at that level correspond with the phylogeny of the group?

The goals of this study was to describe the leaflet micromorphology and anatomy of 24 *Jacaranda* taxa from savanna and forest ecosystems, aiming to (1) provide new diagnostic features for their characterization and to determine characters of systematic importance; (2) to supply new data that can be linked with environmental adjustment; and (3) to analyse to what extent the differentiation of micromorphological and anatomical features corresponds with the group's phylogeny.

MATERIAL AND METHODS

This study was performed with the leaves of herbarium specimens of 24 *Jacaranda* species, which procedence and habit are described in Table 1. For morphological and anatomical analysis we took the median leaflet from completely expanded leaves of three individuals of every species. The accepted names were confirmed on the Database of the Missouri Botanical Garden <http://www.mobot.org/> and Tropicos. Family classification follows the APG IV (2016), accordingly to the established by the Missouri Botanical Garden.

Organography

We described the shape, margin and leaf blade texture of each species. We cut the median region of the leaf blade with a razor blade and drew a diagram of the secondary leaflets under a stereomicroscope Olympus SZ61. The subscripted numbers throughout the text correspond to the species as listed on Table 1. We analysed shrubs and trees (Table 1).

Leaf surface micromorphology

To study the surface of the secondary leaflets, herbarium leaflet samples (adaxial and abaxial surfaces) were glued with colloidal silver onto stubs and then covered with gold (Bozzola and Russel 1992). Image documentation was performed under a scanning electron microscope - Quanta 200 - FEI Company, at 20kv.

Anatomy

Median secondary leaflets were rehydrated in the still water and glycerin at 50%, immersed in KOH solution and fixed in FAA₅₀ (Formaldehyde, acetic acid and alcohol at 50%). Then, samples obtained from the median third of the secondary leaflet were dehydrated in ethylic series and included in glycol metacrylate (Historesin, Leica Instruments®). Transversal sections (5µm of thickness), obtained with a semiautomatic rotary microtome (Leica Biosystems RM2245 – Wetzlar/Germany), were stained in toluidine blue at 0,05%, pH 4,7 (O'Brien et al. 1964) and assembled in acrylic resin (Entellan®, Microscopy, Karlsruhe, Alemanha). We observed and documented the leaves section under a light microscope (Olympus BX41) coupled to a digital camera (Olympus C7070). The analysis of the epidermis frontal view was performed by the Jeffrey's method of diaphanization (nitric acid at 10% and chromic acid at 10%, at the proportion 1:1).

Cluster analysis

We performed a quantitative analysis in ten transversal sections of secondary leaflets' blades from three herbarium specimens and measured the dimension of the following traits with the software Anati Quant 2® UFV (Aguiar et al. 2007): (1) cuticle; (2) external periclinal wall; (3) epidermal cell; (4) mesophyll; (5) palisade parenchyma; (6) spongy parenchyma (Table 2). We used cluster analysis based on k-means in the R environment (R Core Team 2019).

Table I – Information of the study *Jacaranda* Juss. species and respective origin of the collected material and the newly phylogenetic subdivision made by Ragsac et al. (2019) by *Jacaranda* Juss. BHC: Herbarium of the Department of Botany, Federal University of Minas Gerais; BOTU: Herbarium Irina Delanova Gemtchujnicov, São Paulo state University; HRCH: Herbarium of Rio Claro, São Paulo state University; VIC: Herbarium of the Federal University of Viçosa.

	Species	Herbarium	Seção	Habit	Local of occurrence
1	<i>J. acutifolia</i> Bonpl	BHC 21249, 58230; VIC 25453	<i>Jacaranda</i> seção <i>Monolobos</i>	Tree	Cerrado (lato sensu),
2	<i>J. brasiliana</i> (Lam.) Pers.	BHC 148060; BOTU 4177; HRCB 33614	<i>Jacaranda</i> seção <i>Monolobos</i>	Tree	Cerrado (lato sensu),
3	<i>J. campinae</i> A.H.Gentry & Morawetz	HRCB 6684	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Amazon savanna
4	<i>J. caroba</i> (Vell.) DC	BOTU 23866, 32539, 7804	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)
5	<i>J. copaia</i> (Aubl.) D.Don	HRCB 64102	<i>Jacaranda</i> seção <i>copaia</i>	Tree	Rainforest
6	<i>J. cuspidifolia</i> Mart.	BHC 161997, 34052; BOTU 30076	<i>Jacaranda</i> seção <i>Monolobos</i>	Tree	Cerrado (lato sensu)
7	<i>J. decurrens</i> Cham.	BHC 169516; BOTU 10542; 4166	<i>Jacaranda</i> seção <i>Monolobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)
8	<i>J. duckei</i> Vattimo	VIC 21657	not analyzed	Tree	Rainforest
9	<i>J. irwinii</i> A.H.Gentry	BHC 39849; VIC 27465	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)
10	<i>J. jasminoides</i> (Thunb.) Sandwith	BHC 78002, 21719; VIC 21420	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Caatinga
11	<i>J. macrantha</i> Cham.	BHC 41929; HRCB 36662; VIC 18500	not analyzed	Tree	Rainforest
12	<i>J. micrantha</i> Cham.	BOTU 1437; BHC 177904; VIC 7683	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Tree	Rainforest
13	<i>J. mimosifolia</i> D.Don	BHC 169323, 21532, BOTU 22859	not analyzed	Tree	Cerrado
14	<i>J. montana</i> Morawetz	HRCB 21661; VIC 29427	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Tree	Cerrado
15	<i>J. mutabilis</i> Hassl.	HRCB 49992	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Tree	Cerrado (lato sensu)
16	<i>J. obovata</i> Cham.	BHC 92922; HRCB 41840	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	White-sand coastal forest
17	<i>J. oxyphylla</i> Cham.	BOTU 4173, 25862, 13821	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)
18	<i>J. paucifoliolata</i> Mart. ex A. DC.	BHC 58223, 56278; HRCB 27966	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Rocky fields
19	<i>J. praetermissa</i> Sandwith	HRCB 53748	<i>Jacaranda</i> seção <i>Monolobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)
20	<i>J. puberula</i> Cham.	BOTU 26486, 32542; BHC 25778	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Tree	Rainforest
21	<i>J. pulcherrima</i> Morawetz	BHC 24687, 40711; HRCB 41157	not analyzed	Tree	Cerrado
22	<i>J. racemosa</i> Cham.	BHC 144581; BOTU 18407; HRCB 31141	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Cerrado
23	<i>J. rufa</i> Silva Manso	BHC 58233; BOTU 21763, 13819	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)
24	<i>J. ulei</i> Bureau & K.Schum.	BHC 120735; BOTU 30235; HRCB 56059	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>	Shrub	Cerrado (lato sensu)

RESULTS

Organography

The secondary leaflets of the study species vary in size, shape, margin type and leaf blade texture [Table 2]. Regarding size, we can divide the secondary leaflets in three categories: small (0,6 to 2,4cm), found in species 1, 2, 4, 6, 7, 10, 13,14,15, 17, 19, 21, 22 and 24; medium (3,5 to 5,5 cm), found in species 3, 5, 9, 12, 16, 18 and 20; and, large (6 to 10,5 cm), found in species 8, 11, and 23. Regarding the secondary leaflets shape, they vary among elliptic (5, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 21 and 22), lanceolate (1, 4, 6 and 17), linear (7 and 24), cuneate (2 and 13), obtuse (20), falcate (3), spatulate (16), ovate (18) and obcordate (The secondary leaflets present entire margins, with the exception of species 15, 20 and 23, which present dentate margins. Leaf texture is predominantly membranous, with the exception of shrub species (7, 9, 16 and 18), which present coriaceous leaves.

The secondary leaflet is variable regarding blade margin, when observed in transversal sections, allowing the delimitation of seven groups: 1) small slightly curved leaf blade wing [Fig. 1a] with straight margin (2, 13 and 21); 2) straight small leaf blade wings [Fig. 1b] with straight margin (1, 8, 14 and 15); 3) upward arched leaf blade wings in relation to the median vein in the shape of a "V" [Fig. 1c] (4, 17 and 22); 4) arched leaf blade wings in the shape of a single "Ω" [Fig. 1d] with slightly revolute margins (7, 19 and 24); 5) elongated straight leaf blade wings [Fig. 1e] with straight margin (5, 11 and 20); 6) slightly curved elongated leaf blade wings [Fig. 1f] with revolute margins (3 and 16); and 7) arched leaf blade wings in the shape of multiple "Ω" in each vein [Fig. 1g] with revolute margin (6, 9, 10, 12, 18 and 23).

Surface micromorphology and anatomy

In frontal view, the anticlinal walls of the common epidermal cell of the adaxial surface are highly sinuous in the majority of *Jacaranda* species [Fig. 2a, d, e], with the exception of species that present polygonal anticlinal cell walls [Fig. 2b] (3, 5, 9 and 24) or slightly undulate [Fig. 2c] (2, 16,17,18 and 19). The cuticle in the adaxial [Fig. 2a-d] surface can be smooth [Fig. 2c] (1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 13, 14, 17, 19, 20, 21, 22, 23 and 24), striate [Fig. 2d] (5, 7, 10, 11, 15 and 18) or wrinkled (8). In a frontal view, the abaxial cuticle [Fig. 2e-i] can be smooth [Fig. 2f] (4, 9, 12, 16, 19, 20, 21, 22 and 24), striate [Fig. 2e] (3, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 17 and 18) or wrinkled [Fig. 2g] (1, 5 and 23); however, some species may present deposition of flocculent epicuticular wax [Fig. 2h] (6) and pleated cuticle [Fig. 2i] (2 and 13). In a transversal plane, the thick cuticles present $> 9 \mu\text{m}$ of thickness [Fig. 3a] (1, 4, 5, 7, 8, 9, 12 and 24), whereas the thin cuticles present $< 8 \mu\text{m}$ of thickness [Fig. 3b] (2, 3, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 and 23).

Table II: Anatomical traits evaluated in *Jacaranda* Juss. species. Values are expressed as mean $\pm$ sd (μm).
adaCUT (adaxial cuticle); abaCUT (abaxial cuticle); abaTEW (thickening of the abaxial epidermal wall); adaTEW (thickening of the adaxial epidermal wall); adaEP (adaxial epidermis); abaEP (abaxial epidermis); PP (palisade parenchyma); SP (spongy parenchyma).

	Species	adaCUT	abaCUT	adaTEW	abaTEW	adaEP	abaEP	PP	SP
1	<i>J. acutifolia</i>	19,00 $\pm$ 2,06	13,54 $\pm$ 3,67	34,22 $\pm$ 4,46	20,72 $\pm$ 2,19	73,42 $\pm$ 3,29	57,63 $\pm$ 3,56	87,95 $\pm$ 4,07	278,41 $\pm$ 24,01
2	<i>J. brasiliana</i>	5,14 $\pm$ 1,07	1,39 $\pm$ 0,34	15,49 $\pm$ 3,87	7,02 $\pm$ 1,61	15,27 $\pm$ 3,56	17,10 $\pm$ 1,45	109,20 $\pm$ 18,09	134,38 $\pm$ 32,89
3	<i>J. campinae</i>	10,73 $\pm$ 0,84	6,86 $\pm$ 1,38	19,28 $\pm$ 0,89	10,86 $\pm$ 1,23	45,21 $\pm$ 3,54	38,55 $\pm$ 3,37	117,03 $\pm$ 19,41	267,26 $\pm$ 36,68
4	<i>J. caroba</i>	10,72 $\pm$ 2,00	9,46 $\pm$ 1,16	12,28 $\pm$ 2,45	11,59 $\pm$ 2,10	29,05 $\pm$ 4,89	33,43 $\pm$ 3,32	135,48 $\pm$ 27,84	190,51 $\pm$ 36,58
5	<i>J. copaia</i>	12,82 $\pm$ 1,83	20,62 $\pm$ 1,71	6,32 $\pm$ 0,99	2,46 $\pm$ 1,10	45,46 $\pm$ 3,26	23,04 $\pm$ 4,02	184,83 $\pm$ 30,12	53,41 $\pm$ 8,88
6	<i>J. cuspidifolia</i>	5,74 $\pm$ 1,54	1,19 $\pm$ 0,34	11,37 $\pm$ 2,07	1,66 $\pm$ 0,40	27,48 $\pm$ 3,85	8,57 $\pm$ 2,06	73,33 $\pm$ 6,19	77,99 $\pm$ 5,05
7	<i>J. decurrens</i>	13,79 $\pm$ 2,23	7,85 $\pm$ 1,54	6,88 $\pm$ 1,28	2,56 $\pm$ 1,25	15,41 $\pm$ 3,47	13,69 $\pm$ 3,26	18,69 $\pm$ 2,07	166,14 $\pm$ 25,25
8	<i>J. duckei</i>	13,94 $\pm$ 3,36	11,95 $\pm$ 3,42	12,09 $\pm$ 2,86	3,37 $\pm$ 1,77	30,11 $\pm$ 3,07	27,06 $\pm$ 5,05	84,07 $\pm$ 6,31	66,44 $\pm$ 9,80
9	<i>J. irwinii</i>	13,99 $\pm$ 2,66	11,32 $\pm$ 2,30	3,13 $\pm$ 1,23	2,62 $\pm$ 1,03	62,73 $\pm$ 12,32	8,02 $\pm$ 3,78	42,34 $\pm$ 8,71	37,00 $\pm$ 9,01
10	<i>J. jasminoides</i>	5,08 $\pm$ 1,72	6,64 $\pm$ 1,86	6,33 $\pm$ 1,71	5,28 $\pm$ 1,62	31,31 $\pm$ 6,24	16,29 $\pm$ 2,82	72,90 $\pm$ 12,57	133,12 $\pm$ 20,78
11	<i>J. macrantha</i>	7,89 $\pm$ 2,62	9,61 $\pm$ 3,27	8,71 $\pm$ 3,13	8,21 $\pm$ 3,21	47,31 $\pm$ 9,81	28,56 $\pm$ 12,32	112,12 $\pm$ 22,50	140,59 $\pm$ 36,49
12	<i>J. micrantha</i>	23,74 $\pm$ 8,38	7,44 $\pm$ 2,79	17,03 $\pm$ 5,63	17,30 $\pm$ 8,95	106,15 $\pm$ 26,65	55,99 $\pm$ 17,05	242,89 $\pm$ 89,66	179,42 $\pm$ 42,25
13	<i>J. mimosifolia</i>	9,66 $\pm$ 2,35	7,04 $\pm$ 2,63	15,72 $\pm$ 4,86	2,72 $\pm$ 1,06	29,13 $\pm$ 13,65	19,28 $\pm$ 6,64	87,61 $\pm$ 23,08	136,64 $\pm$ 34,59
14	<i>J. montana</i>	4,28 $\pm$ 2,01	8,89 $\pm$ 3,09	13,88 $\pm$ 5,52	7,87 $\pm$ 3,01	28,46 $\pm$ 8,42	25,62 $\pm$ 12,70	120,21 $\pm$ 34,18	150,35 $\pm$ 43,62
15	<i>J. mutabilis</i>	2,74 $\pm$ 1,87	5,84 $\pm$ 1,38	13,32 $\pm$ 5,73	10,83 $\pm$ 4,89	15,89 $\pm$ 13,49	17,11 $\pm$ 4,91	101,20 $\pm$ 23,12	156,70 $\pm$ 75,91
16	<i>J. obovata</i>	6,89 $\pm$ 2,19	6,92 $\pm$ 2,38	5,23 $\pm$ 3,15	3,72 $\pm$ 1,95	34,44 $\pm$ 14,58	42,15 $\pm$ 17,86	112,48 $\pm$ 35,05	261,19 $\pm$ 94,42
17	<i>J. oxyphylla</i>	3,83 $\pm$ 1,67	8,56 $\pm$ 3,27	8,50 $\pm$ 2,92	5,29 $\pm$ 2,06	26,42 $\pm$ 13,44	28,07 $\pm$ 18,13	123,24 $\pm$ 52,41	176,71 $\pm$ 71,83
18	<i>J. paucifoliolata</i>	6,64 $\pm$ 3,00	1,92 $\pm$ 1,35	10,90 $\pm$ 2,31	4,77 $\pm$ 2,58	37,22 $\pm$ 23,09	26,81 $\pm$ 31,45	82,18 $\pm$ 27,51	112,78 $\pm$ 26,56
19	<i>J. praetermissa</i>	5,02 $\pm$ 2,36	3,84 $\pm$ 1,41	1,96 $\pm$ 1,32	0,99 $\pm$ 0,98	20,99 $\pm$ 13,02	13,97 $\pm$ 6,49	175,83 $\pm$ 87,01	0,00
20	<i>J. puberula</i>	5,25 $\pm$ 2,75	2,87 $\pm$ 1,88	8,38 $\pm$ 4,10	6,17 $\pm$ 2,43	25,96 $\pm$ 11,42	25,55 $\pm$ 17,47	71,30 $\pm$ 24,27	127,07 $\pm$ 36,37
21	<i>J. pulcherrima</i>	4,99 $\pm$ 2,26	6,17 $\pm$ 2,72	3,73 $\pm$ 2,04	2,89 $\pm$ 1,75	14,20 $\pm$ 4,47	22,73 $\pm$ 8,61	50,35 $\pm$ 17,60	92,85 $\pm$ 25,58
22	<i>J. racemosa</i>	1,98 $\pm$ 1,02	2,79 $\pm$ 1,42	2,66 $\pm$ 1,84	0,78 $\pm$ 0,93	16,53 $\pm$ 5,27	16,11 $\pm$ 3,56	70,50 $\pm$ 43,21	175,21 $\pm$ 47,32
23	<i>J. rufa</i>	6,65 $\pm$ 2,76	6,18 $\pm$ 2,72	5,05 $\pm$ 1,87	1,80 $\pm$ 1,29	26,73 $\pm$ 13,05	5,69 $\pm$ 2,29	73,30 $\pm$ 13,26	102,01 $\pm$ 22,24
24	<i>J. ulei</i>	17,68 $\pm$ 4,06	2,85 $\pm$ 1,50	10,64 $\pm$ 4,33	6,36 $\pm$ 4,01	53,64 $\pm$ 35,82	14,93 $\pm$ 5,22	127,25 $\pm$ 58,26	168,76 $\pm$ 78,73

In a transversal section, the epidermal cells are rectangular, sometimes presenting a thickened external periclinal wall in the adaxial surface [Fig. 3b, 4a, c, e-h] (2, 6, 8, 13 and 18), or in both epidermal surfaces (1, 4, 12, 14, 15 and 24). The leaves can present glabra (2, 3, 6, 7, 16, 17 and 22) or with a garment formed by glandular or non-glandular trichomes with variable occurrences and characteristics. Some species present uniseriate non-glandular trichomes [Fig. 3e] only in the adaxial surface, ranging from rare occurrence (13 and 14) to abundant (1 and 4) [Fig. 3h], being denser at the secondary leaflet median vein region. Stellate non-glandular trichomes occur only in the adaxial leaf surface in a tree species [Fig. 3f], and multicellular uniseriate trichomes occur only in a shrub species¹⁸, [Fig. 3g], the other species presented uniseriate, unicellular non-glandular trichomes, in both leaf surfaces, regardless of their habit.

Glandular trichomes of different types occur throughout the whole surface of the leaf blades in every study species. They can be peltate [Fig. 3i-m] (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 and 24), patelliform [Fig. 3n-r, u] (1, 2, 3, 5, 7, 13, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23 and 24), scalelike [Fig. 3s] (6, 9, 10, 11 and 12) and rosulate [Fig. 3t] (15). Peltate trichomes present short peduncle cell with thick anticlinal walls and four to eight secretory cells that constitute the trichomes' head [Fig. 3i-m]. They occur completely sunken in epidermal depressions [Fig. 3k], partially sunken in the epidermis [Fig. 3l], at the same level as the common epidermal cells [Fig. 3j, m], in intervein areas and on veins. Scale-like type trichomes present short stalk and secretory cells radially distributed, in a frontal view [Fig. 3t]. Patelliform trichome, observed in most *Jacaranda* species, may present reduced stalk or not, uniseriate and multicellular stalk with irregularly-sized cells and palisade secretory head cells in one or more layers, forming a ring of juxtaposed cells in frontal view [Fig. 3n-r,u]. The rosulate trichome presents two pyramidal basal cells, multicellular stalk and multicellular head, with elongated cell arranged in a circle. These glands were observed solely on the abaxial surface of the leaves of species 15 [Fig. 3t].

The size of the epidermal common cells may differ between the leaf surfaces of the same species and among other species as well, and their sizes are shown in Table 2. In one species, the epidermal cells in the adaxial surface are smaller than in the abaxial surface (19), in other species, the epidermal cells in the adaxial surface are 1,1 to 1,4x larger than in the abaxial surface [Fig. 4d-f, j] (1, 3, 7, 8, 13, 14 and 18); 1,5 to 2x [Fig. 4b] (5, 10, 11, 12 and 19), 2,1 to 3,9x (6 and 24), and even 4 to 7x larger than in the abaxial surface, or the epidermal cells can present the same size in both surfaces [Fig. 4a, h, i, k] (2, 4, 15, 16, 17, 20 and 22).

Leaves are hypostomatic, with mainly anomocytic stomatal apparatus [Fig. 3c], and occasionally tetracytic [Fig. 3d] (16). Stomata can be grouped in intervein spaces (3, 4, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 18 and 22) or they can be randomly distributed along the entire epidermal surface (1, 2, 7, 8, 9, 10, 11,

16, 17, 19, 20, 21, 23 and 24). In some species, stomata are in the same level as the common epidermal cells (1, 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 15, 17, 20 and 22); in other, they are elevated (5, 7, 8, 12, 13, 14, 16, 19, 21, 23 and 24), and they are sunken only in species 18 [Fig. 4j].

The mesophyll is mainly dorsiventral [Fig. 4a, b, d, e], however, it can also be isobilateral [Fig. 4g] (14 and 17) and homogeneous (19). Mesophyll varies from less than 100 μm up to 500 μm thick (Table 2). Palisade parenchyma is mainly composed by a layer of cells, but in some species, it can be composed by two [Fig. 4j] (14, 17, 18, 23 and 24) or even three layers [Fig. 4b] (5). Spongy parenchyma can present two layers [Fig. 4g] (14 and 17), three to four [Fig. 4a, e, h] (1, 2, 4, 8, 10, 11, 15, 18, 19, 20, 21 and 24) or even five or more cell layers [Fig. 4b, d, f-I, k] (3, 5, 7, 9, 12, 13, 15, 16, 22 and 23). We observed ample intercellular spaces in approximately 50% of the study species [Fig. 4a-e] (2, 3, 5, 6, 9, 11, 16, 18, 20, 21, 22, 23 and 24). Regarding parenchyma thickness from a transversal view, spongy parenchyma can be thinner or similar to the palisade parenchyma [Fig. 4c, e] (5, 6, 8, 9 and 12), spongy parenchyma can present 1,1 to 1,4 times the thickness of the palisade parenchyma [Fig. 4a, f, g, j] (2, 4, 11, 14, 17, 18, 22, 23 and 24), 1,5 to 2 times thicker [Fig. 4b, h] (10, 13, 15, 20 and 21), or even 2,1 to 3 times thicker than the palisade parenchyma [Fig. 4d, i, k] (1, 3, 7, 16 and 22). The raw values of parenchyma thickness are shown in Table 2.

Median vein shape in transversal sections varies from concave-convex [Fig. 5a-d, f-k, m, o, p] (1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22, 23 and 24) to plano-convex [Fig. 5e, l, n] (5, 8, 16 and 18). The central vascular system can present itself as a concentric bundle (1-3, 5, 6, 12, 19, 20, 24) a semi-closed arch (4, 7, 11 and 22) or an almost flat arch (8, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21 and 23). Sclerenchymatous fibres can surround the whole bundle [Fig. 5a, b, e, f] (1, 2, 5, 6 and 19), can be distributed in caps in both sides of the bundle [Fig. 5c, d, g, k, l, m, n, p] (3, 4, 7, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 and 22), only in the abaxial surface [Fig. 5j, o] (11, 20 and 24), only in the adaxial surface [Fig. 5h] (9), or they can be absent [Fig. 5i] (8, 10, 21 and 23). Vascular bundle sheaths can be sclerenchymatous [Fig. 5b, d, g, k, n, p] (2, 4, 7, 13, 18, 19 and 22) or parenchymatous [Fig. 5a, i, l, o] (1, 8, 10, 14, 15, 17, 20, 21, 23 and 24). The bundles with smaller calibers are arranged in the median portion along the mesophyll and can present differentiate and conspicuous endoderm (1, 2, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 22, 23 and 24) with collenchymatous sheath extensions (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 and 24). Pericyclic fibres occur in the majority of the study species, with the exception of species 15, 19, 21 and 23. Rhomboid calcium oxalate crystals occur in the endodermis of species 20 [Fig. 4l].

Cluster analysis

We can see the separation of two large species cluster, one smaller one and two isolated species [Table 2, 3, Fig. 6 Fig. 7a-f]. The first group comprises 11 species (2, 6, 7, 10, 13, 18, 19, 20, 21, 22 and 23) [Fig. 7b], the second one comprises eight species (3, 4, 11, 14, 15, 16, 17 and 24) [Fig. 7c], with the smallest traits in general, but with thicker cuticle, cell walls and parenchyma. The third group comprised three species (5, 8 and 9), with thicker cuticle in the abaxial surface of the leaves [Fig. 7d]. Moreover, the two isolated species were *Jacaranda acutifolia* Bonpl., which presents different cuticle thickness in each leaf surface [Fig. 7e]; and *Jacaranda micrantha* Cham., for which the thickness of the cuticle in the adaxial surface and the thickness of the palisade parenchyma were the main sources of separation from the other species [Fig. 7f].

DISCUSSION

The leaf morphology, anatomy and micromorphology of the leaflet of 24 species of *Jacaranda* Juss. were described and compared, for the first time, in order to determine their taxonomic and ecological implications. The morphological leaf features from the study species, such as the size, shape, type of margin and texture of the secondary leaflets, the winged leaf blade structure, associated to its margin and indumentum, when analysed together can act as diagnostic traits for the identification of some species, as reported for other Bignoniaceae species (Ogundipe and Wujek 2004).

The micromorphological characters in frontal view of leaflets are important in identification of the taxa. We found peltate, patelliform, scale-like, and rosulate trichomes in the study *Jacaranda* species, which were already described for other Bignoniaceae species, being the first two types of trichomes common to every Bignoniaceae taxa, while the latter two types, are novelties for *Jacaranda*. The patelliform glandular trichomes observed in fourteen species studied, with representatives of all clusters, can be considered extrafloral nectaries, according to their morphology, cellular organization and nature of their secretion. (Elias and Newcombe 1979; Galetto 1995; Riviera 2000; Bittencourt Jr and Semir 2006; Gonzalez 2013; Nogueira et al. 2013; Scudeller 2014; Ugbabe et al. 2014). These nectaries are more common in the abaxial surface of the secondary leaflets and are completely sunken into the epidermis in these species (1, 2, 3, 5, 7, 13, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 23 and 24), which can represent protection against abiotic factor that could modify nectar features, such as rain and evaporations. The presence of extrafloral nectaries in Bignoniaceae has been associated to its adaptive success and to its anti-herbivory defense (Lohmann et al. 2008; Martins et al. 2008; Rivera 2000; Nogueira et al. 2013).

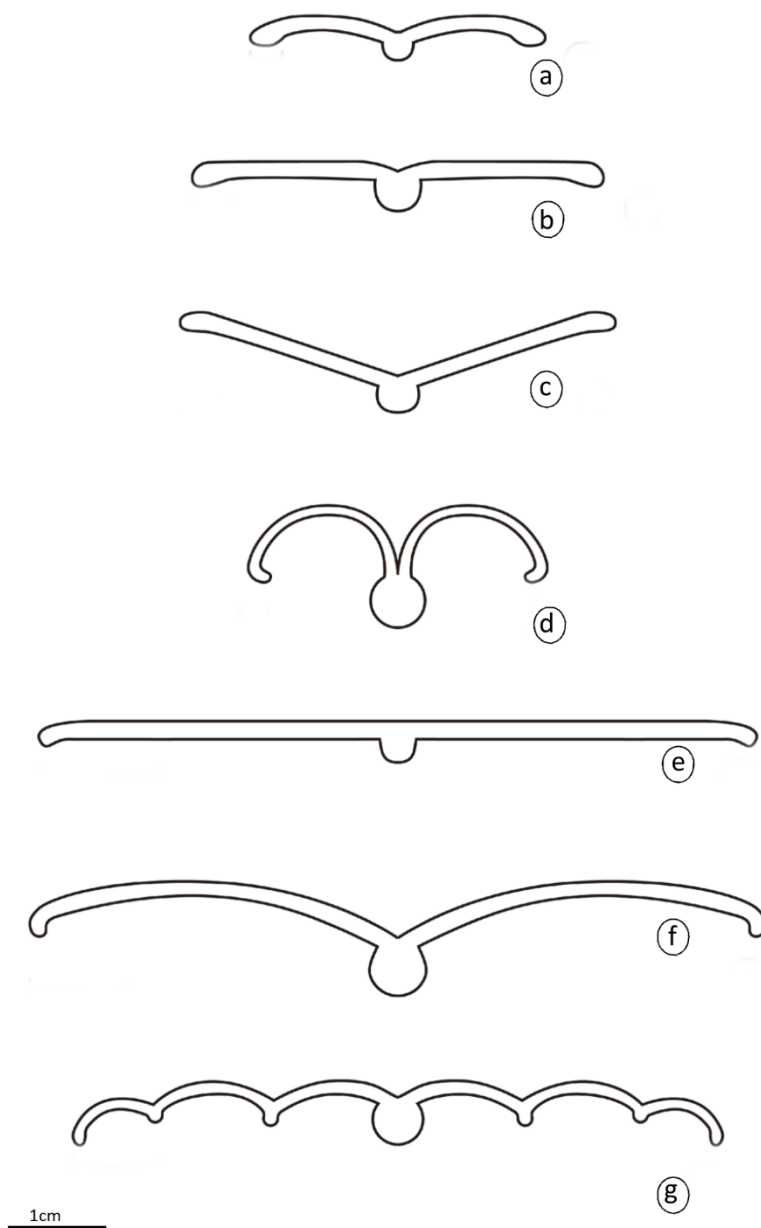


Figure 1. Diagram showing the type of secondary leaflet leaf blade wing and blade margin from *Jacaranda* Juss. species: **a** small slightly curved leaf blade wing with straight margin. **b** straight small leaf blade wing with straight margin. **c** upward arched leaf blade wing i wing in the shape n relation to the median vein in the shape of a “V” with straight margin. **d** arched leaf blade of a single “Ω” with slightly revolute margins. **e** slightly curved elongated leaf blade wing with revolute margins. **f** curved wing with elongated blade and margin slightly curved. **g** arched leaf blade wing in the shape of multiple “Ω” in each vein with revolute margin. Scale bar 1cm (a-g)

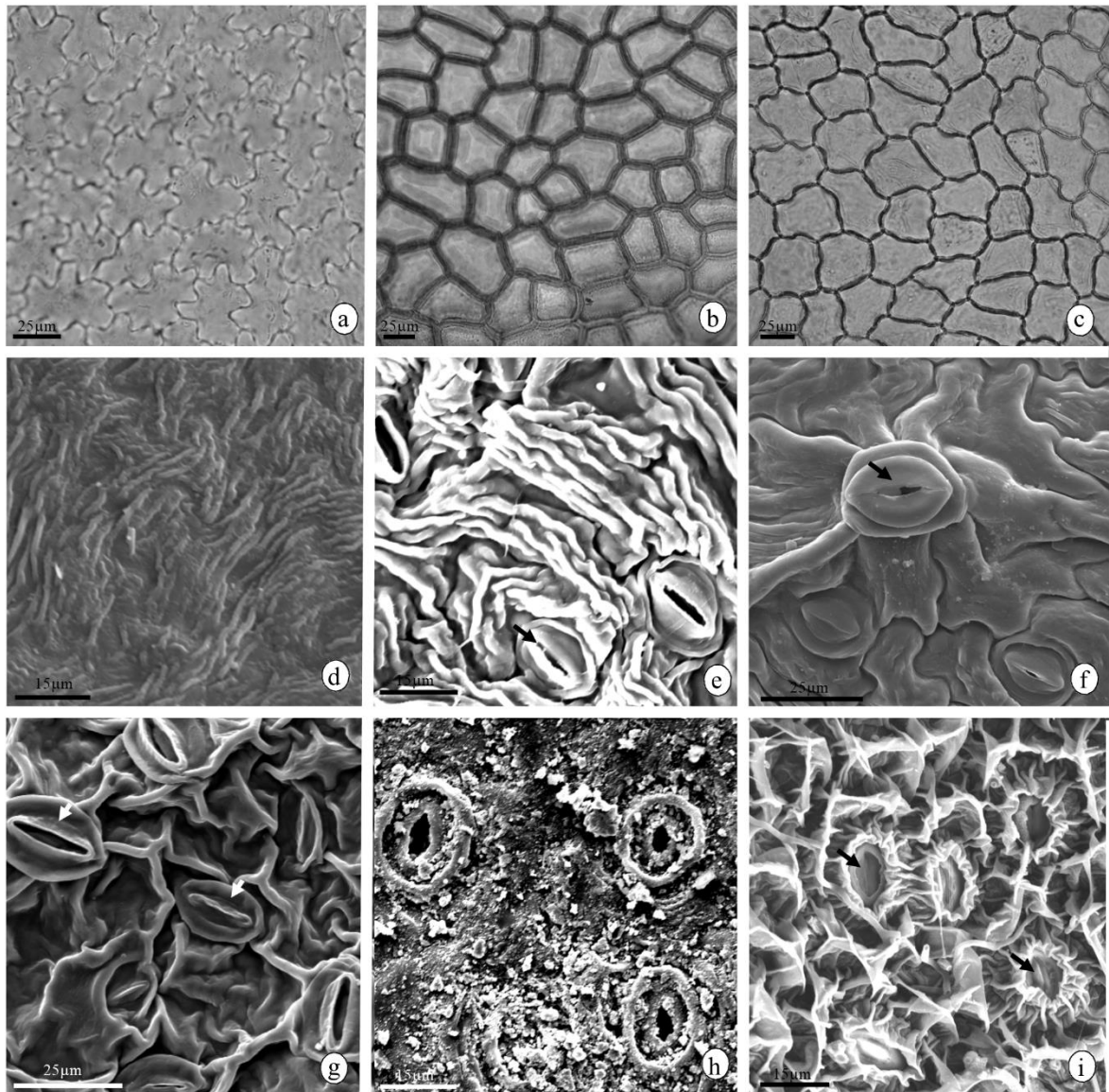


Figure 2. Frontal epidermal view of *Jacaranda* Juss. species: **a-f** Adaxial surface. **g-i** Abaxial surface; **a-c**: LM; **d-i** SEM. **a** *J. puberula*. **b** *J. ulei*. **c** *J. obovata*. **d** *J. macranta*. **e** *J. montana*. **f** *J. micranta*. **g** *J. rufa*. **h** *J. cuspidifolia*. **i** *J. mimosifolia*. Arrow: stomata. LM: Light Microscopy; SEM: Scanning Electron Microscopy.

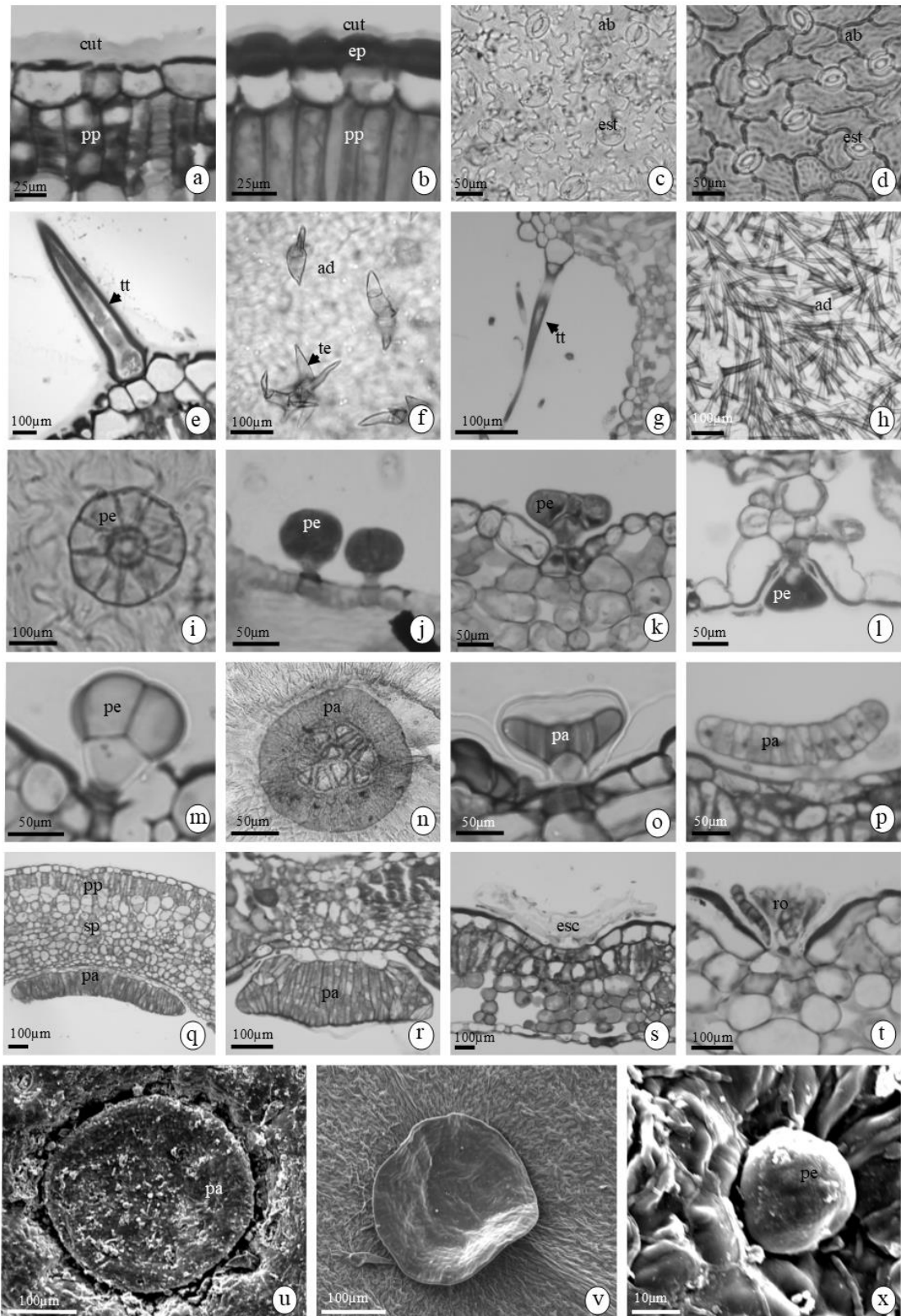


Figure 3. Leaf indumentum from *Jacaranda* Juss. species: **a-t** ML; **u-x** SEM. **a, p** *J. decurrens*. **b, r** *J. brasiliiana*. **c, n** *J. puberula*. **d, o** *J. obovata*. **e** *J. ulei*. **f, u, x** *J. copaia*. **g** *J. paucifoliolata*. **h, j** *J. praetermissa*. **l** *J. campinae*. **m** *J. jasminoide*. **s** *J. cuspidifolia*. **t** *J. mutabilis*. **v** *J. macrantha*. **ab** abaxial surface. **ad** adaxial surface. **cut** cuticle. **ep** thickened anticline cell wall. **esc** squamiform trichome. **est** stomata. **pa** patelliform trichome. **pe** peltate trichome. **pp** palisade parenchyma. **ro** rosulate trichome. **te** stellate trichome. **tt** tector trichome. LM: Light Microscopy; SEM: Scanning Electron Microscopy.

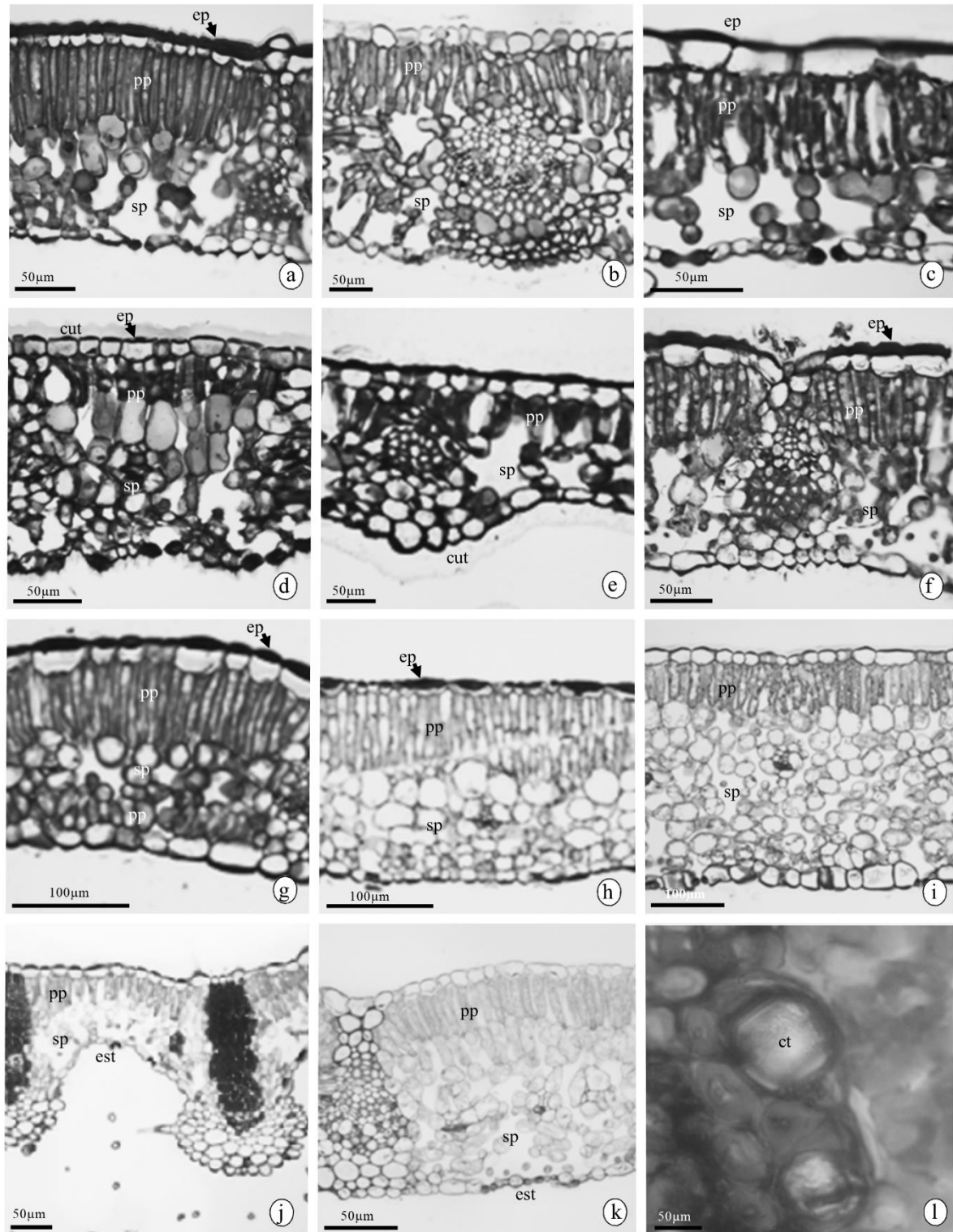


Figure 4. Transverse sections from the secondary leaflet blade from *Jacaranda* Juss. species: **a** *J. brasiliensis*, **b** *J. copaia*, **c** *J. cuspidifolia*, **d** *J. decurrens*, **e**, **l** *J. duckei*, **f** *J. mimosifolia*, **g** *J. montana*, **h** *J. mutabilis*, **i** *J. obovata*, **j** *J. paucifoliolata*, **k** *J. racemosa*, **l** *J. campinae*. **cut** cuticle, **ct** crystal, **ep** thickened anticline cell wall, **est** stomata, **pp** palisade parenchyma, **sp** spongy parenchyma.

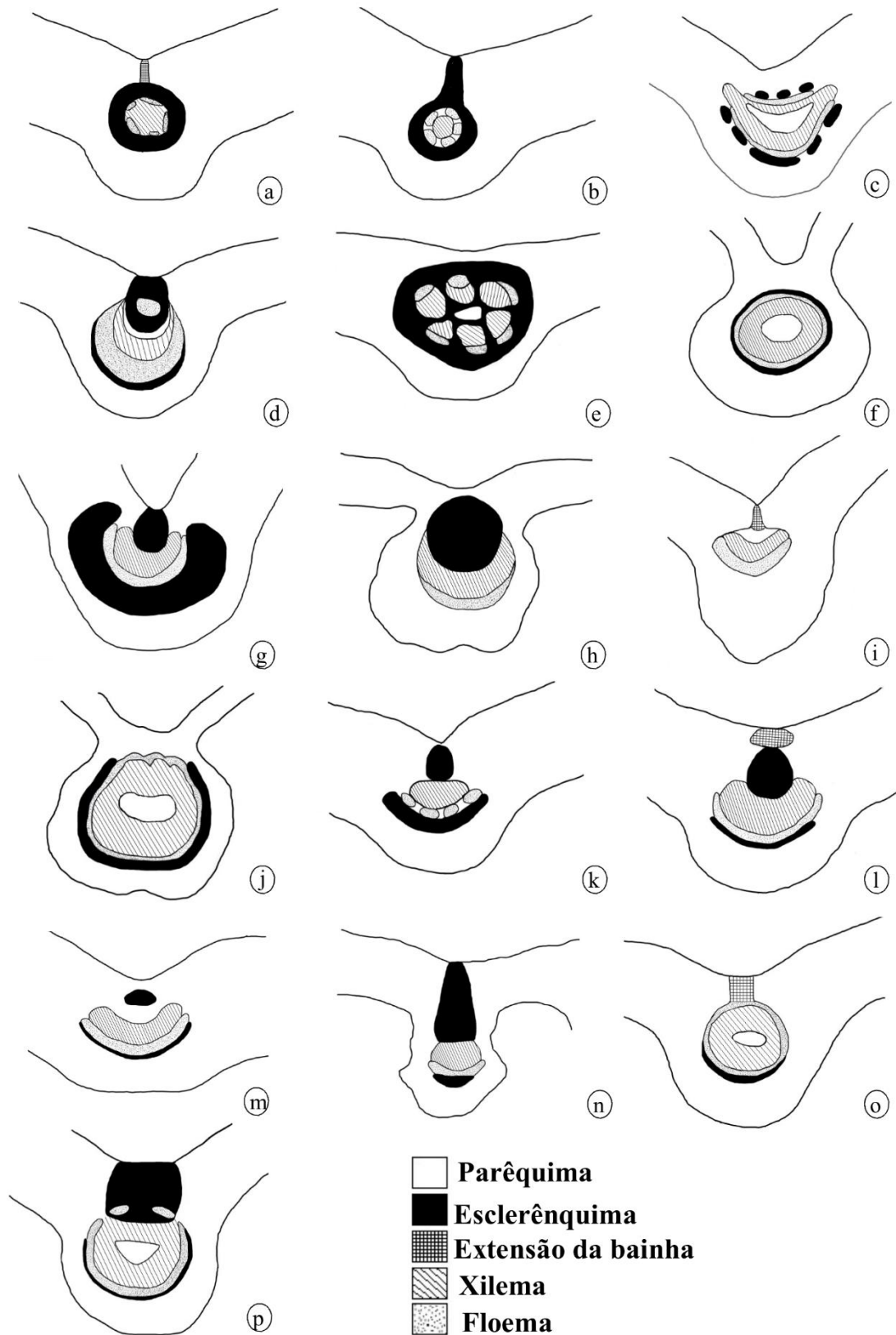


Figure 5. Diagram showing the vascular system organization of leaflet median vein from *Jacaranda* Juss. species: **a** *J. acutifolia*. **b** *J. brasiliiana*, *J. praetermissa*. **c** *J. campinae*, *J. micrantha*. **d** *J. racemosa*. **e** *J. copaia*. **f** *J. cuspidifolia*. **g** *J. decurrens*. **h** *J. irwinii*. **i** *J. duckei*, *J. jasminoides*, *J. pulcherrima*, *J. rufa*. **j** *J. macranta*. **k** *J. mimosifolia*. **l** *J. montana*, *J. mutabilis*, *J. oxyphylla*. **m** *J. obovata*. **n** *J. paucifoliolata*. **o** *J. puberula*, *J. ulei*. **p** *J. caroba*.

Cuticle thickness in the abaxial secondary leaflet surface was the main trait that grouped the species that constitute the third cluster, *Jacaranda duckei* Vattimo, *Jacaranda copaia* var. *copaia* (Aubl.) D. Don e *Jacaranda irwinii* A. H. Gentry (Fig. 7d). Most of these species occur in savanna ecosystems, as cerrado, caatinga and campo rupestre vegetation (Cole 1986), with the exception of *J. copaia* var. *copaia*, which occurs in lowland tropical rain forests, being one of the most common tree species in the Amazon (Ragsac et al. 2019; Scotii Saintagne et al. 2013).

A thick cuticle is a xeromorphic characteristic (Esau 1977) and reflects the pressures imposed by the environments where these species occur. In fact, *J. irwinii*, who had the thickest cuticles on both surfaces of the secondary leaflets (Table 1), occurs in rocky field vegetation, where there are constant winds and extreme temperature variations, with hot days and cold nights, generally with altitudes above 900 meters (Zappi et al. 2003).

Although the nature and thickness of the cuticle, the presence and pattern of epicuticular wax deposition are genetically controlled, environmental pressures also plays an important role in shaping these characteristics (Pallardy 1981). Temperature, relative humidity and wind speed are the main environmental factors that can directly or indirectly influence the formation of the cuticle (Esau 1977; Dickison 2000). In fact, anatomical studies of Leguminosae species from different sites within the same forest showed that cuticle thickness is a trait with high plasticity (Hlwatika and Bhat 2002). The observed differences regarding the cuticular pattern of the abaxial surface of the secondary leaflets in *Jacaranda* species, such as the wrinkled (*J. acutifolia*), pleated (*Jacaranda brasiliiana* (Lam.) Pers.) and flocculent aspects (*Jacaranda cuspidifolia* Mart), cannot be used to differentiate *Jacaranda* species, as the pattern of cuticle ornamentation shows high plasticity, being influenced by radiation, wind speed and the chemical composition of the soil (Metcalf and Chalk 1983; Shepherd and Griffiths 2006).

From the 24 study species, *J. acutifolia* presented thick cellular wall in both abaxial and adaxial leaf surfaces [Fig. 6, Fig. 7a, e]. This species occurs naturally in Andean valleys in central and north Peru [Fig. 7e], in dry environments, with low temperature and high altitude, from 1000 to 2300 m (Bussmann and Sharon 2006; Lohmann and Ulloa 2019). Environmental factors can induce a stronger degree of xeromorphic characteristics in mesomorphic species, or it can intensify xeromorphic characteristics in xerophytic species, as for example low temperatures, which can lead to a stronger expression of xeromorphic characteristics than low humidity itself (Juniper and Jeffree 1983). Ecotypic and xeromorphic traits, such as cell wall thickness, may present a certain degree of plasticity; however, they are genetically fixed (Esau

1977), which may explain why the traits presented by *J. acutifolia*, even after being introduced in Brazil, still present traits that match its origin.

Jacaranda micrantha showed a thicker cuticle on the adaxial surface and palisade parenchyma thicker than the other species, which led to the separation of another cluster [Table 3, Fig. 7a, f]. Such characteristics are observed in species that occur in savanna ecosystems, where thickening of the cuticle on the adaxial surface increases the resistance to water loss by the leaf surface (Ferreira et al. 2015). However, the species is found in semi deciduous and tropical forests, where there is no severe water deficit, and up to 850 m in altitude. This conflict was also discussed in the work of Bündchen et al. (2015) and concluded that in addition to the morphological characteristics, it is important to consider the functional attributes related to the life history of the species, since these attributes interact with the environment, forming different combinations of characteristics, which enables plant species to survive (Hallik et al. 2009).

The mesophyll organization is directly influenced by the balance between carbon assimilation and water loss, light, temperature, soil and humidity (Givinish and Vermeij 1976; Larcher 2000). Mesophyll thickness, especially a palisade parenchyma with more layers usually occurs in species from environments subjected to more intense radiation (Vogelmann et al. 1996, Cao 2000), which was not expected for this species as forest understories receive less intense radiation and diffuse light.

The study *Jacaranda* species leaves are hypostomatic, mainly with anomocytic stomatal apparatus, as reported for other Bignoniaceae species (Silva et al. 2009). However, the presence of tetracytic stomata in *Jacaranda obovata* Cham. constitutes a novelty for the genus as well as for the family. Taking into account the stomata position in relation to common epidermal cells, levelled stomata or elevate stomata, are considered diagnostic traits in Bignoniaceae (Ogundipe and Wujek 2004). However, the occurrence of both types was observed in the vast majority of *Jacaranda* species, with the exception of *Jacaranda paucifoliolata* Mart. Ex. A. DC., which presented sunken stomata in the abaxial surface. It is noteworthy that the stomatal position in relation to other epidermal cells, usually, represents adaptations to specific environmental pressures, being that sunken stomata is a xeromorphic trait found in plants that occur in dry environments, which coincides with the site where this species was collected, in rocky fields at Serra do Cipó – MG. On the other hand, risen stomata are considered a hydromorphic trait usually found in environments with water abundance and high air humid, whereas the presence of levelled stomata constitutes a mesophormic trait, typical in plants that occur in environments with good water availability (Esau 1977).

Jacaranda secondary leaflets are mainly dorsiventral, as has been reported for other Bignoniaceae species (Silva et al. 2009). Only *Jacaranda montana* Morawetz and *Jacaranda oxyphylla* Cham. present an isobilateral mesophyll, and *Jacaranda praetermissa* Sandwith presents an homogeneous one. This variation in mesophyll type (dorsiventral, isobilateral and homogeneous), observed in *Jacaranda* species, contradicts the described in Metcalfe and Chalk (1950), that all Bignoniaceae species present dorsiventral secondary leaflets and only *Kigelia* species present isobilateral species. Isobilateral mesophyll is also reported for *Handroanthus* and *Tabebuia* species (Silva et al. 2009). Thus, the presence of a homogeneous isobilateral mesophyll is a novelty in *Jacaranda*, being a novelty for the family.

The median vein in the study species leaves is concave-convex in shape, protruded in the abaxial surface with mainly concentric vascular system. Some studies show that the shape or the vascular system in some Melastomataceae is intimately related to vein dimensions, which means that plane, rounded or arched vascular bundles determine little protuberant veins (Keating 1984; Reis et al. 2005). *Jacaranda* species did not corroborate this relation, since we found almost plane vascular bundles in concave-convex veins. The configuration of the vascular arch is a trait of importance for taxonomy, as reported by Solereder (1908), Howard (1979), Khatijah et al. (1992), Costa et al. (1995), and Cardoso and Sajo (2004).

The higher development of the sclerenchyma associated with the vascular systems is a trait typically related to xeric environments (Esaú and Morretes 1974; Fahn 1990). In the present study, we did not observe this relation, since we found species without sclerenchyma in the median vein in xeric environments, and we found species that present well-developed sclerenchyma in the median vein in mesic environments, such as *J. copaia*.

Based on studies for other Bignoniaceae taxa (Stace 1965; Ogundipe and Wujek 2004), the variation of some anatomic leaf traits of *Jacaranda* species can be considered as traits with high taxonomic value, such as the type of stomata and trichomes, the sinuosity of the anticlinal cell wall, cuticle ornamentation, the presence of sclerenchyma fibers and the presence of collenchyma in the nervures, the type of mesophyll and the shape of the vascular system in the median vein. Although these anatomical particularities in the leaves showcase the variation among the study species, and thus can be used as diagnostic traits for species identification, their use as such should be done with care, since leaves are organs with high plasticity and that react with higher intensity to environmental changes, such as humidity, light incidence, water deficit, nutrient deficit and temperature (Carlquist 1961; Esau 1977). Thus, it is important to understand the plasticity of anatomical traits in relation to the individual, the species or the group of taxa in relation to the environment (Carlquist 1961; Joffily and Vieira 2005). In fact, some leaf traits, as the sinuosity of the anticlinal cell walls, stomata position and the degree of

differentiation of the mesophyll are strongly influenced by the environment (Metcalf and Chalk 1979; Esau 1977). On the other hand, a study with *Hibiscus* (Malvaceae) species showed that the common epidermal cell shape is genetically fixed, not an expression lead by environmental variation (Rocha and Neves 2000), which according to the authors constitutes a good diagnostic trait. Another study with 13 Celastraceae species showed that the sinuosity of the anticlinal cell walls remained constant, regardless of the site where the plants were collected (Gomes et al. 2005). The percentage of palisade parenchyma, the presence/ absence of hypodermis, the occurrence of an extension of the sheath of the vascular bundle and the shape and position of the vascular system of the median vein can be used to differentiate subgenus of Myrtoideae (Cardoso 2009), whereas the shape of the common epidermal cells and the shape of the median vein are diagnostic traits for Myrtaceae species (Gomes et al. 2009).

In the present study, we analyzed 24 from the 47 species comprised by *Jacaranda* genus (Olmstead et al. 2009), amounting to a considerable representation of the genus. Therefore, we suggest that the morphological and anatomical traits compiled here are robust to understand the genus as a whole. It is noteworthy that the leaf anatomy variation observed in *Jacaranda* species may partially explain the broad distribution of this genus in a range of Brazilian phytogeographical domains [Fig. 7a], which may enable these species to easily survive in a plethora of environmental conditions (Wang et al. 2007; Fraser et al. 2008; Sanches et al. 2009).

The results obtained from the micromorphological and anatomical studies of the *Jacaranda* species were used for the analysis of clusters, subsidizing the taxonomic treatment of the genus. Although the anatomical features are sensitive to environmental variations, we identified diagnostic and shared traits among species associating them with the vegetation types in which the species occur. However, the results of these studies partially correlate with the group's phylogeny (Ragsac et al. 2019). For example, the species identified as belonging to the new *Jacaranda* division, section *Jacaranda* (Monolobos) were grouped with other species in the first group, except *J. acutifolia*, which is a species of isolated group. The second cluster, on the other hand, exclusively brought together species from the *Jacaranda* division, section Dilobos, one of the largest clades presented by Ragsac et al. (2019). The lack of resolution in this section suggests that the group is experiencing rapid changes (Ragsac et al. 2019). It is also important to highlight that *J. copaia* presented a greater metric distance from the analyzed species (Fig. 6), even statistically together with *J. duckei* and *J. irwini* forming the third cluster.

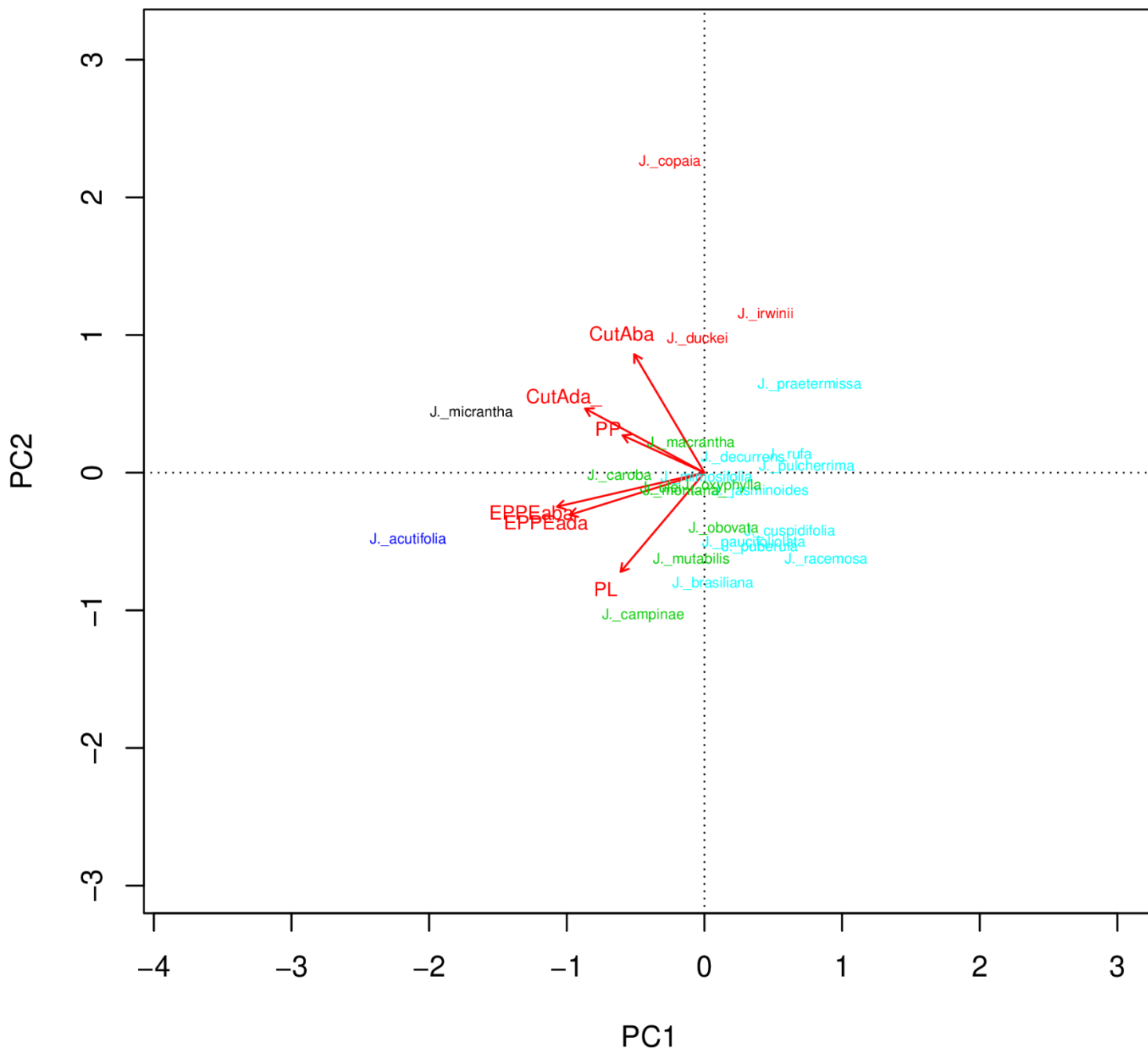


Figure 6. Graphical representation of the clusters formed for *Jacaranda* Juss. Color: light blue: first cluster; green: Second cluster; red: third cluster; dark blue: fourth species; black: fifth isolated species.

Table III: List of clusters of the analyzed species and the newly phylogenetic subdivision made by Ragsac et al. (2019) by *Jacaranda* Juss.

<i>Species name</i>	<i>Custers</i>	<i>Seção</i>
<i>J. brasiliana</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Jacaranda</i> (<i>Monolobos</i>)
<i>J. cuspidifolia</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Jacaranda</i> (<i>Monolobos</i>)
<i>J. decurrens</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Jacaranda</i> (<i>Monolobos</i>)
<i>J. jasminoides</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. mimosifolia</i>	<i>Cluster 1</i>	not analyzed
<i>J. paucifoliolata</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. praetermissa</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Jacaranda</i> (<i>Monolobos</i>)
<i>J. puberula</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. pulcherrima</i>	<i>Cluster 1</i>	not analyzed
<i>J. racemosa</i>	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. rufa</i> Silva	<i>Cluster 1</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. campinae</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. caroba</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. macrantha</i>	<i>Cluster 2</i>	not analyzed
<i>J. montana</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. mutabilis</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. obovata</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. oxyphylla</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. ulei</i>	<i>Cluster 2</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. copaia</i>	<i>Cluster 3</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Copaia</i>
<i>J. duckei</i>	<i>Cluster 3</i>	not analyzed
<i>J. irwinii</i>	<i>Cluster 3</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>
<i>J. acutifolia</i>	<i>Cluster 4</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Jacaranda</i> (<i>Monolobos</i>)
<i>J. micrantha</i>	<i>Cluster 5</i>	<i>Jacaranda</i> seção <i>Dilobos</i>

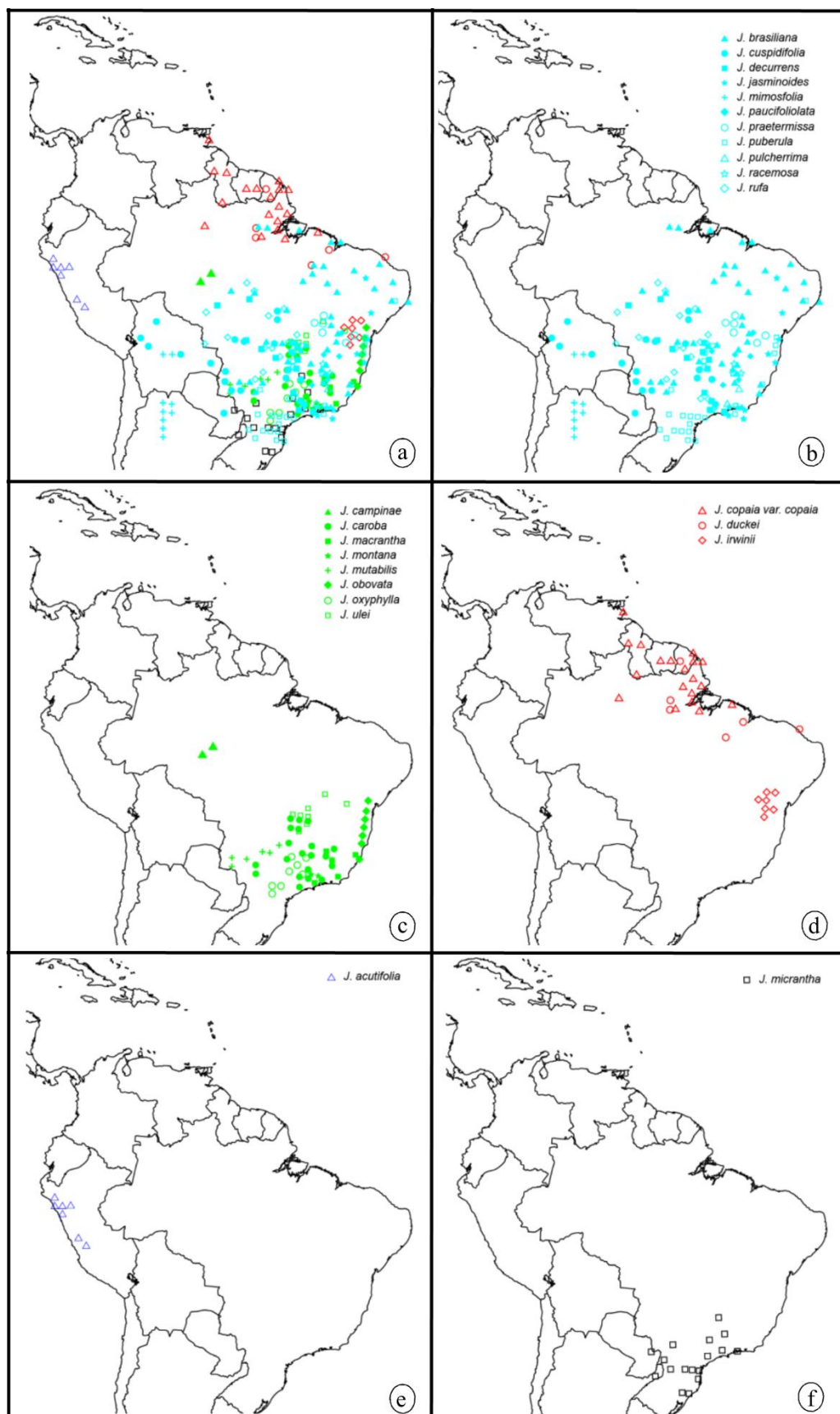


Figure 7. Geographic distribution of the analyzed species of *Jacaranda* Juss. based on the description by Gentry and Morawetz (1992). **a** All species analyzed. **b** Cluster 1. **c** Cluster 2. **d** Cluster 3. **e** Cluster 4. **f** Cluster 5.

REFERENCES

- Aguilar TV, Sant'Anna-Santos BF, Azevedo AA, Ferreira RS (2007) ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta daninha* 25: 649-659. doi: 10.1590/S0100-83582007000400001
- APG, IV. (2016) The linnean society of London. *J. Linn. Soc Bot (England)*.181 1-20.
- Bittencourt Jr NS, Semir J (2006) Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). *Aust J Bot* 54: 315-32. doi: 10.1071/BT04221
- Bozzola JJ, Russel LD (1992) Interpretation of microphotographs. In: Bozzola JJ, Russell LD (eds) *Electron microscopy; principles and techniques for biologists*. Jones & Bartlett Publishers, Boston
- Bündchen M, Boeger MRT, Reissmann CB (2015) Estrutura foliar de espécies lenhosas de dossel e sub-bosque em uma floresta subtropical do sul do Brasil. *Iheringia Ser Bot* 70:105-114
- Bussmann RW, Sharon D (2006) Traditional medicinal plant use in Loja province, Sothern Ecuador. *J Etanbiol Ethnomed (England)* 2: 44. doi: 10.1186/1746-4269-2-44
- Cao KF (2000) Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest *Can J Bot* 10: 1245-1253. doi: 10.1139/cjb78-10-1245
- Cardoso CMV, Sajo MG (2004) Vascularização foliar e a identificação de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) da bacia hidrográfica do Rio Tibagi, PR. *Rev Bras Bot* 27: 47- 54. doi: 10.1590/S0100-84042004000100006
- Cardoso DBOS (2009) Composição florística e análise fitogeográfica de uma floresta semidecídua na Bahia, Brasil. *Rodriguésia* 4:1055-1076. doi: 10.1590/2175-7860200960416
- Carlquist S (1961) Comparative plant anatomy; a guide to taxonomic and evolutionary application of anatomical data in angiosperms. Holt, Rinchart and Winston, New York
- Cole MM (1986) The savannas. Biogeography and geobotany. Academic Press, London. pp 438. doi: 10.1017/S0266467400002352
- Costa CG, Machado RD, Fontenelle JB (1995) Sistema vascular em folhas de *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Bradea* 42: 345-356
- Dickinson WC (2000) Integrative plant anatomy. Harcourt Academic Press, San Diego
- Elias TS, Newcombe LF (1979) Foliar nectaries and glandular trichomes in *Catalpa* (Bignoniaceae). *Acta Bot Sin* 21: 215-228
- Esau K (1977) Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons, EUA
- Fahn A (1990) Plant anatomy, 4th edn. Pergamon Press, Oxford
- Farias R (2000). Fitogeografia dos gêneros *Jacaranda* Juss. e *Tabebuia* Gomes ex DC. no bioma Cerrado. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília- DF, Brasília, Brasil. doi: 10.1590/S0102-33062001000200014
- Ferreira CS, Carmo WSD, Graciano-Ribeiro D, Oliveira JMFD, Franco AC (2015) Anatomia da seleção foliar de onze espécies lenhosas dominantes nas savanas de Roraima. *Acta Amazon* 45: 337-346. doi: 10.1590/1809-4392201500363
- Fraser LH, Greenall A, Carlyle C, Turkington R, Friedman CR (2008) Adaptive phenotypic plasticity of *Pseudoroegneria spicata*: response of stomatal density, leaf area and biomass to changes in water supply and increased temperature. *Ann. Bot.* 103:769-775. doi: 10.1093 / aob / mcn252
- Gachet MS, Schühly W (2009) *Jacaranda*, an ethnopharmacological and phytochemical review. *J Ethnopharmacol* 121:14-27. doi: 10.1016 / j.jep.2008.10.015

- Galetto L (1995) Nectary structure and nectar characteristics in some Bignoniaceae. *Plant Syst Evol* 196:99-121. doi: 10.1007/BF00985338
- Gentry A, Morawetz, W (1992) *Jacaranda*. In Gentry, A. Bignoniaceae Part II – Tribo Tecomeae. *Flora Neotrop* 25: 51-105.
- Givnish TJ, Vermeij GJ (1976) Sizes and shapes of liane leaves. *Am Nat* 110: 743-778. doi: 10.1086/283101
- Gomes SMA, Silva ED, Lombardi JA, Azevedo AA, Vale FHA (2005) Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de Hippocrateoideae (Celastraceae) no Sudeste do Brasil. *Acta Bot Bras* 19:945-961. doi: 10.1590/S0102-33062005000400029
- Gomes SMA, Somavilla NS, Bezerra, KMG, Miranda SDCD, Carvalho PSD, Ribeiro DG (2009) Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta Bot Bras* 23: 224-238. doi: 10.1590/S0102-33062009000100024
- Gonzalez AM (2013) Indumento, nectarios extraflorales y anatomía foliar en Bignoniáceas de la Argentina. *Bull Soc Argent Bot* 48: 221-245.
- Hallik L, Niinemets Ü, Wright IJ (2009) Are species shade and drought tolerance reflected in leaf-level structural and functional differentiation in Northern Hemisphere temperate woody flora? *New Phytol* 184: 257-274. doi: 10.1111 / j.1469-8137.2009.02918.
- Herrera A, Escala M, Rengifo E (2009) Leaf anatomy changes related to physiological adaptations to flooding in Amazonian tree species. *Braz J Plant Physiol* 21: 301-308. doi: 10.1590/S1677-04202009000400006
- Hlwatika CNM, Bhat RB (2002) An ecological interpretation of the difference in leaf anatomy and its plasticity in contrasting tree species in Orange Kloof, Table Mountain, South Africa. *Ann Bot* 89:109-114. doi: 10.1093/aob/mcf011
- Howard RA (1979) The petiole. In: Metcalfe CR. & Chalk L. (eds) *Anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford
- Joffily A, Vieira RC (2005) Anatomia foliar de Maytenus Mol emend Mol. (Celastraceae), ocorrente no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Bot Bras* 19: 549-561. doi: 10.1590/S0102-33062005000300016
- Juniper BE, Jeffree CE (1983) *Plant surfaces*. Edward Arnold, London
- Keating RC (1984) Leaf histology and its contribution to relationships in the Myrtales. *Ann Mo Bot Gard* 71:801-823. doi: 10.2307/2399163
- Khatijah HH, Cutler DR, Moore DM (1992) Leaf anatomical studies of Eugenia L. (Myrtaceae) species from Malay Peninsula. *Bot J Linn Soc* 110:137-156 doi: 10.1111/j.1095-8339.1992.tb00287.
- Larcher W (2000) *Ecofisiologia vegetal*. Tradução de Prado CHBA, São Carlos.
- Lindorf H (1997) Wood and leaf anatomy in Sessea corymbiflora from an ecological perspective. *IAWA Journal* 18:157-168. doi:10.1163 / 22941932-90001477
- Lohmann LG, Alcântara SF, Silva FG (2008) Bignoniaceae in Flora brasiliensis revisitada. <http://flora.cria.org.br>. Acesso 15 Dezembro de 2019.
- Lohmann LG, Pirani JR (1996) Tecomeae (Bignoniaceae) da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil. *Acta Bot Bras* 10:103-138. doi: 10.1590/S0102-33061996000100010
- Lohmann, LG, Ulloa C (2019) Bignoniaceae em: iPlants Prototype Checklist. Disponível em: <http://www.iplants.org>, acessado em 03 de Janeiro de 2019
- Martins MBG, Castro AA, Cavalheiro AJ (2008) Caracterização anatômica e química de folhas de Jacaranda puberula (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. *Rev Bras Farmacogn* 18: 600-607. doi: 10.1590/S0102-695X2008000400018

- Metcalfe CR, Chalk L (1983) *Anatomy of the Dicotyledons. Volume II - Wood Structure and conclusion of the general introduction*. Clarendon press, Oxford
- Metcalfe CR, Chalk L (1950) *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem, and wood, in relation to taxonomy, with notes on economic uses*. Clarendon Press, Oxford
- Metcalfe CR, Chalk L (1979) *Anatomy of the dicotyledons. Vol I. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject*. Clarendon Press, Oxford
- Morawetz W (1982) *Morphologisch-ökologische Differenzierung, Biologie, Systematik und Evolution der neotropischen Gattung Jacaranda (Bignoniaceae)*. Österr. Akad. Wiss. Math-Naturwiss. Denkschr 123: 1-184.
- Mostafa NM, Eldahshan OA, Singab ANB. (2014) *The Jacaranda genus (Bignoniaceae): an updated review*. Pharmacognosy Communications 4:31-39. doi: 10.5530 / pc.2014.3.3
- Nogueira A, Ottra, JHLE, Guimarães E, Machado SR, Lohmann LG (2013) *Trichome structure and evolution in Neotropical lianas*. Ann Bot 112:1331-1350. doi: 10.1093/aob/mct201
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) *Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O*. Protoplasma 59: 368–373
- Ogundipe O, Wujek D (2004) *Foliar anatomy on twelve genera of Bignoniaceae (Lamiales)*. Acta Bot Hung 46:337-361. doi: 10.1556/ABot.46.2004.3-4.7
- Oliveira TB, Bezerra Netto HJC, Xavier MA, Prado DS, Garrote CFD, Aasquiere ER, Rezende MH, Ferreira HD, Paula JR (2003) *Estudo farmacognóstico das raízes de Jacaranda decurrens Cham. (carobinha)*. Rev Bras Farmacogn 13:54-55. doi: 10.1590/S0102-695X2003000300020
- Olmstead RG, Zjhra ML, Lohmann LG, Grose SO, Eckert AJ (2009) *A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae*. Am J Bot 96:1731-1743. doi: 10.3732 / ajb.0900004
- Pallardy SG (1981) *Closely related woody plants*. In: T.T. Kozlowski (ed.). *Water deficits and plant growth*, Vol. VI. Academic Press, New York
- Pereira PH, Mansano VF (2008) *Estudos taxonômicos da tribo Tecomeae (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Itatiaia, Brasil*. Rodriguésia 59: 265-289. doi: 10.1590/2175-7860200859201
- Ragsac AC, Farias-Singer R, Freitas LB, Lohmann LG, Olmstead RG (2019) *Phylogeny of the Neotropical tribe Jacarandae (Bignoniaceae)*. Am J Bot 106: 1589-1601. doi: 10.1002/ajb2.1399
- Rahmatullah M, Samarrai W, Jahan R, Rahman S, Sharmin N, Miajee ZEU, Chowdhury MH, Bari S, Jamal F, Bashir ABMA, Azad AK, Ahsan S (2010) *An ethnomedicinal, pharmacological and phytochemical review of some Bignoniaceae family plants and a description of Bignoniaceae plants in folk medicinal uses in Bangladesh*. Adv Nat Appl Sci 4: 236-253
- Reis CD, Bieras AC, Sajo MDG (2005) *Anatomia foliar de Melastomataceae do Cerrado do estado de São Paulo*. Braz J Bot 451-466. doi: 10.1590/S0100-84042005000300004
- Rivera GL (2000) *Nectarios extranupciales florales em espécies de Bignoniaceae de Argentina*. Darwiniana 16:125-126
- Rocha JF, Neves, LDJ (2000) *Anatomia foliar de Hibiscus tiliaceus L. e Hibiscus pernambucensis Arruda (Malvaceae)*. Rodriguésia 51:113-132. doi: 10.1590/2175-7860200051787904
- Sanches MC, Mielke MS, Souza CSD, Vieira AJD, Lopes MMM, Silva Júnior MB (2009) *Morfologia foliar de indivíduos jovens e adultos de Caesalpinia echinata Lam. numa floresta semidecídua do sul da Bahia*. Rev Arvore 33:885-893. doi:10.1590/S01006762200900-0500011

- Scotti - Saintagne C, Dick CW, Caron H, Vendramin GG, Guichoux E, Buonamici A, Duret C, Sire P, Valencia R, Lemes MR, Gribel R, Scotti I (2013) Phylogeography of a complex of tree species from the lowland neotropical rainforest (Carapa, Meliaceae). *J Biogeogr* 40: 676-692. doi: 10.1111/j.1365-2699.2011.02678.
- Scudeller VV (2014) Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional da Serra da Canastra–Minas Gerais, Brasil. *Iheringia Ser Bot* 59: 59-73
- Shepherd T, Wynne Griffiths D (2006) The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol* 171: 469-499. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01826.
- Silva AML, Costa MFB, Leite VG, Rezende AA, Teixeira, SP (2009) Anatomia foliar com implicações taxonômicas em espécies de ipês. *Hoehnea* 36: 329-338. doi: 10.1590/S2236-89062009000200010
- Singer RF (2007) Estudos ontogenéticos de flor e fruto em espécies de Bignoniaceae com ênfase na taxonomia. - Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas – SP, Brasil.
- Solereder H (1908) Systematic anatomy of the Dicotyledons. Vol. II. Clarendon Press, Oxford. doi: 10.1038/079211a0
- Spangler R, Olmstead R (1999) Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences rbcL and ndhF. *Ann Mo Bot Gard* 86:33-46. doi: 10.2307/2666216
- Stace CA (1965) Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. – *Bull. British Museum (Natural History) Am J Bot* 4:1-78.
- Ugbabe GE, Ayodele AE, Kalpana SJ, Okogun JI (2014) Ultrastructure of the leaf surfaces of the family Bignoniaceae Juss. in Nigeria. *Glob J Bot Sci* 2:37-44. doi: 10.12974/2311-858X.2014.02.01.6
- Vogelmann TC, Nishio JN, Smith WK (1996) Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends Plant Sci* 1:65-70. doi: 10.1016/S1360-1385(96)80031-8
- Wang W, Xiao Y, Chen L, Lin P (2007) Leaf anatomical responses to periodical waterlogging in simulated semidiurnal tides in mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* seedlings. *Aquat Bot* 86: 223-228. doi: 10.1016 / j.aquabot.2006.10.003
- Zappi DC, Lucas E, Stannard BL, Lughadha EN, Pirani JR, Queiroz LP, Atkins S, Hind DJN, Giuletto AM, Harley RM, Carvalho AM (2003) Lista das plantas vasculares de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Bol Bot Univ São Paulo* 21:345-398. doi: 10.11606/issn.2316-9052.v21i2p345-398

Capítulo II: CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE
TRICOMAS GLANDULARES DE *Jacaranda* Juss. (Bignoniaceae).

Caracterização morfoanatômica e histoquímica de tricomas glandulares de *Jacaranda* juss. (Bignoniaceae)

RESUMO

Bignoniaceae se caracteriza por apresentar diversidade de estruturas secretoras em órgãos vegetativos e reprodutivos. A relevância dos tricomas glandulares em estudos taxonômicos, ecológicos e evolutivos é bem estabelecida para alguns representantes desta família, exceto *Jacaranda* Juss. Este gênero se destaca pelo potencial farmacológico e químico de suas espécies. O principal objetivo deste trabalho foi identificar e classificar os tricomas glandulares presentes nas peças florais e nos foliólulos de seis espécies de *Jacaranda*, observando a morfologia, função e distribuição. Foram utilizadas técnicas em morfologia, anatomia, micromorfologia de superfície e de histoquímica vegetal. Foram descritos cinco morfotipos de tricomas glandulares: estipitado, capitado, peltado, cupular e pateliforme. A distribuição desses morfotipos não se limitou aos órgãos e espécies. Terpenos, lipídeos totais e proteínas totais foram as principais classes de metabolitos presentes nos tricomas glandulares, independente da localização dos mesmos. Tricoma estipitado foi observado nas pétalas de todas as espécies, exceto em *J. rufa*. Tricoma capitado ocorreu no pedúnculo de *J. brasiliiana* e na pétala de *J. cuspidifolia*, *J. oxyphylla* e *J. rufa*. Tricoma peltado ocorreu no limbo foliolar de todas as espécies analisadas. Tricoma cupular ocorreu nos foliólulos de *J. brasiliiana*, *J. cuspidifolia* e *J. decurrens*. O tricoma pateliforme foi observado nos foliólulos de *J. brasiliiana* e *J. oxyphylla* e na sépalas de *J. cuspidifolia*. Os morfotipos estipitados e capitados ocorreram conjuntamente na base dos estames e no estaminódio de todas as seis espécies analisadas. As principais classes de metabólitos detectadas nos tricomas glandulares de *Jacaranda* foram: terpenos, lipídeos, alcalóides e proteínas. A importância biológica, química e farmacológica desses componentes é discutida.

Palavras chave: Bignoniaceae, *Jacaranda*, tricomas glandulares

ABSTRACT

Bignoniaceae is characterized by its diversity of secretory structures in vegetative and reproductive organs. The relevance of glandular trichomes in taxonomic, ecological and evolutionary studies is well established for some representatives of this family, except *Jacaranda* Juss. This genus stands out for the pharmacological and chemical potential of its species. The main objective of this work was to identify and classify the glandular trichomes present in the floral pieces and in the leaflets of six *Jacaranda* species, observing the morphology, function and distribution. Techniques were used in morphology, anatomy, surface micromorphology and plant histochemistry. Five morphotypes of glandular trichomes have been described: stipulated, capitulated, pelted, cupular and patelliform. The distribution of these morphotypes was not limited to organs and species. Terpenes, total lipids and total proteins were the main classes of metabolites present in glandular trichomes, regardless of their location. Stipulated trichome was observed on the petals of all species, except for *J. rufa*. Capitulate trichome occurred on the peduncle of *J. brasiliiana* and on the petal of *J. cuspidifolia*, *J. oxyphylla* and *J. rufa*. Peltated trichome occurred in the leaflet of all analyzed species. Cupular trichome occurred in the leaflets of *J. brasiliiana*, *J. cuspidifolia* and *J. decurrens*. The patelliform trichome was observed in the leaflets of *J. brasiliiana* and *J. oxyphylla* and in the sepals of *J. cuspidifolia*. The stipulated and capitulated morphotypes occurred jointly at the base of the stamens and on the staminode of all six species analyzed. The main classes of metabolites detected in *Jacaranda*'s glandular trichomes were: terpenes, lipids, alkaloids and proteins. The biological, chemical and pharmacological importance of these components is discussed.

Keywords: Bignoniaceae, *Jacaranda*, glandular trichomes

INTRODUÇÃO

Bignoniaceae Juss. é uma família constituída por sete tribos, com 840 espécies agrupadas em 82 gêneros distribuídas predominantemente em regiões neotropicais, inclui árvores, arbustos, lianas e raramente ervas (Judd et al. 1999; Olmstead et al. 2009; Rasgsac et al. 2019). Os representantes desta família apresentam uma notável diversidade de estruturas secretoras presentes em órgãos vegetativos e reprodutivos (Metcalf & Chalk 1979; Rivera 2000a), sendo os tricomas glandulares as estruturas mais estudadas (Seibert 1948; Mehra & Kulkarni 1989; Machado et al. 1995, 2006; Mauro et al. 2007; Guimarães et al. 2008; Martins et al. 2008; Zatta et al. 2009; Gonzalez 2013; Nogueira et al. 2013; Ugbabe et al. 2014).

Tricomas glandulares dos tipos peltado, estipitado e pateliforme/ cupular foram reportados em 21 gêneros de Bignoniaceae e desempenham papel importante na caracterização morfológica desta família, mesmo em plantas no estado vegetativo (Nogueira et al. 2013; Fróes et al. 2015). Embora as estruturas secretoras de Bignoniaceae, especialmente os tricomas glandulares, tenham sido objeto de estudos diversos (Subramanian & Inamdar 1989; Rivera 2000 a,b; Nogueira et al. 2012, 2013; Gonzáles 2013; Fróes et al. 2015), pouco se conhece sobre a morfologia e distribuição dessas estruturas na tribo Jacarandae.

Jacaranda Juss., um importante representante da tribo Jacarandae (Olmstead et al. 2009; Rasgsac et al. 2019), se destaca pelo potencial biológico, químico e etnofarmacológico de suas espécies (Gachet & Schühly 2009). Este gênero possui 47 espécies distribuídas desde o sul do México até o norte da Argentina (Gentry & Morawetz 1992; Lohmann & Ulloa 2019; Farias 2000; Silva-Castro 2017; Ragsac et al. 2019). É um grupo monofilético considerado grupo irmão das demais espécies de Bignoniaceae (Olmstead et al. 2009; Spangler & Olmstead 1999; Ragsac et al. 2019), e se distingue dos demais gêneros de Bignoniaceae por possuir estaminódio alongado e glandular, folhas compostas bipinadas, raramente simples, e frutos grandes, deiscentes, oblongos a circulares ou elípticos, achatados perpendicularmente ao septo (Gentry & Morawetz 1992). Os representantes de *Jacaranda* são encontrados em diferentes ecossistemas e com diversos hábitos, árvores de grande porte em florestas tropicais ou subarbustos xilopodiais, típicos do Cerrado (Sampaio 2010). As espécies deste gênero também apresentam uma variedade de usos, especialmente na farmacologia e etnobotânica (Gentry & Morawetz 1992; Gachet & Schuhly 2009).

Apesar do potencial farmacológico de *Jacaranda*, como amplamente ressaltado na revisão de Gachet & Schuhly (2009) e da importância dos tricomas glandulares como fonte de substâncias biologicamente ativas, estudos associando diversidade morfoanatômica com distribuição topológica e natureza química da secreção ainda são escassos em representantes de

Jacaranda. A literatura mostra que os estudos das estruturas secretoras em *Jacaranda* são geralmente restritos a um determinado órgão, ou a um tipo de estrutura de uma determinada espécie (Tabela I). Além disso, nota-se que tricomas glandulares morfológicamente semelhantes recebem nomes distintos pelos diferentes autores (Seibert 1948; Elias & Newcombe 1979; Vatimo 1980, 1984; Martins et al. 2008; Zatta et al. 2009; Santos 2013; Fróes et al. 2015; Torres et al. 2019), o que dificulta a realização de estudos comparativos dentro do gênero e da família Bignoniaceae.

O objetivo deste estudo foi inventariar os tricomas glandulares presentes nas peças florais e nos foliólulos de espécies de *Jacaranda*, bem como analisar suas características morfológicas e histoquímicas, buscando responder as seguintes perguntas: (1). Há diversidade secretoras no gênero? (2) O mesmo morfotipo de tricoma glandular pode ser encontrado nas peças florais e no foliólulo? (3) Quais as principais classes de metabólitos secretados por cada morfotipo de tricoma glandular? (4) Um mesmo morfotipo de tricoma glandular produz as mesmas classes de substâncias nos foliólulos e nas peças florais?

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e área de coleta

Amostras de folhas jovens e flores em antese foram coletadas de exemplares de *Jacaranda brasiliana*, *J. caroba*, *J. cuspidifolia*, *J. decurrens*, *J. oxyphylla* e *J. rufa* em perímetro urbano e em fragmentos de vegetação nativa/ antropizada no interior do estados de São Paulo e Minas Gerais, conforme descrito na Tabela I. As coletas foram realizadas em 2016, 2017 e 2018, sempre entre setembro e janeiro, período que corresponde à floração das espécies. Os materiais testemunhos foram depositados no Herbário Irina Delanova Gemtchujnicov (BOTU) do Instituto de Biotecnologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Botucatu, Brasil.

Análises anatômicas e histoquímicas

Para o estudo anatômico, região mediana das peças florais (pedúnculo, sépala, pétala, estames [base do filete], estaminódio) e foliólulo (pedicelo, limbo foliólular), foram fixados em FNT (formalina neutra tamponada) por 48 horas. Posteriormente, estocados em etanol 70% (Johansen 1940). A seguir, as amostras foram desidratadas em série etanólica e incluídas em 2-hidroxietil-metacrilato (Historesin, Leica, Heidelberg, Alemanha). Secções transversais e longitudinais (3 μ m de espessura) foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (RM2245, Leica Microsystems Inc., Deerfield, EUA), coradas com azul de toluidina 0,05% pH

4,4 (O'Brien et al. 1964) e montadas com resina acrílica (Entellan®, Microscopy, Karlsruhe, Alemanha).

Para os testes histoquímicos, as seções foram submetidas aos seguintes reagentes: Sudan IV (Johansen 1940) para lipídios totais; reagente de NADI (David & Carde 1964) para óleos essenciais e resinas; Lugol (Johansen 1940) para grãos-de-amido; cloreto férrico (Johansen 1940) para compostos fenólicos totais; reagente de Dragendorff (Svedsen & Verpoort 1983) para alcaloides, azul de bromofenol (Mazia et al. 1953) para proteínas totais. O controle foi conduzido simultaneamente para cada teste, de acordo com o método proposto pelos autores. As micrografias foram obtidas sob microscópio óptico (Olympus BX 41) com câmera digital acoplada (Olympus C7070) no Laboratório de Anatomia Vegetal da UNESP - Botucatu (LAPAV).

Micromorfologia de superfície

Para a caracterização da micromorfologia dos tricomas glandulares, as amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% (tampão fosfato 0,1M pH 7,3) por 48 horas. Após esse período o material foi lavado em água destilada e imerso em tetróxido de ósmio (1% em tampão fosfato (0,1 M pH 7,3). Em seguida, o material foi desidratado em série etanólica crescente e levado à secagem em aparelho de ponto crítico de CO₂ (Leica EM CPD 030) (Robards 1978). O material foi colado com prata coloidal (Sputter Coater SCD 050, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein) em porta amostras e metalizadas com ouro coloidal. As análises e a captura de imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 200 - FEI Company, a 20kv).

RESULTADOS

Nas espécies de *Jacaranda* estudadas foram observados cinco tipos de tricomas glandulares: tricoma peltado, tricoma capitado, tricoma estipitado, tricoma cupuliforme e tricoma pateliforme. A ocorrência desses morfotipos variou entre as espécies e órgãos analisados, sendo os tricomas peltado, capitado e estipitado comuns a todas as espécies, enquanto que os tipos cupuliforme e pateliforme foram de ocorrência mais restrita a algumas espécies (Tabela II). O tricoma peltado foi o morfotipo mais abundante e comum a todas as espécies analisadas; os demais morfotipos mostraram-se exclusivos em relação às peças florais (Tabela III). Em cada morfotipo, foram observadas variações quanto ao número e arranjo de células. A seguir é feita a descrição detalhada de cada tipo de tricoma glandular.

Tricoma glandular peltado

Os tricomas glandulares peltados são curto-pedunculados, constituídos por duas ou mais células basais, situados em depressões na epiderme; pedúnculo unisseriado, em forma de

trapézio, e cabeça secretora convexa ou arredondada revestida por cutícula delgada (Fig.1 b-c, Fig. 2 a-b). A cabeça secretora apresentou de 2 a 18 células caracterizadas por paredes delgadas, núcleo conspícuo e citoplasma denso. Cabeça secretora com maior número de células (18) foi observada nas sépalas de *J. oxyphylla*, enquanto cabeça secretora com duas células ocorreu nos foliólulos de *J. decurrens*.

O tricoma glandular peltado ocorreu nos foliólulos de todas as espécies analisadas (Tabela III; Fig. 1 a-c), exceto no pecíolo foliolular de *J. oxyphylla*, apresentando variações na morfologia, no tamanho e número de células constituintes, além da variação nas classes de metabólitos (Tabela IV). Em *J. rufa* o tricoma glandular peltado está presente também no pedúnculo floral, sépalas e pétalas, exceto nos estames e no estaminódio, assim como no pedicelo e na sépala em *J. oxyphylla* (Tabela III). Os testes histoquímicos (Tabela IV) evidenciaram lipídeos e óleo essencial no pedúnculo e cabeça secretora (Fig. 2b), além de grãos-de-amido (Fig. 2a) e compostos fenólicos em todas as espécies.

Tricoma glandular capitado

O tricoma glandular capitado (Fig. 1 d-e) é constituído por duas células basais, que estão no mesmo nível e têm a mesma morfologia que as demais células epidérmicas; pedúnculo curto unisseriado, podendo ser uni ou bicelular; célula colar estreita e cabeça secretora esférica formada por 8 a 12 células de paredes finas dispostas em paliçada e revestidas por cutícula delgada (Fig. 1 d-e; Fig. 2 c-d). Esse morfotipo de tricoma é restrito a flor, e ocorre no pedúnculo floral de *J. brasiliiana* e nas pétalas de *J. cuspidifolia*, *J. oxyphylla* e *J. rufa* (Tabela III). Os testes histoquímicos (Tabela IV) evidenciaram óleos essenciais na célula colar e grãos-de-amido nas células da cabeça secretora.

Tricoma glandular estipitado

O tricoma glandular estipitado (Fig.1e-f) é constituído por duas células basais, que estão no mesmo nível e possuem a mesma morfologia que as células epidérmicas; pedúnculo longo, unisseriado, multicelular, sendo que o tamanho das células do pedúnculo diminui em direção à sua porção distal; célula colar e cabeça secretora formada por 8 a 12 células de paredes finas revestidas por cutícula delgada.

Tricoma estipitado ocorreu nas pétalas de todas as espécies analisadas, exceto em *J. rufa* (Tabela III). Tricomas glandulares capitados e estipitados foram abundantes no estaminódio e na base dos quatros estames que compõem o androceu de todas as espécies analisadas (Tabela III). A histoquímica evidenciou resultados diferentes para esses tricomas (capitados e estipitados) quando encontrados em conjunto nos estames e estaminódio (Tabela IV). Como por exemplo, grãos-de-amido foram observados nos tricomas estipitado e capitado na base dos

estames exclusivamente em *J. cuspidifolia* e *J. decurrens* (Fig. 3b) e no estaminódio de *J. brasiliiana*. Compostos fenólicos foram detectados nos tricomas presentes nos estames e estaminódio de todas as espécies (Fig. 3 a) exceto em *J. caroba*. A presença de lipídeos (Fig. 3 c-d) e alcaloides (Fig. 3 e-f) foi observada nos tricomas capitados e estipitados presentes nos estames em todas as espécies, exceto *J. oxyphylla*, e no estaminódio de *J. caroba*. Óleo essencial foi detectado nos tricomas capitados e estipitados presentes no androceu de todas as espécies (Fig. 3g-h), exceto no estame de *J. oxyphylla* e no estaminódio de *J. decurrens*. Proteínas (Fig. 3 i- j) foram detectadas nos dois morfotipos de tricomas glandulares nos estames e estaminódio em todas as espécies, exceto nos estames de *J. caroba* (Tabela IV).

Tricoma glandular cupuliforme

Tricoma glandular cupuliforme é uma estrutura multicelular em forma de cálice (Fig. 1 g-h), constituída por uma célula basal, pedúnculo reduzido formado por 3 a 4 células cubóides, e cabeça secretora côncava revestida por epiderme unisseriada e cutícula delgada que delimita o espaço subcuticular, onde a secreção fica armazenada. A cabeça secretora é formada por células com morfologias distintas: um conjunto de células isodiamétricas menores, formando 6 a 7 camadas na região central da cabeça (na região de inserção do pedúnculo); partindo dessa região, em direção à periferia da glândula existe uma camada de células colunares que conferem a forma de cálice ao tricoma glandular cupuliforme. Este morfotipo de tricoma ocorreu no limbo foliolular de *J. brasiliiana*, *J. cuspidifolia* e *J. decurrens* (Tabela III). Óleos essenciais (Fig. 2 f) e lipídeos (Fig. 2 e) foram detectados na cabeça secretora do tricoma cupuliforme em todas as espécies analisadas (Tabela IV).

Tricoma glandular pateliforme

São estruturas multicelulares, subsésseis, de contorno circular e superfície plana (Fig. 1 i-j). Essa glândula é formada por quatro células basais similares às demais células epidérmicas, pedúnculo reduzido composto por duas células cubóides de paredes anticlinais espessas e região secretora formada por 40 a 60 células parenquimáticas justapostas e dispostas em 7 a 8 estratos celulares, cobertos por epiderme secretora unisseriada formada por células colunares dispostas em paliçada. A cutícula é espessa e se apresentou distendida, originando um espaço subcuticular onde a secreção fica armazenada. O tricoma glandular pateliforme ocorreu no limbo foliolular de *J. brasiliiana* e *J. oxyphylla* e nas sépalas de *J. cuspidifolia* (Tabela III). Os testes histoquímicos (Tabela IV) evidenciaram a presença de grãos-de amido e proteínas nas células da cabeça secretora (Fig. 2 h), e conteúdo lipídico e óleos essenciais na cutícula (Fig. 2 g).

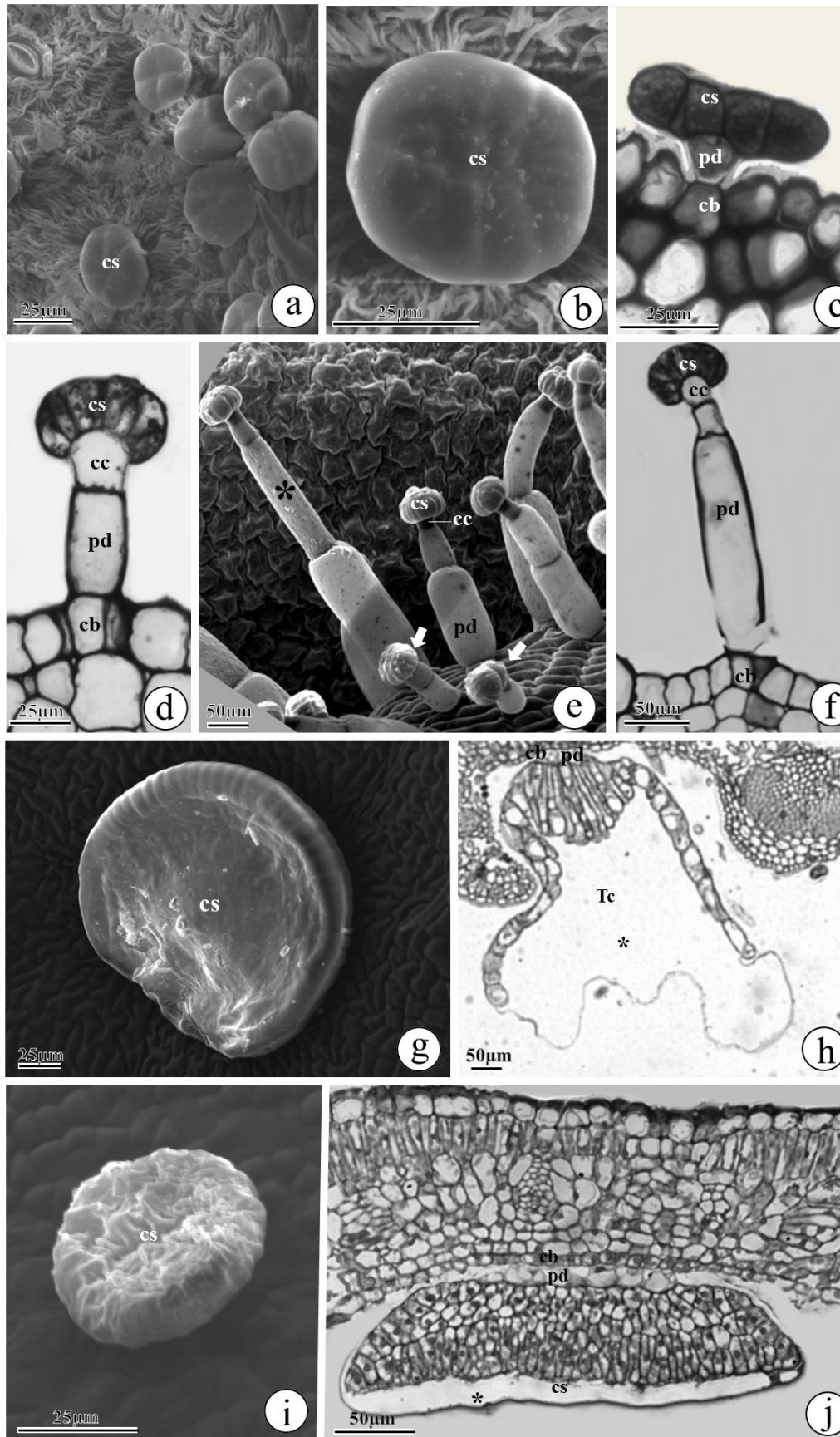


Figura 1: Tricomas glandulares de *Jacaranda* Juss. a-b, e, g, i: microscopia eletrônica de varredura; c-d, f, h, j: microscopia de luz. **a:** tricoma glandular peltado no pecíolo foliolular de *J. brasiliensis*. **b:** cabeça secretora do tricoma glandular peltado no limbo foliolular de *J. decurrens*. **c:** tricoma glandular peltado no pecíolo foliolular de *J. rufa*. **d:** tricoma glandular capitado no pedúnculo floral de *J. cuspidifolia*. **e:** tricomas glandular capitado (seta) e estipitado na base dos estames de *J. brasiliensis*. **f:** tricoma glandular estipitado na pétala de *J. cuspidifolia*. **g:** tricoma glandular cupuliforme no foliólulo de *J. cuspidifolia*. **h:** tricoma glandular cupuliforme (seccionado longitudinalmente) no foliólulo de *J. decurrens*. **i:** tricoma glandular pateliforme no foliólulo de *J. brasiliensis*. **j:** tricoma glandular pateliforme (em secção longitudinal) na sépala de *J. brasiliensis*. **Legenda:** cb: célula basal; pd: pedúnculo; cs: cabeça secretora; tc: tricoma cupuliforme; seta: tricoma capitado; asterisco: corpo do tricoma glandular estipitado.

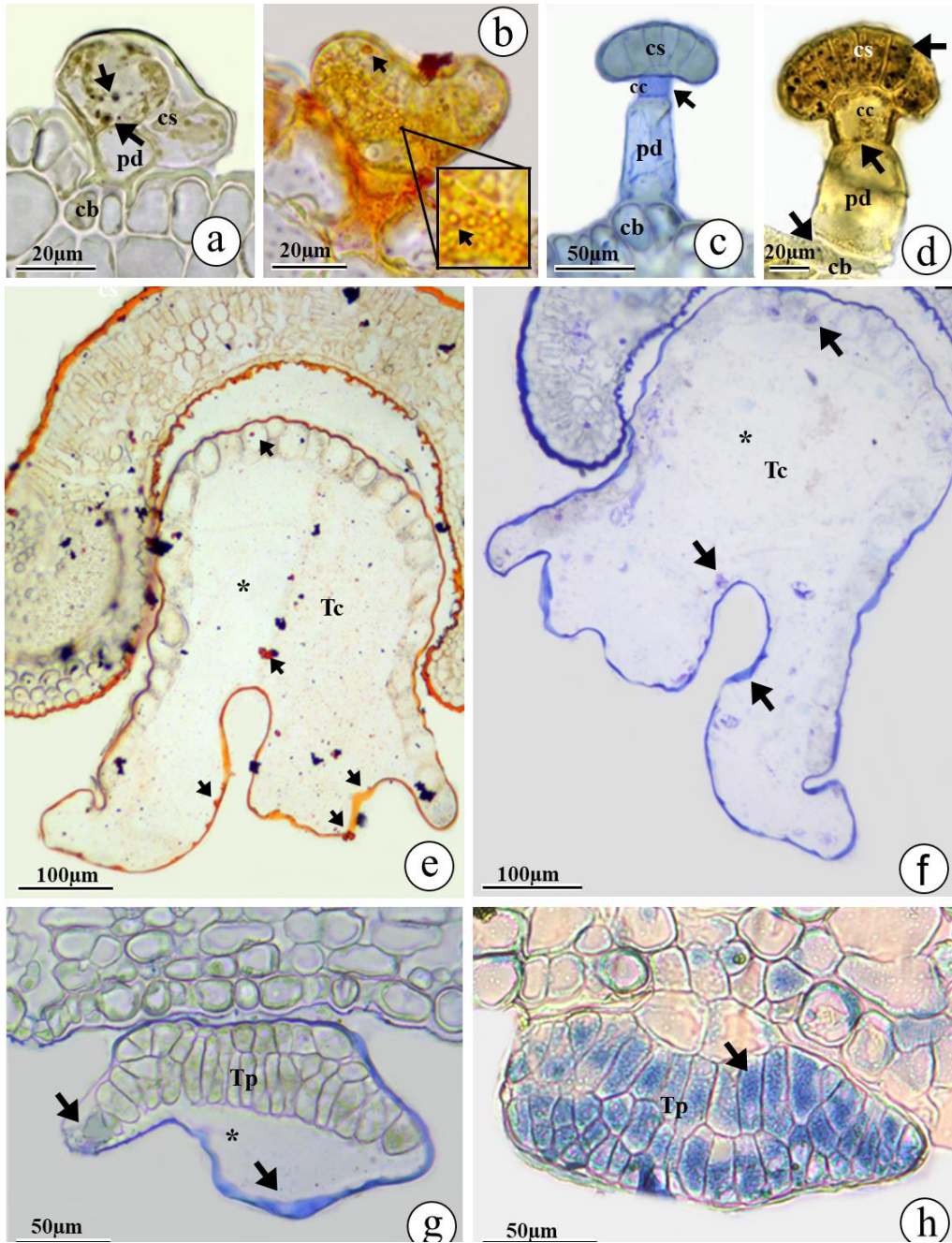


Figura 2: Testes histoquímicos em tricomas glandulares presentes nas peças florais e no foliólulo de *Jacaranda* Juss. **a: grãos-de-amido** (seta), tricoma glandular peltado no pecíolo foliolular de *J. brasiliiana*. **b: lipídeos** (seta), tricoma glandular peltado no limbo foliolular de *J. decurrens*. **c: Terpeno - óleo essencial** (seta), tricoma glandular capitado na pétala de *J. oxyphylla*. **d: grãos de amido** (seta), tricoma glandular capitado no pedúnculo floral de *J. rufa*. **e: lipídeos** (seta) tricoma glandular cupuliforme no limbo foliolular de *J. decurrens*. **f: terpeno - óleo essencial** (seta), tricoma glandular cupuliforme no limbo foliolular de *J. decurrens*. **g: óleo essencial** (seta), tricoma glandular pateliforme nos foliólulos de *J. oxyphylla*. **h: proteína** (seta), tricoma glandular pateliforme nos foliólulos de *J. brasiliiana*. **Legenda:** **cb:** célula basal; **cc:** célula colar **cs:** cabeça secretora; **pd:** pedúnculo; **tc:** tricoma glandular cupuliforme; **tp:** tricoma glandular pateliforme; asterisco: espaço subcuticular.

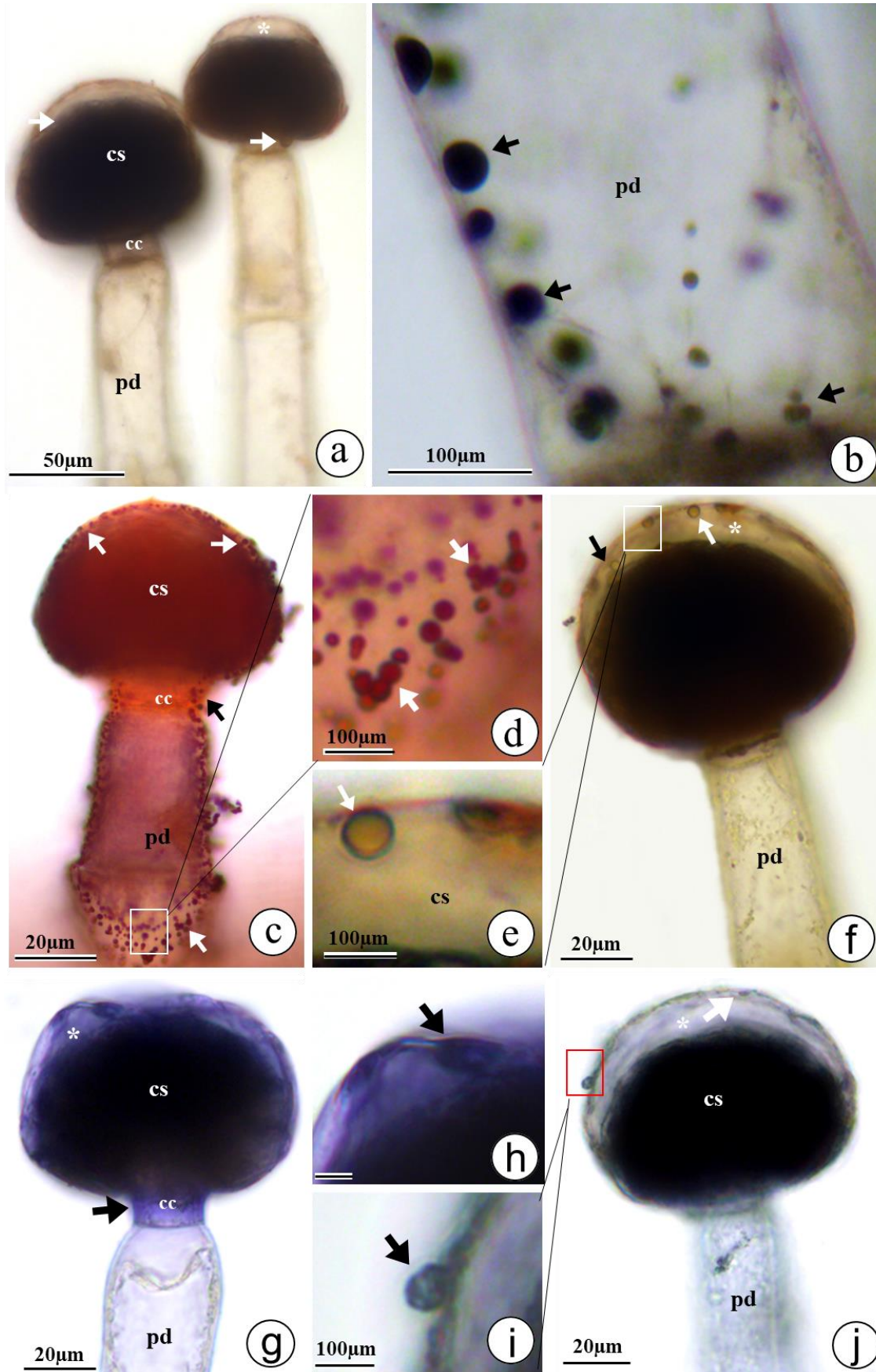


Figura 3: Testes histoquímicos em tricoma glandular estipitado nos estames e estaminódio de *Jacaranda* Juss. **a:** compostos fenólicos, estaminódio de *J. brasiliiana*. **b:** grãos-de-amido, estaminódio de *J. decurrens*. **c -d:** lipídeos, estaminódio de *J. decurrens*. **e-f:** alcaloides, estaminódio de *J. caroba*. **g-h:** óleo essencial, estaminódio de *J. oxyphylla*. **i-j:** proteínas, estaminódio de *J. rufa*. Legenda: cs: célula basal; pd: pedúnculo; cs: cabeça secretora; asterisco: espaço subcuticular.

Tabela I: Dados dos espécimes coletados de *Jacaranda* Juss. (Bignoniaceae)

	Local de Coleta	Coordenadas	Ambiente
<i>Jacaranda brasiliana</i>	Avenida Visconde de Rio Claro – Mercado Municipal - Rio Claro/SP	22°24'34.4"S 47°33'57.1"W	Urbano/Cultivada
	– Rod. Prof. João Hipólito Martins, km 2 - Distrito Industrial I - Botucatu/SP	23°03'15.8"S 048°31'30.8"W	Fragmento de ambiente nativo
<i>Jacaranda caroba</i>	– Rod. Prof. João Hipólito Martins, km 1,5 - Distrito Industrial I - Botucatu/SP	23°03'18"S 048°31'31"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Rod. Prof. João Hipólito Martins, km 8 - Distrito Industrial I - Botucatu/SP	23°00'45.1"S 48°30'21.6"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Av. 1 Jf, 748 - Jardim Floridiana, Rio Claro - SP	22°22'46.6"S 47°33'31.2"W	Urbano/Cultivada
<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	– R. Acácio Castanheira - Jardim Sao Jose, Botucatu - SP (UNESP)	22°53'36.7"S 48°29'47.6"W	Urbano/Cultivada
	– Av. 1 Jf, 856-928 - Jardim Floridiana, Rio Claro - SP, 13505-030	22°22'41.1"S 47°33'30.1"W	Urbano/Cultivada
	– Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil	22°48'77.6"S 049°12'0.62"W	Fragmento de ambiente nativo
<i>Jacaranda decurrens</i>	– Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil	22°48'78.5"S 049°12'0.60"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil	22°48'78.2"S 049°12'0.58"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Serra do Cipó, Santana do Riacho (Minas Gerais, Brasil)	19°10'08.0"S 43°42'51.8"W	Fragmento de ambiente nativo
<i>Jacaranda oxyphylla</i>	– Serra do Cipó, Santana do Riacho (Minas Gerais, Brasil)	19°10'08.0"S 43°42'51.8"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Serra do Cipó, Santana do Riacho (Minas Gerais, Brasil)	19°10'08.0"S 43°42'51.8"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil	22°48'78.1"S 049°12'0.60"W	Fragmento de ambiente nativo
<i>Jacaranda rufa</i>	– Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil	22°48'78.3"S 049°12'0.59"W	Fragmento de ambiente nativo
	– Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), Águas de Santa Bárbara, São Paulo, Brasil	22°48'76.1"S 049°12'0.68"W	Fragmento de ambiente nativo

Tabela II: Presença de tricomas glandulares em *espécies de Jacaranda Juss.*

Morfotipo	Espécies de <i>Jacaranda Juss.</i>					
	<i>Jacaranda brasiliiana</i>	<i>Jacaranda caroba</i>	<i>Jacaranda cuspidifolia</i>	<i>Jacaranda decurrens</i>	<i>Jacaranda oryphylla</i>	<i>Jacaranda rufa</i> Silva
Peltado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Capitado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Estipitado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Cupuliforme	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
Pateliforme	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente

Tabela III: Distribuição dos morfotipos de tricomas glandulares nos foliólulos e nas peças florais de *Jacaranda* Juss. [Pd: pedúnculo; Sp: sépalas; Pt: pétalas; Est: estames; Estm: estaminódio; Pdc: pecíolo foliolular; Fl: limbo]

Tipo	Espécie	Localização						
		Flor					Foliólulo	
		Pd	Sp	Pt	Est	Estm	Pdc	Fl
Peltado	<i>J. brasiliiana</i>						x	x
	<i>J. cuspidifolia</i>						x	x
	<i>J. caroba</i>						x	x
	<i>J. decurrens</i>						x	x
	<i>J. oxyphylla</i>	x	x					x
	<i>J. rufa</i>	x	x	x			x	x
Capitado	<i>J. brasiliiana</i>	x			x	x		
	<i>J. cuspidifolia</i>			x	x	x		
	<i>J. caroba</i>				x	x		
	<i>J. decurrens</i>				x	x		
	<i>J. oxyphylla</i>			x	x	x		
	<i>J. rufa</i>			x	x	x		
Estipitado	<i>J. brasiliiana</i>	x	x	x	x	x		
	<i>J. cuspidifolia</i>		x	x	x	x		
	<i>J. caroba</i>			x	x	x		
	<i>J. decurrens</i>	x	x	x	x	x		
	<i>J. oxyphylla</i>			x	x	x		
	<i>J. rufa</i>		x		x	x		
Cupuliforme	<i>J. brasiliiana</i>							x
	<i>J. cuspidifolia</i>							x
	<i>J. caroba</i>							
	<i>J. decurrens</i>							x
	<i>J. oxyphylla</i>							
	<i>J. rufa</i>							
Pateliforme	<i>J. brasiliiana</i>							x
	<i>J. cuspidifolia</i>		x					
	<i>J. caroba</i>							
	<i>J. decurrens</i>							
	<i>J. oxyphylla</i>							x
	<i>J. rufa</i>							

Tabela IV: Histoquímica dos morfotipos dos tricomas glandulares ocorrentes em Jacaranda Juss. **Pd:** pedúnculo; **Sp:** sépala; **Pt:** pétala; **Est:** estames; **Estm:** estaminódio; **Pdc:** pecíolo foliolar; **Fl:** foliólulo

	Lugol	Cloreto férico	Sudan IV	Dragendorff	NADI	Azul de bromofenol
Peltado						
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. cuspidifolia</i> , <i>J. decurrens</i> <i>J. oxyphylla</i> , <i>J. rufa</i> (Pdc, Fl)	+	+	+	-	+	-
<i>J. caroba</i> (Fl), <i>J. oxyphylla</i> , <i>J. rufa</i> (Cc), <i>J. rufa</i> (Cl)	+	+	+	-	+	-
<i>J. caroba</i> , <i>J. rufa</i> (Pdc)	+	+	+	+	-	-
Capitado						
<i>J. brasiliiana</i> (Pd)	-	-	+	-	+	-
<i>J. cuspidifolia</i> , <i>J. oxyphylla</i> e <i>J. rufa</i> (Cl)	+	-	-	-	+	-
Estipitado						
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. cuspidifolia</i> (Cc); <i>J. cuspidifolia</i> (Cl); <i>J. brasiliiana</i> , <i>J. decurrens</i> (Pd)	-	-	+	-	+	-
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. caroba</i> , <i>J. cuspidifolia</i> (Cl)	-	+	+	+	+	-
<i>J. brasiliiana</i> (Pd)	-	-	+	-	+	-
<i>J. cuspidifolia</i> (Cl)	-	+	+	+	+	-
<i>J. cuspidifolia</i> (Cl)	-	-	+	-	+	-
<i>J. caroba</i> (Cl)	-	+	+	+	+	-
<i>J. decurrens</i> (Pd)	-	-	+	-	+	-
<i>J. decurrens</i> , <i>J. oxyphylla</i> (Cc, Cl)	+	-	+	-	+	-
Cupular						
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. cuspidifolia</i> , <i>J. decurrens</i> (Fl)	-	-	+	-	+	+
Pateliforme						
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. oxyphylla</i> (Fl)	+	-	+	-	+	+
<i>J. cuspidifolia</i> (Cc)	+	-	-	-	+	-
Capitado/estipitado - Estames						
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. rufa</i>	-	+	+	+	+	+
<i>J. caroba</i>	-	-	+	-	+	-
<i>J. cuspidifolia</i> , <i>J. decurrens</i>	+	+	+	+	+	+
<i>J. oxyphylla</i>	-	+	-	-	-	+
Capitado/estipitado - Estaminódio						
<i>J. brasiliiana</i> , <i>J. cuspidifolia</i>	+	+	+	+	+	+
<i>J. caroba</i>	-	-	-	+	+	+
<i>J. decurrens</i>	-	+	+	+	-	+
<i>J. oxyphylla</i>	-	+	+	-	+	+
<i>J. rufa</i>	-	+	+	+	+	+

DISCUSSÃO

Este estudo revelou cinco tipos de tricomas glandulares - tricoma capitado, estipitado, peltado, cupuliforme e pateliforme em espécies de *Jacaranda* e contribui com novas informações sobre a sua distribuição no corpo das plantas, estrutura anatômica e características histoquímicas. Estes cinco morfotipos de tricomas glandulares são repetidamente reportados em diferentes representantes de Bignoniaceae, incluindo *Jacaranda* (Seibert 1948; Elias & Newcombe 1979; Vatimo 1980, 1984; Martins et al. 2008; Zatta et al. 2009; Santos 2013; Fróes et al. 2015; Torres et al. 2019). Tricomas glandulares peltados foram encontrados em todas as espécies de *Jacaranda* aqui estudadas, concordando com estudos anteriores que reportaram distribuição homogênea deste morfotipo em representantes de Bignoniaceae (Seibert 1948; Ogundipe & Wujek 2004; Nogueira et al. 2013; Fróes et al. 2015). Contudo foram verificadas variações na distribuição e histoquímica dos tricomas glandulares peltados em órgãos foliares e florais das espécies estudadas, e os achados deste trabalho podem constituir dados de valor taxonômico e ecológico. Por exemplo, tricomas glandulares peltados ocorreram nos foliólulos e na maioria das peças florais em todas as espécies analisadas, com exceção dos estames e estaminódios. As variações detectadas nas características histoquímicas no mesmo morfotipo de tricoma glandular, dependendo da sua localização no corpo da planta, podem contribuir com estudos de interação planta-animal.

No presente estudo, o tricoma glandular com pedúnculo longo foi considerado estipitado, enquanto o tricoma glandular curto foi considerado capitado. O tricoma glandular estipitado é considerado por alguns autores como sendo um subtipo do tricoma glandular capitado, apresentando como diferencial apenas o pedúnculo longo, composto por um maior número de células (Metcalf & Chalk 1950; Guimarães et al. 2008; Fróes et al. 2015). Os resultados das análises histoquímicas demonstraram diferenças nas principais classes de compostos químicos produzidos por ambos os morfotipos, dependendo da região do corpo da planta. Ou seja, o tricoma glandular estipitado presente nas pétalas de *J. cuspidifolia* e *J. oxyphylla* apresentou compostos fenólicos e alcaloides nas células da cabeça secretora, o que não foi observado nos tricomas glandulares capitados do mesmo verticilo floral. Porém, quando ambos os morfotipos foram encontrados concomitantemente no estaminódio e na base dos estames, não houve diferença de reação histoquímica entre eles. O tricomas capitados e estipitados da base dos estames e estaminódios apresentaram predominantemente, na maioria das espécies, material lipídico, terpenos e compostos fenólicos, corroborando com os dados já apresentados para *J. oxyphylla* (Guimarães et al. 2008) e *J. racemosa* (Bittencourt & Semir 2006). Guimarães et al. (2008) determinaram três classes de tricomas glandulares capitados no estaminódio de *J.*

oxyphylla - curtos, intermediários e longos e consideraram que o arranjo espacial dos mesmos sobre o filamento do estaminódio possui uma importante função estrutural nas interações, porque causa redução do espaço interno do tubo floral favorecendo o contato de abelhas de pequeno porte com o estigma e as anteras.

Os tricomas glandulares dos tipos cupuliforme e pateliforme são caracterizados por apresentarem uma cabeça secretora multicelular conspícua, sendo considerados nectários extraflorais por diversos autores (Rivera 2000b; Gama et al. 2013; Nogueira et al. 2013; González 2013; Fróes et al. 2015), estando presentes em cerca de 90% dos gêneros de Bignoniaceae (Elias & Gelband 1976; Rivera 2000 a, b; Lohmann et al. 2008; Martins et al. 2008; González 2013; Nogueira et al. 2013). Embora a ocorrência de açúcares não tenha sido investigada no presente trabalho, a presença de grãos-de amido nos tricomas pateliformes é um indicativo da função nectarífera desses tricomas, uma vez que o amido é hidrolisado e utilizado na produção do néctar (Pacini et al. 2003; Nepi 2007). A presença de óleos essenciais nesses tricomas pode ser associada com atração e proteção (Knaak & Fiuza 2010; Silva & Farias 2014), contribuindo para o sucesso reprodutivo e às estratégias de defesa anti-herbivoria dessas plantas (Guimarães et al. 2018).

Os dados histoquímicos dos tricomas glandulares aqui estudados enfatizam a importância do gênero *Jacaranda* sob o ponto de vista biológico, químico e etnofarmacológico, conforme ressaltado em revisão de Gachet & Schühly (2009). De fato, a importância das principais classes de substâncias detectadas nos tricomas glandulares (lipídeos, terpenos, compostos fenólicos e alcaloides) nas diversas atividades biológicas incluindo relações de atração de polinizadores e defesa contra o ataque microbiano e de insetos tem sido amplamente ressaltada na literatura (Harborne 2000; Mello & Silva-Filho, 2002; Gershenzon 2002; Heil & McKey 2003; Teixeira 2016). Os terpenos mediam interações entre plantas e herbívoros, as quais são importantes, uma vez que vinculam cadeias alimentares em ecossistemas complexos, além da atração de animais disseminadores de sementes, assim como a localização de plantas hospedeiras por insetos (Teixeira 2016). Os compostos voláteis constituem cerca de 1% dos metabólitos secundários das plantas e são principalmente representados por terpenoides, fenilpropanoides /benzenoides, derivados de ácidos graxos e derivados de aminoácidos (Taiz & Zieger 2013). Nos últimos anos tem-se acumulado evidências moleculares e ecológicas sobre o papel dos voláteis e fenólicos na atração, alimentação e crescimento de insetos fitófagos e nas interações tritróficas (planta - herbívoro - inimigo natural) (Baldwin & Schultz 1983; Baldwin et al. 2002; Teixeira 2016). Alcaloides são compostos nitrogenados de natureza química complexa, e sua concentração na planta varia de acordo com o estágio de desenvolvimento e condições de temperatura, luminosidade, seca e danos mecânicos entre outros fatores

(Roshchina & Roshchina 1993). Diversas funções ecofisiológicas são atribuídas aos alcaloides, sendo a proteção contra ataques de predadores uma delas (Harborne 2000). As proteínas podem apresentar propriedades entomotóxicas e, neste caso, também estariam relacionadas com a defesa da planta (Mello & Silva-Filho 2002).

Representantes de *Jacaranda* apresentam atividades farmacológicas comprovadas, incluindo anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antiparasitária, antiprotozoária, antirreumática, antissifilítica, antisséptica (Gachet & Schühly 2009). Estudos têm investigado a atividade biológica de extratos de várias espécies de *Jacaranda* usadas no tratamento de doenças específicas, sendo as propriedades curativas associadas com a atividade de ácidos graxos, compostos fenólicos, alcaloides e terpenos diversos presentes nos extratos dessas plantas (Gachet & Schühly 2009). Compostos fenólicos apresentam, dentre outras, ações anti-inflamatória, antialérgica, antitumoral e estão diretamente ligados com atividade antioxidativa (Roshchina & Roshchina 1993; Taiz & Zieger 2013). Os alcaloides são substâncias conhecidas por suas propriedades alucinógenas e atuam principalmente no sistema nervoso central (Furr & Mahlberg 1981). Os terpenos, por sua vez, apresentam atividades antisséptica, antiinflamatória e cicatrizante, dentre outras (Taiz & Zeiger 2013).

Terpenos constituem uma grande e complexa classe de compostos secundários que desempenham papéis fundamentais nas interações planta-animal e planta-planta. Podem atuar como impedimentos alimentares, feromônios, agentes de defesa e aleloquímicos (Harborne 1997). Duas subclasses, monoterpenos e sesquiterpenos, quando presentes nas flores tem sido relacionada à atração de polinizadores, principalmente abelhas, mariposas e borboletas, que podem, em alguns casos, ser específicos de uma espécie (Harborne 1997; Pichersky & Gershenzon, 2002). Estudos com *Jacaranda oxyphylla* Cham. identificaram o cineol monoterpeno, em tricomas glandulares capitados do estaminódio, e estão envolvidos na composição de fragrâncias altamente voláteis associadas à localização de flores dessas plantas e polinizadores oportunistas (Guimarães et al. 2008).

Neste contexto, enfatizamos a importância do presente estudo sobre a morfologia, anatomia e histoquímica os tricomas glandulares de *Jacaranda*, uma vez que tais estruturas secretoras comprovadamente são sítios de produção de compostos com atividades biológicas diversas. Estudos citológicos dos cinco morfotipos de tricomas glandulares estão em andamento visando a aumentar o nosso conhecimento sobre o tempo de vida, funcionamento de cada glândula e mecanismos de secreção. Tais informações, quando combinadas com dados de genética, ecologia, taxonomia entre outros, poderão contribuir com estudos futuros sobre farmacologia, biologia reprodutiva e taxonomia de *Jacaranda*. Um maior número de espécies deve ser incluído neste tipo de pesquisa, a fim de contribuir com informações que nos permitam

entender a evolução dos tricomas no gênero ou tribo. Ademais, o conhecimento aprofundado dos tricomas glandulares de *Jacaranda* traz a possibilidade de desenvolver novas tecnologias para o uso sustentado de suas espécies.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baldwin & Schultz (1983) Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage: evidence for communication between plants. *Science* 221:277-279.
- Baldwin IT, Kessler A, Halitschke R. (2002) Volatile signaling in plant–plant–herbivore interactions: what is real? *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 351-354.
- Bittencourt Jr NS, Semir J (2006) Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). *Aust. J. Bot.* 54: 315-32.
- David R, Carde JP (1964). Coloration différentielle des pseudophylles de Pin maritime au moyen du réactif de Nadi. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 25: 1338-1340.
- Elias TS, Newcombe LF (1979) Foliar nectaries and glandular trichomes in *Catalpa* (Bignoniaceae). *Acta Bot. Sin.* 21: 215-228.
- Farias R (2000). Fitogeografia dos gêneros *Jacaranda* Juss. e *Tabebuia* Gomes ex DC. no bioma Cerrado. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília-DF, Brasília, Brasil.
- Fróes, FFPDC, Gama, TDSS, Feio, AC e Demarco, D. (2015). Estrutura e distribuição de tricomas glandulares em três espécies de Bignoniaceae. *Acta Amazonica* 45.4, 347-354.
- Furr M, Mahlberg PG 1981. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *J. Nat. Prod.* 44: 153-159.
- Gachet MS, Schühly W (2009) *Jacaranda* - an ethnopharmacological and phytochemical review. *J. Ethnopharmacol.* 121:14-27.
- Gama, T.S.S.; Demarco, D.; Aguiar-Dias, A.C.A. 2013. Ontogeny, histochemistry, and structure of the glandular trichomes in *Bignonia aequinoctialis* (Bignoniaceae). *Braz. J. Bot.* 36: 291-297.
- Gentry A, Morawetz W (1992). *Jacaranda*. In Gentry, A. Bignoniaceae Part II – Tribo Tecomeae. *Flora Neotrop.* 25.2: 51-105.
- Gershenzon J (2002). Secondary metabolites and plant defense. In: L. Taiz, E. Zeiger (Eds.), *Plant Physiol.* (3rd) pp.283-308.
- Gonzalez AM (2013) Indumento, nectarios extraflorales y anatomía foliar en Bignoniáceas de la Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 48: 221-245.
- Guimarães E, Di Stasi LC, Maimoni-Rodella RCS (2008) Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. *Ann. Bot.* 102: 699-711.

- Guimarães E, Tunes P, Almeida Junior LD, Di Stasi LC, Dötter S, Machado SR (2018) Nectar replaced by volatile secretion: a potential new role for nectarless flowers in a bee-pollinated plant species. *Front. Plant Sci.* 9:1243.
- Harborne JB (2000). Plant secondary metabolism. In: Crawley MJ. *Plant ecology*. Oxford. Blackwell Science, pp.133-155.
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. New York. McGraw-Hill.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF (1999) *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates (Sunderland) 25: 215-216.
- Heil, M.; McKey, D. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34: 425-553.
- Knaak N, Fiuza LM (2010). Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotrop. Biol. Conserv.* 5:120-132.
- Lohmann LG, Alcântara SF, Silva FG (2008) Bignoniaceae in Flora brasiliensis revisitada. <http://flora.cria.org.br>, acessado 10 em outubro 2019.
- Lohmann LG, Ulloa C (2019) Bignoniaceae em: iPlants Prototype Checklist. Disponível em: <http://www.iplants.org>, acessado em 03 de outubro de 2019
- Machado SR, Gregório EA, Guerreiro SMC (1995). Ultrastructural aspects of the peltate glandular trichomes of the gynoecium in *Zeyheria digitalis* (Vell.) Hoehne (Bignoniaceae). *Rev. Bras. Bot.* 18: 197-205.
- Machado SR, Gregório EA, Guimarães E (2005). Ovary peltate trichomes of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae): Developmental ultrastructure and secretion in relation to function. *Ann. Bot.* 97: 357-369.
- Martins MBG, Castro AA, Cavalheiro AJ (2008) Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. *Rev. Bras. Farmacogn.* 18: 600-607.
- Mauro C, Pereira MAS, Silva CDP, Missima J, Ohnuki T, Rinaldi RB (2007) Estudo anatômico das espécies de cerrado *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza (catuaba), *Zeyheria montana* Mart.(bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba)-Bignoniaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.* 17: 262-265.
- Mazia D, Brewer PA, Alfert M (1953) The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biol. Bull.* 104:57-67.
- Mehra KR, Kulkarni, AR. (1989) Floral trichomes in some members of Bignoniaceae. *Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.)* 99:97-105.
- Mello MO, Silva-Filho MC (2002). Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Braz. J. Plant Physiol.* 14: 71-81.

- Metcalfe CR, CHALK L (1979) Anatomy of the dicotyledons; systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. 2nd ed., v.1, Clarendon Press, Oxford.
- Metcalfe CR, Chalk L (1950) Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. 1 ed., 2 v., Clarendon Press, Oxford.
- Nepi M. (2007). Nectary structure and ultrastructure, in Nectaries and Nectar, eds S. W. Nicolson, E. Pacini, and M. Nepi (Dordrecht: Springer), 129–166.
- Nogueira A, Guimarães E, Machado SR, Lohmann LG (2012). Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savanna? *Plant Ecol.* 213: 289-301.
- Nogueira A, Ottra, JHLE, Guimarães E, Machado SR, Lohmann LG (2013) Trichome structure and evolution in Neotropical lianas. *Ann. Bot.* 112:1331-1350.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373.
- Ogundipe, O.T.; Wujek, D.E. 2004. Foliar anatomy on twelve genera of Bignoniaceae (Lamiales). *Acta Bot. Hung.* 46: 337-361.
- Olmstead RG, Zjhra ML, Lohmann LG, Grose SO, Eckert AJ (2009) A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *Am. J. Bot.* 96:1731-1743.
- Pacini E, Nepi M, Vesprini LJ (2003) Nectar biodiversity: a short review. *Plant. Syst. Evol.* 238: 7-21.
- Ragsac AC, Farias-Singer R, Freitas LB, Lohmann LG, Olmstead RG (2019) Phylogeny of the Neotropical tribe Jacarandae (Bignoniaceae). *Am. J. Bot.* 106: 1589-1601.
- Rivera GL (2000a) Nectarios extranupciales florales em espécies de Bignoniaceae de Argentina. *Darwiniana* 16:125-126.
- Rivera, GL (2000b). Nuptial nectary structure of Bignoniaceae of Argentina. *Darwiniana* 38: 227-239.
- Robards, A.W. 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: Hall, J.L. *Electron microscopy and citochemistry of plant cells*. Elsevier, New York. Pp. 343-344.
- Roshchina, VV, Roshchina VD (1993). *The excretory function of higher plants*. Springer-Verlag, New York.
- Sampaio DS (2010). *Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de auto-incompatibilidade*. Tese. Universidade Federal de Uberlândia.
- Santos LLD, Santos LLD, Alves ASA, Oliveira LDSDD, Sales MFD (2013). Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional Vale do Catimbau, Pernambuco. *Rodriguésia* 64:479-494.

- Seibert, R.J. 1948. The use of glands in a taxonomy consideration of the family Bignoniaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 35: 123-137.
- Silva RM, Faria MT (2014) Caracterização etnobotânica e histoquímica de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do bairro Carrilho, Goianésia (GO). *Encicl. Biosfera* 10.19: 2807.
- Silva-Castro MM (2017). A new species of *Jacaranda* (Bignoniaceae) from the Chapada Diamantina (Bahia, Brazil). *Phytotaxa* 295: 287-291.
- Spangler R, Olmstead R (1999). Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcL* and *ndhF*. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 86: 33-46.
- Subramanian RB, Inamdar JA (1989) Structure, secretion and biology of nectaries in *Tecomaria capensis* thunb (Bignoniaceae). *Phyton* 39: 69-74.
- Svedsen AB, Verpoort R (1983) Chromatography of alkaloids. Elsevier Scientific Publish Company, New York.
- Taiz L, Zeiger E (2013) Fisiologia vegetal. (5^a.ed), Porto Alegre: Artmed.
- Teixeira J P F (2016) Comunicação entre plantas como estratégia de defesa. Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Centro de Recursos Genéticos Vegetais, Campinas (SP), Technical Report: September 2016.
- Torres VS (2019) *Jacaranda puberula* Cham., *Jacaranda micrantha* Cham. e *Jacaranda macrantha* Cham. no contexto urbano do Município de Porto Alegre, RS. *UNISANTA Bioscience* 8: 364-375.
- Ugbabe GE, Ayodele AE, Kalpana SJ, Okogun JI (2014) Ultrastructure of the leaf surfaces of the family Bignoniaceae Juss. in Nigeria. *Glob. J. Bot. Sci.* 2:37-44.
- Vattimo I (1977) *Jacaranda paraensis* (Huber) Vattimo ST AT. NOV. (Bignoniaceae - Seção *Monolobos* P. DC. *Rodriguésia* 29: 285-297.
- Vattimo I (1980) Espécies críticas de *Jacaranda* Jussieu (Bignoniaceae - Seção *Monolobos* P. DC.): *Jacaranda copaia* (Aublet) D. Don, *Jacaranda amazonensis* Vattimo e *Jacaranda paraensis* (Huber) Vattimo. *Rodriguésia* 32: 47-63.
- Vattimo I (1984) Quatro novas espécies do gênero *Jacaranda* Jussieu (Bignoniaceae). *Rodriguésia* 36: 79-84.
- Zatta DT, Oliveira FNM, Bara MTF, Rezende MH (2009). Morfoanatomia foliar e parâmetros de qualidade da *Jacaranda decurrens* (Bignoniaceae). *Lat. Am. J. Pharm.* 28:358-365.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho, concluímos que:

- (1) Vários caracteres morfológicos e anatômicos foliares, como por exemplo, o tamanho, a forma, tipo da margem e textura dos foliólulos, assim como a estrutura da ala e do bordo, bem como o tipo de aparelho estomático, morfologia de tricomas, ornamentação cuticular, presença e arranjo de fibras do esclerênquima, presença de colênquima na nervura principal, tipo de mesofilo e forma do sistema vascular da nervura mediana, quando utilizados em conjunto, podem contribuir com a diagnose de algumas espécies de *Jacaranda*.
- (2) Características micromorfológicas e anatômicas do limbo foliolular foram responsáveis por agrupar as 24 espécies estudadas em cinco grupos, sendo dois com maior representatividade (onze e oito espécies), com distribuição geográfica e métricas muito próximas em relação ao espessamento de parede, cutícula e parênquima paliçádico; um grupo menor, com três espécies onde a principal métrica responsável pelo agrupamento foi a cutícula na face abaxial ser mais espessa e, por fim, dois grupos compostos por espécies isoladas, que se distanciaram dos demais, um por maior espessamento da cutícula em ambas as faces e o outro pelo espessamento da cutícula da face abaxial e maior espessura do parênquima paliçádico.
- (3) O morfotipo peltado ocorre no folíolo em todas as espécies, além da flor em *J. oxyphylla* e *J. rufa*. O morfotipo capitado e estipitado é restrito a flor. O morfotipo cupuliforme é restrito ao limbo foliolular. O morfotipo pateliforme ocorre em ambas as partes, porém em espécies diferentes.
- (4) O mesmo morfotipo de tricoma glandular pode conter as mesmas classes de substâncias, independente do órgão e da espécie de *Jacaranda*.
- (5) A presença de lipídeos neutros, compostos fenólicos, alcaloides e terpenoides diversos nos tricomas glandulares ressalta o potencial biológico, ecológico e farmacológico dos representantes de *Jacaranda*.