

UMA ESTRUTURA PECULIAR EM GOTÍCULAS DE LIPÍDEOS, NAS CÉLULAS FOLIARES DE *COFFEA* (1). E. W. KITAJIMA e C. C. LANDIN (2). Gotículas refringentes, de dimensões variadas, são observadas nas células do tecido foliar de numerosas rubiáceas. Contudo, pouco ou quase nenhuma referência a elas existe na literatura (3,4). Esta nota relata os resultados de alguns estudos, indicando a sua natureza lipídica, e a observação de estruturas internas, peculiares, nestas gotículas, em algumas espécies de *Coffea*, ao microscópio electrónico.

Materiais e métodos — As seguintes plantas, rubiáceas, foram estudadas: *Cinchona calisaya* Weddeel var. *Josephiana*, *C. succirubra* Pavon ex. Klotezch, *C. Ledgeriana* Moens, *Coffea arabica* L. (“Mundo Novo”, “Bourbon vermelho”, “purpurascens” e uma forma variegada), *C. canephora* Pierre, *C. congensis* Froehner, *C. dewevrei* De Wilt et Durand, *C. eugenioides* Moore, *C. kapakata* Hirschsildt, *C. liberica* Bull., *C. racemosa* Lour., *C. stenophylla* G. Don., *Gardenia* sp., *Genipa* sp., *Ixora* sp. e *Psychotria* sp. (5).

Para microscopia óptica, secções congeladas ou pedaços da epiderme das folhas dessas plantas foram fixadas rapidamente (5-10 minutos) em aldeido glutárico (5% em tampão fosfato 0,1M, pH 7) e examinadas diretamente (montadas em água) ou após serem coradas com Sudan Black, Sudan III, toluidina azul, verde metil pironina e iodo-iodina.

Para histologia electrónico-microscópica os tecidos foliares foram fixados, incluídos e seccionados, como tem sido feito nos estudos de citopatologia de vírus (6).

(1) Este trabalho recebeu auxílios financeiros da FAPESP (C. Agron. 66/107 e 67 544) e do CNPq (TC 4827 e 8174). Parte dele foi apresentada na 18.ª Reunião Anual da Soc. Bras. Progresso da Ciência, Blumenau, S. C. (1966). Recebido para publicação em 13 de fevereiro de 1968.

(2) Professora da cadeira de Biologia Geral e Educacional, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Rio Claro, S P.

(3) METCALFE, C. R., et alii. Anatomy of the dicotyledons. Oxford, Clarendon Press, 1950. 2v.

(4) DEDECCA, M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer. *Bragantia* 16:315-366, 1957.

(5) Os autores agradecem ao Dr. Alcides Carvalho, chefe da Seção de Genética, do Inst. Agronômico de Campinas, por permitir-lhes livre acesso à coleção de *Coffea* e outras rubiáceas.

(6) KITAJIMA, E. W. & COSTA, A. S. Partículas esféricas, associadas ao vírus do mosaico das nervuras da mandioca. *Bragantia* 25:211-222, 1966.

Algumas secções espessas (0,5-1 μ) de material incluído em plástico, para microscopia electrónica, foram também examinadas ao microscópio óptico, após serem coloridas com uma mistura de Azur II e azul de metileno (⁷).

Resultados e discussão — Em secções congeladas ou em pedaços da epiderme das fôlhas, em tôdas as plantas estudadas, numerosas gotículas bastante refringentes, de dimensões variadas (1-10 μ em diâmetro), usualmente 1 a 3 por célula, foram observadas. Elas se impregnam fortemente dos corantes específicos para substâncias lipídicas (Sudan III e Sudan Black), mas não se colorem com outros corantes testados, como verde metil pironina, iodo-iodina ou azul de toluidina. Este fato é indicativo da sua natureza lipídica. Quando o tecido foliar é incluído em parafina as gotículas desaparecem, provavelmente porque são dissolvidas durante o preparo do bloco. Todavia, se o tecido é fixado em tetróxido de ósmio, incluído em Epon e corado com azul de metileno-Azur II, as gotículas de lipídeo são facilmente visíveis, e mostram uma coloração azul celeste característica a substâncias lipídicas e celulose.

Secções ultrafinas, do tecido foliar, examinadas ao microscópio electrónico, mostraram a presença de estruturas relativamente grandes, no citoplasma das células, de contôrno circular ou elíptico. Pelas suas dimensões e localização elas correspondem às gotículas refringentes observadas ao microscópio óptico.

Estas estruturas são de baixa densidade electrónica, o que indica serem compostas de ácidos graxos saturados (⁸). A interface entre a gotícula e o citoplasma circundante se caracteriza por uma linha densa, mais espessa que as citomembranas usuais. É provável que, como sucede em inclusões lipídicas, em tecido animal, esta camada resulte de uma redução mais intensa do tetróxido de ósmio nessa interface, não representando, pois, uma citomembrana verdadeira (⁸). Na maioria das plantas examinadas, essas gotículas não mostravam estrutura interna. Todavia,

(⁷) RICHARDSON, N. K.; JARRET, L. & FINKE, N. H. Embedding in epoxy resin for ultra-thin sectioning in electron microscopy. *Stain Technology* 35:313-323, 1960.

(⁸) FAWCETT, D. W. An atlas of fine structure. The cell: its organelles and inclusions. Philadelphia, W. B. Saunders, 1966. 448p.

em 4 das espécies de *Coffea* estudadas, respectivamente *C. arabica*, *C. dewevrei*, *C. eugenioides* e *C. racemosa*, muitas das gotículas apresentavam formações filamentosas percorrendo seu interior, em diversas direções, sem mostrarem um padrão definido. Esses filamentos tinham um aspecto tubular, claramente notado em secções transversais, quando uma zona central, menos densa, de 20-30 μ de diâmetro, podia ser vista. Não se podia determinar se elas representavam seções de um só filamento, bastante enovelado, ou de vários elementos. A quantidade destes filamentos era variável. Contudo, não se pôde estabelecer nenhuma relação entre o estado de maturidade das folhas e a quantidade de gotículas, bem como de sua complexidade.

Inclusões de natureza lipídica são estruturas obrigatórias em certos tecidos animais. Em tecido vegetal, gotículas osmiofílicas, possivelmente lipídicas, são encontradas no interior do cloroplasto e também ocasionalmente no citoplasma, embora, neste caso, com dimensões reduzidas.

Os cromoplastos, oriundos de degenerescência dos cloroplastos, têm uma ligeira semelhança morfológica com as gotículas aqui descritas. Eles contêm formações tubulares, mas podem ser diferenciados pela presença da membrana dupla envoltória e pela sua coloração em material fresco⁽⁹⁾. Os elaioplastos, por outro lado, são agregados de gotículas lipídicas, osmiofílicas, produtos da atividade do retículo endoplasmático⁽¹⁰⁾. Assim, nenhuma destas estruturas deve ter relação com as gotículas de lipídeo aqui relatadas, cuja origem, função e razão de certas complexidades estruturais ainda são desconhecidas. SEÇÃO DE VIROLOGIA, INSTITUTO AGRÔNOMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

UNUSUAL STRUCTURE OF LIPID DROPLETS PRESENT IN LEAF CELLS OF COFFEA

SUMMARY

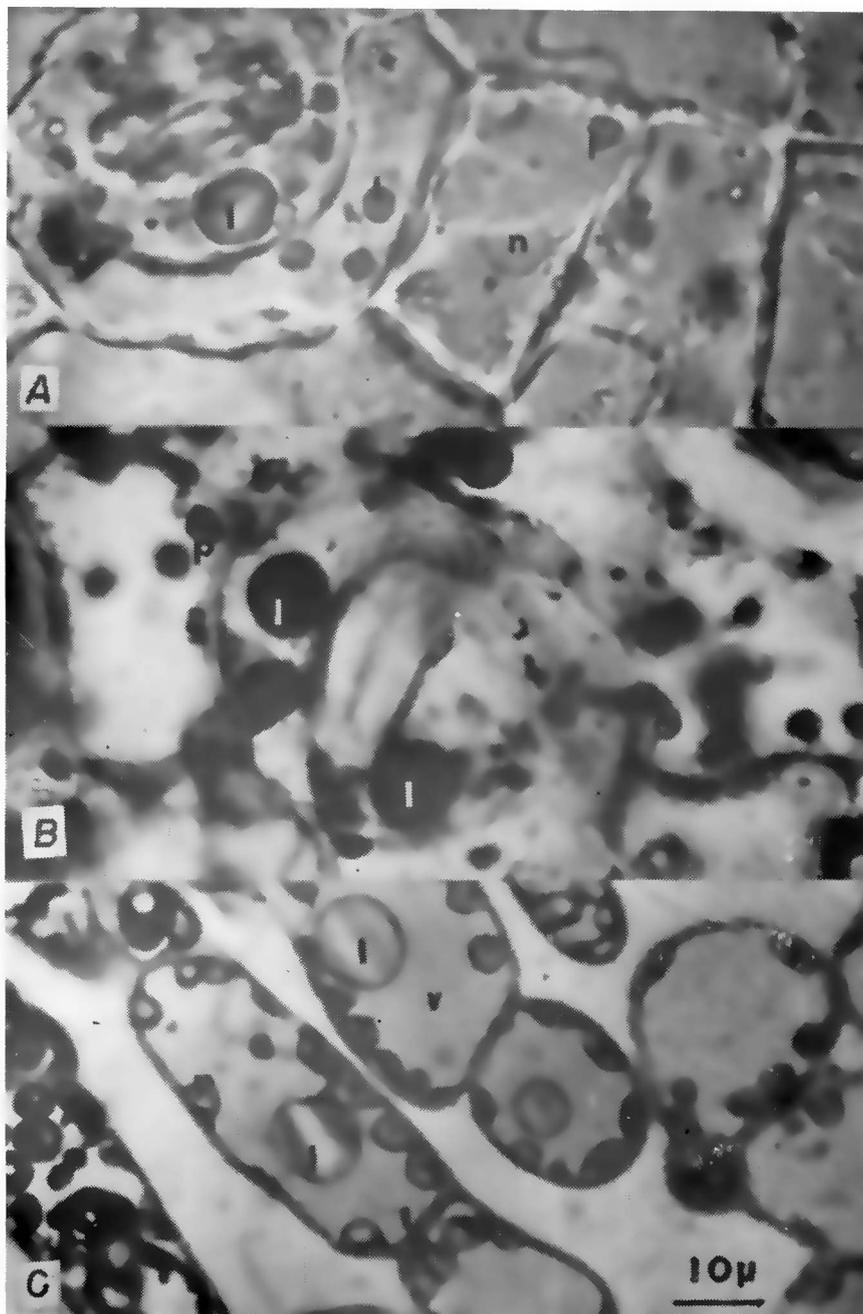
Droplets of lipid nature, 1-10 μ in diameter, are present in the cytoplasm of leaf cells of many Rubiaceae plants.

⁽⁹⁾ FREY-WYSSLING, A. & KREUTZER, E. The submicroscopic development of chromoplasts in the fruit of *Capsicum annuum* L. J. Ultrast. Res. 1:397-411, 1958.

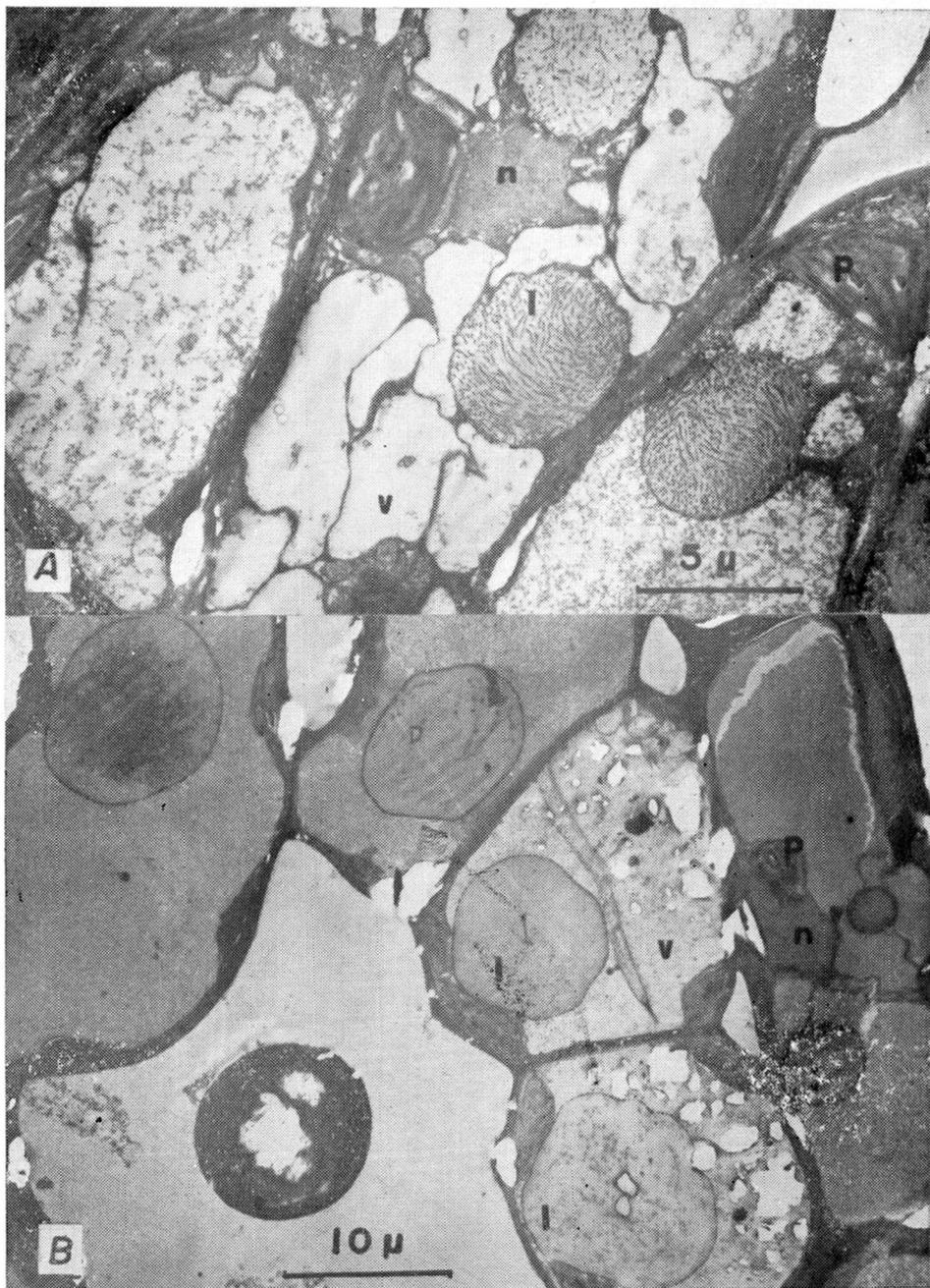
⁽¹⁰⁾ MILANEZ, F. R.; MACHADO, R. D. & COSTA, C. C. Observações sobre os elaioplastos da epiderme foliar da baunilha. An. Acad. bras. Ci. 38:509-512, 1966.

In ultra-thin sections, examined by means of the electron microscope, they appear structureless, with a relatively electron transparent content in most of the studied genera (**Cinchona**, **Coffea**, **Ixora**, **Gardenia**, **Genipa** and **Psychotria**). Usually these droplets are surrounded by a dense line, the nature of which is not clear as yet.

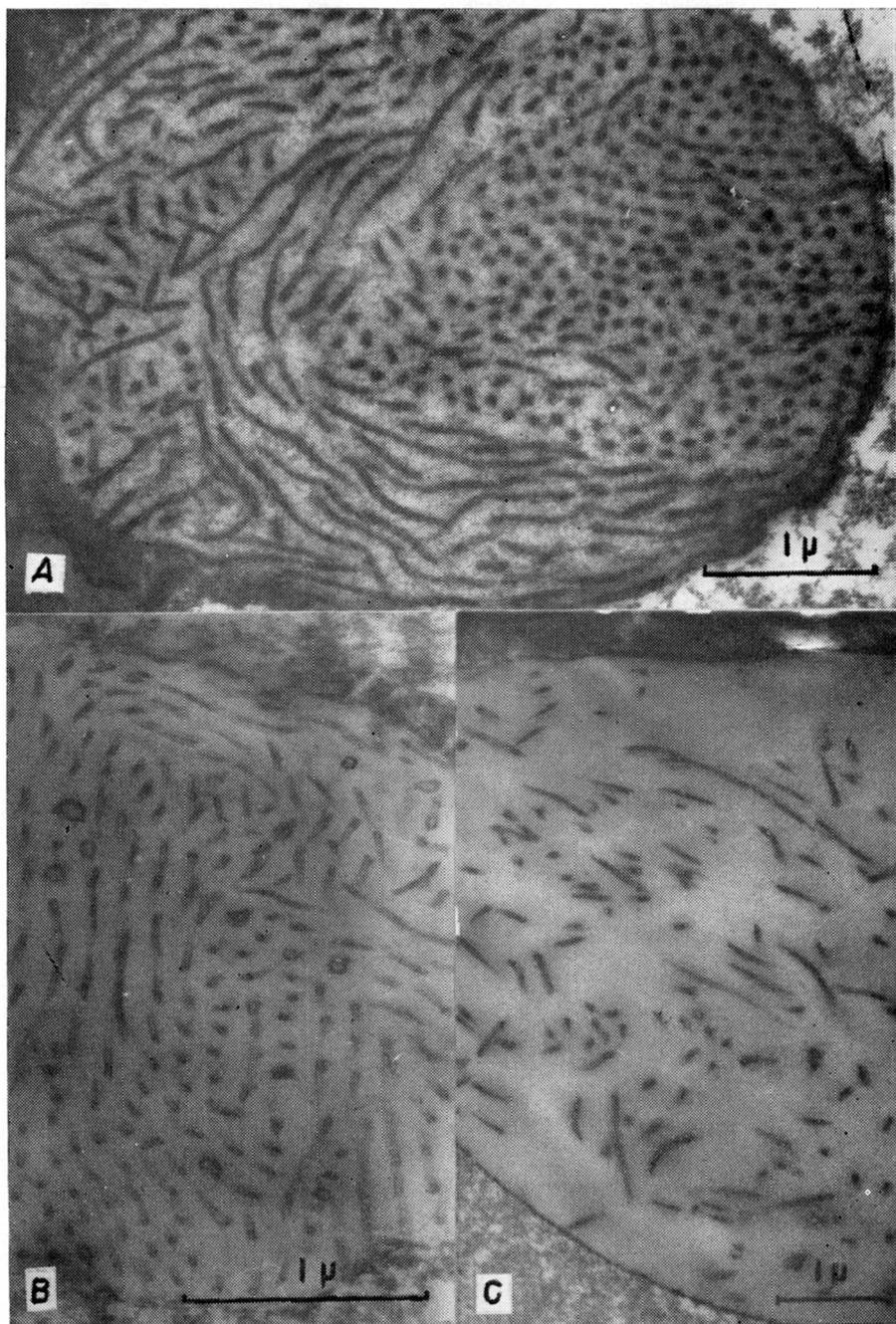
In some species of *Coffea* (*C. arabica*, *C. eugenioides*, *C. dewevrei* and *C. racemosa*), however, lipid droplets contained bundles of sinuous tubular elements, about 40 $m\mu$ in diameter and undetermined length.



Micrografia de gotículas de lipídeo. **A** — Peça de epiderme de *Coffea arabica* "Mundo Novo"; **B** — idem, corada com Sudan Black; **C** — Secção do mesmo material, incluído em Epon. **l** — Gotícula de lipídeo; **n** — núcleo; **p** — plastídeo; **v** — vacúolo.



Micrografia electrónica de secção de tecido foliar. **A** — parênquima paliçádico de *C. arabica* "Mundo Novo"; **B** — epiderme e parênquima lacunoso de *Coffea eugenioides*. l — gotícula de lipídeo; n — núcleo; p — plastídeo; v — vacúolo.



Gotículas de lipídeo mostrando detalhes internos. A — *Coffea arabica* "Mundo Novo"; B — *C. eugenioides*; C — *C. racemosa*.