

## SISTEMAS DE DIFERENCIAÇÃO VASCULAR EM PLANTAS

Regina Paula Willemen Pereira<sup>1</sup>  
Maria Beatriz de Oliveira Monteiro<sup>1</sup>  
Heber dos Santos Abreu<sup>1</sup>  
Roberto Carlos Costa Lelis<sup>1</sup>

### RESUMO

A evolução do tecido vascular de plantas data de 450 milhões anos atrás. Durante a evolução aconteceram várias ocorrências de natureza botânica. Uma das ocorrências na diferenciação nas plantas vasculares é, por exemplo, a lignificação, processo que caracteriza a fase final da diferenciação celular. Para o entendimento do desenvolvimento vascular, são usadas abordagens de cunho fisiológico, bioquímico e molecular. Estas abordagens têm sido possíveis em decorrência do uso de plantas que apresentam boa visualização, adaptabilidade em condições de laboratório e crescimento rápido como é o caso do *Arabidopsis*, *Coleus*, *Zinnia* e *Populus*, que são modelos padrões para o estudo de diferenciação vascular. Com a disponibilidade de tecnologia molecular será possível avançar no conhecimento dos mecanismos de controle que dirigem e definem o tipo de organização do tecido vascular, assim como expressões de genes participativos da fase de diferenciação.

**Palavras-chaves:** lignina, diferenciação vascular, xilogênese

### ABSTRACT

#### SYSTEMS OF PLANTS VASCULAR DIFFERENTIATION

The vascular evolution date since 450 million years ago. During the evolution occurred several botanical events. The lignification for example is one of the last steps of vascular differentiation, that is a characteristic of plants evolution. The understanding about vascular development, physiological, biochemical and molecular approaches must be considered. Those approaches have been possible due plants as *Arabidopsis*, *Coleus*, *Zinnia* and *Populus*, which present easy visualization, good adaptability, as well as great laboratory condition of surviving. With the available of the molecular technology will be possible to advance in the knowledge of the mechanisms control to distinguish the type of vascular organization, as well as the gens expression during the differentiation.

**Key Words:** lignin, vascular differentiation, xilogenesis

---

Departamento de Produtos Florestais/IF/UFRRJ, BR 465, Km 07-Seropédica-RJ-Cep. 23890-000. e-mail: willemen@ufrj.br.

Recebido para publicação em 2003

## INTRODUÇÃO

A existência de vários tipos de células e organizações de tecidos vasculares é compatível com a complexidade dos mecanismos moleculares envolvidos no controle da diferenciação vascular e a diversidade de genes associados neste processo. A descoberta de genes que expressam fenótipos torna possível hoje o conhecimento das fases da diferenciação das células xilemáticas. Para estudos de diferenciação celular são indicadas plantas como *Arabidopsis*, *Coleus*, *Zinnia* e *Populus*, por possuírem características que favorecem estudos anatômicos, bioquímicos e genéticos (Aloni, 1987; Roberts, 1988; Fukuda & Komamine, 1985; Fukuda, 1992). Atrrelados ao processo de lignificação, estão os arranjos dos tecidos vasculares de vários órgãos - arranjos colateral, bicolateral, anfigival e anfigibral (xilema e floema organizados nos feixes vasculares), e o estelo (arranjo dos feixes vasculares em raízes e caules), o qual denomina-se como: protostelo, sifonostelo, eustelo e atactostelo (feixes vasculares organizados em nível de órgão). A diversificação dos arranjos vasculares no processo evolutivo implica também, entre outros fatores, na fotossíntese e no transporte de água às folhas que estão a metros de altura como na copa de uma árvore (Givnish, 1986).

### Organização dos Tecidos em Feixes Vasculares e em Órgãos

A evolução dos tecidos vasculares surgiu da necessidade da planta transportar água e nutrientes; com isso, as plantas desenvolveram diversas organizações vasculares (Esaú, 1977). Dentro de um feixe vascular há uma grande plasticidade de organização, desde que seja funcional para o transporte de água e nutrientes (Roberts, 1976; Iqbal, 1990; Sadvige et al. 2000). O padrão de feixes vasculares colaterais é a organização vascular mais comum, onde o xilema e o floema são arranjados paralelamente. No entanto, em algumas famílias como as Curcubitaceae e Solanaceae, predomina um padrão chamado feixes vasculares bicolaterais (onde o xilema é colocado em paralelo com o floema externo

e floema interno) (Ye, 2002). Outros tecidos vasculares menos comuns em algumas monocotiledôneas formam os feixes vasculares anfigivasais, onde o floema é cercado por um anel contínuo de xilema; ao contrário dos feixes vasculares anfigibrais, onde o xilema é cercado por um anel de células floemáticas que ocorrem em algumas angiospermas e pteridófitas (samambaias) (Mauseth, 1988). Assim como as plantas evoluíram em vários padrões de organizações vasculares, houve também uma diversidade de padrões no arranjo dos feixes vasculares no estelo (Zhong et al. 1999).

### Ferramentas para o Estudo do Desenvolvimento Vascular

As ferramentas tradicionalmente usadas para o estudo do desenvolvimento vascular baseiam-se em abordagem fisiológica, bioquímica e molecular (Aloni, 1987; Sachs, 1991). Estudos atuais têm demonstrado que os hormônios vegetais, principalmente auxina e citocinina, têm importante papel na diferenciação vascular (Aloni, 1987; Fukuda, 1992; Sachs, 1991; Sachs, 2000). Outras pesquisas avançaram e alavancaram estudos no que tange a diferenciação vascular usando as ferramentas de cunho molecular do sistema genético de *Arabidopsis* entre outras plantas (Allona et al. 1998; Sterky et al. 1998).

Para cercar a estruturação e a funcionalidade em diferentes fases de formação dos elementos vasculares, várias proteínas e genes foram analisados (Hertzberg et al. 2001; Kuriyama & Fukuda, 2001; Zhao et al. 2000) considerando a bioquímica e as abordagens de hibridação subtrativa (Fukuda, 1997). Segundo Hertzberg et al. (2001) a tecnologia de micro-varredura para a categorização de genes alocados no câmbio vascular e xilema secundário torna-se indispensável no estudo das proteínas envolvidas na diferenciação das células do tecido vascular.

### Hormônios vegetais

Os hormônios vegetais, como auxina e citocinina, são importantes para diferenciação vascular (Aloni, 1987; Sachs, 1991). Esses

hormônios medem e controlam o processo de xilogênese e estão envolvidos na iniciação da diferenciação vascular (Aloni, 1987; Little & Savidge, 1987; Roberts et al. 1988). Trabalhos com madeira de coníferas no que tange a observação de fatores internos e externos que controlam a densidade da parede celular têm sido realizados (Wodzicki, 1961; Richardson, 1963). Richardson (1960) concluiu que todas as classes conhecidas de hormônios ocorrem em tecidos vegetativos de coníferas e angiospermas lenhosas e que a anatomia fisiológica é um instrumento para o conhecimento da interferência hormonal na produção de madeira. Segundo Roberts et al. (1988), a citocinina pode ser um controlador da diferenciação vascular, embora os níveis relativamente altos de citocinina endógena em tecidos mascaram frequentemente a necessidade da diferenciação do xilema por este hormônio. No entanto, para Fosket & Roberts (1964), em alguns casos, a alta produção de citocinina pode inibir a formação do xilema; em outros casos pode promover a formação de um cilindro vascular mais espesso. Saks et al. (1984) concordam, com a efetiva participação da citocinina na diferenciação do xilema. Através de experimentos com plantas de *Helianthus*, eles indicam que a diferenciação no xilema secundário é dependente do sinal que origina nas extremidades das raízes. Há ainda relatos sobre o efeito sinérgico de cinetina (citocinina) e auxina na xilogênese em segmentos de caule excisado de ervilha (Sorokin et al. 1962, Sorokin & Thimann, 1964) e cultura de tecido de tabaco (Bergmann, 1964). Como já foi descrito por Aloni (1987) e Sachs (1991), a auxina é fundamental na diferenciação vascular e representa um papel essencial na atividade cambial em plantas lenhosas, e sua atuação promove pequenas divisões celulares, mas as derivadas do câmbio formadas sofrem uma diferenciação normal, assim como espessamento da parede celular (Wareing, 1958; Bruck & Paolillo, 1984). A auxina é indubitavelmente o hormônio mais importante para a diferenciação do floema e do xilema segundo Thompson & Jacobs (1966), Aloni (1980) e Sachs (1984). Estudos demonstram que o receptor de etileno, o mutante (ein4) está associado com a deficiência de tecido fibroso no xilema, sugerindo

que o etileno desempenha função no desenvolvimento das fibras (Candela et al. 1999). Vários mutantes são usados na investigação das funções dos hormônios vegetais com base no crescimento cambial (Przemeck et al. 1996). Recente progresso em estudos de diferenciação de xilema realizados em experimentos *in vivo* e *in vitro* tem permitido desvendar o processo de diferenciação (Fukuda & Komanine, 1982). Estes experimentos têm mostrado que alguns hormônios estão envolvidos na formação do lenho e conseqüentemente no processo de lignificação (Sadvige & Wareing, 1981; Little & Savidge, 1987, Roberts et al. 1988). O trabalho de Wareing (1958) em *Acer pseudoplatanus* mostrou que auxina e giberelina atuam juntas promovendo o desenvolvimento normal do xilema. Além disso, há evidências de que os processos de desenvolvimento no câmbio vascular envolvem a interação de outros fatores. Robards *et al.* (1969) trabalhando com caule de salgueiro (*Salix fragilis*) descobriram que o número de células no xilema em diferenciação, ou seja que estão em amplo crescimento, pode ser aumentado pela aplicação isolada de uma gama de substâncias, incluindo auxinas, giberelinas, 6-furfuril-aminopurina (uma citocinina), sacarose e mio-inositol. Quando estas substâncias são aplicadas juntamente, há um grande aumento no número de vasos, que é sempre maior do que aquele produzido pela aplicação de qualquer uma dessas substâncias isoladamente. Segundo Robards et al. (1969), seria precipitado atribuir um aspecto causal de diferenciação a uma única substância, quando de fato, uma gama de substâncias provavelmente interage endogenamente.

#### ***Arabidopsis*, *Zinnia*, *Coleus* e *Populus* como Modelos de Estudo**

Segundo Taiz & Zeiger (2004) a identificação de genes que desempenham papéis fundamentais no desenvolvimento das plantas, é devido ao enfoque dado ao modelo *Arabidopsis*, do qual conseguiu-se o seqüenciamento genômico completo e também a compreensão das funções de alguns dos seus genes. *Arabidopsis thaliana* pertence à família Brassicácea, é de porte pequeno

e se adaptou bem ao cultivo em condições de laboratório (Taiz & Zeiger, 2004), sendo muito requisitada devido à gama de respostas em estudos de genética e de mecanismos moleculares (Cano-Delgado et al. 2000; Przemec et al. 1996). Um acordo internacional estabeleceu a meta de relatar a funcionalidade de cada gene do genoma desta planta até 2010, trazendo ainda maior compreensão no que se refere à diferenciação dos tecidos vasculares em plantas (Taiz & Zeiger, 2004). O isolamento de genes que regulam a diferenciação vascular e a formação de modelo é essencial para o estudo de desenvolvimento vascular, haja vista que estes podem ser usados como ferramentas para o isolamento de genes de plantas, através de caracterizações moleculares e genômicas, por micro-varredura e análises de híbridos de leveduras (Ye, 2002). O gênero *Arabidopsis* tem sido considerado como um sistema modelo para o desenvolvimento e crescimento secundário em face da grande quantidade de xilema secundário quando crescido em condições apropriadas (Cano-Delgado et al. 2000). Outra vantagem do *Arabidopsis*, assim como a facilidade de gerar transgênicos é a sua mutação (Figura 1) em nível de espécie (Sundberg, 1990). Muitos mutantes de *Arabidopsis* apresentam um padrão de vascularização ou formação normal de feixes vasculares; porém, isto não impede completamente a diferenciação vascular da célula, presumivelmente por causa do potencial de letalidade para as plantas (Waites & Hudson, 1995; Koizumi et al. 2000).

Células do mesófilo de folhas de *Zinnia* podem ser isoladas e cultivadas em meio de indução. Estas células diferenciam-se em elementos de traqueóides (Fukuda, 1997). Para a ocorrência deste fenômeno, os hormônios vegetais auxina e citocinina têm papel importante (Aloni, 1987). Durante a diferenciação ocorrem lignificação e autólise. Usando o sistema experimental (*Zinnia*), é possível estudar o mecanismo de biossíntese da lignina, a atuação de hormônios vegetais na diferenciação das células, a caracterização de genes envolvidos na diferenciação, entre outras contribuições (Fukuda, 1997; Millioni et al. 2001; O'Brien & MacCully, 1981). A vantagem deste sistema deve-se às células do mesófilo isoladas

que são quase homogêneas, sendo que a taxa de indução de elementos de traqueóides pode alcançar até 60% (Ye, 2002). Vários genes associados com a formação de elementos de traqueóide têm sido isolados e caracterizados usando este sistema (Fukuda, 1997; Milioni et al. 2001). *In vitro*, os sistemas de indução de elementos de traqueóides presente em *Zinnia* têm sido uma excelente fonte para isolamento de genes essenciais para o conhecimento de aspectos desconhecidos sobre diferenciação de elementos traqueóidais, incluindo, especificações da célula, espessamento da parede secundária e morte programada da célula (Ye, 2002). Uma ferramenta também aplicada é a utilização de fragmentos PCR-ampliado de longos polimorfismos e o isolamento de genes envolvidos na diferenciação de elementos traqueóidais de *Zinnia* (Milioni et al. 2001). A complexidade organizacional dos tecidos vasculares e mecanismos moleculares implicados na diferenciação vascular favorece a formação de padrões. Ao mesmo tempo, os tecidos vasculares representam modelos que podem dar informações sobre questões biológicas fundamentais relativas às especificações das células tais como: alongamento, formação da parede celular, entre outras (Fukuda, 2000; Ye, 2002). Para estudar os diferentes aspectos do desenvolvimento vascular, o ideal é escolher sistemas simples ou geneticamente facilmente manipulados, e, para isso, o *Coleus* é um dos mais recentes sistemas, no qual os caules servem para estudos sobre os papéis da auxina e citocinina na indução de xilema e formação de floema (Aloni, 1987, 1993). A vantagem da utilização do *Populus* está no tamanho do caule que facilita a excisão de tecidos vasculares e subseqüentes análises dos efeitos dos fatores externos sobre a diferenciação vascular (Aloni, 1987). No entanto, é um sistema limitado para estudos fisiológicos (Aloni, 1993).

### Visualização de Tecidos Vasculares

A presença de elementos de traqueóides com parede secundária espessa e com alta deposição de lignina são as principais características dos tecidos vasculares; dessa forma podem ser visualizados facilmente por coloração histológica

com azul de toluidina e HCl-floroglucinol (O'Brien, 1981). Segundo Turner & Somerville (1997) essa coloração histológica é bem eficiente em cortes transversais do caule de *Arabidopsis*, resultando em imagens anatômicas satisfatórias. Candela et al. (1999) afirmam que para a observação do padrão de nervação, a folha pode ser clareada com hipoclorito e então observadas no microscópio. Segundo Dharmawardhana et al. (1992) e Cano-Delgado (2000), o microscópio confocal (que tem os mesmos focos) tem sido aplicado para gerar imagens de alta qualidade. Segundo os mesmos autores, depois de colorir com fucsina, os elementos de traqueóide de folhas lignificadas e raízes podem ser vistos prontamente sob um microscópio confocal. Para Baima et al. (1995) e Allona (1998), os marcadores moleculares podem ser usados para visualizar a diferenciação de tecidos vasculares, a exemplo, dos promotores de genes que são expressos em células procambiais. Eles podem ser usados como marcadores iniciais de diferenciação vascular. Igarashi et al. (1998), afirma que um promotor de um gene é especificamente expressado em células de xilema e pode ser usado como um marcador da xilogênese.

### Lignificação

Consideráveis variações existem na composição da lignina, entre vários táxons; tipos de células, desenvolvimento e condições ambientais (Raes et al. 2003). Durante a década passada, houve um extraordinário esforço em clonagem de novos genes envolvidos no caminho biossintético dos monolignóis, procurando assim atingir a cinética enzimática de proteínas correspondentes, e seus papéis no controle da quantidade e composição de lignina a ser depositada na parede da célula (Anterola et al. 2002; Humphreys & Chapple, 2002; Boerjan et al. 2003). Como conseqüência, o caminho biossintético do monolignol tem sido reescrito, embora a rota exata dos monolignóis, seja ainda matéria de debate (Raes et al. 2003; Whetten et al. 1998). Ainda segundo os mesmos autores, embora os ensaios enzimáticos e plantas transgênicas tenham contribuído extensivamente para o entendimento dos papéis *in vivo* das enzimas, o

papel individual de genes tem sido mais difícil alcançar, sendo esta uma limitação que pode ser somente superada em espécies de plantas como o *Arabidopsis*.

Desde a percepção dos processos evolutivos pelos quais as plantas vasculares passaram, a importância da lignina – o segundo maior polímero dos vegetais – é relatada. A lignina apresenta características intrínsecas, por ser uma substância estável, hidrofóbica, fundamentalmente aromática e de alto peso molecular, que se integra às necessidades das plantas pelo sistema de vascularização. A lignificação é um processo que ocorre predominantemente em células do tecido vascular, encontrada em quase todos os órgãos, mais abundantemente em caules e raízes (Raes et al. 2003). Uma forte expressão de genes na biossíntese de monolignóis em caules e possivelmente os cDNAs da lignificação são relativamente representados em compartimentos da raiz por causa da ausência de outros processos, como fotossíntese, ou, como poderia ser concluído de análise de *AtC4H::GUS* (mutante) (Nair et al. 2002). A lignificação é um dos processos que caracteriza a diferenciação vascular nas plantas (Ye, 2002 e Donaldson, 2001). Sarkanem & Ludwig (1971) relata, com grande importância, que a lignina além de ter adaptado as plantas à vida terrestre no processo evolutivo, também impermeabilizou a parede celular e habilitou o transporte de água e soluções pelo sistema vascular. A biossíntese de lignina é, em parte, um campo ativo de pesquisa devido a sua importância econômica para a indústria do setor florestal (Boerjan et al. 2003). Na maturidade, os elementos de traqueóides perdem seu núcleo, e o conteúdo citoplasmático desaparece deixando no interior da célula uma espécie de tubo oco (Lume). As enzimas proteolíticas atuam nas organelas, sendo partes aderidas à parede interna, formando a camada verrucosa (Buchanan et al. 2000). Estas células podem ser identificadas pelas suas características morfológicas, *in vitro* e também pela presença de muitos marcadores bioquímicos. Isto é de grande valia para os estudos de diferenciação celular (Fukuda & Komamine, 1982). Além disso, o advento de microformas do amplo genoma tornará possível estudar as diferenças transcricionais, que

são a consequência de perturbações genéticas simples. Frequentemente, o fenótipo pleiotrópico de mutantes pode ser explicado em nível molecular (Anterola et al. 2002). Como primeiro passo para estudar o papel de componentes familiares individuais, a abordagem de bioinformática foi aplicada para identificar, em *Arabidopsis*, todos os genes componentes da linhagem dos genes que regulam a biossíntese de monolignóis conhecidos atualmente (Raes et al. 2003). Em muitos casos, só um subconjunto de uma determinada linhagem de gene, obtido

principalmente por isolamento, foi caracterizado no passado (Hu et al. 1998). Métodos computacionais sensíveis estão sendo usados para delinear, em *Arabidopsis*, todos os componentes das famílias de genes conhecidos e envolvidos na biossíntese de monolignóis (Urban et al. 1997). A integração de seguimentos de promotor dos componentes familiares individuais com análise filogenética da família permitiu selecionar 12 genes como prováveis candidatos envolvidos na lignificação em tecido vascular (Raes et al. 2003).

**Tabela 1.** Mutantes que afetam a diferenciação vascular em *Arabidopsis* (YE, 2002).  
**Table 1.** Mutants, which affect the vascular differentiation in *Arabidopsis* (YE, 2002).

MUTANTES	FENÓTIPO VASCULAR	GENES PRODUZIDOS
wol	Bloqueio de divisão de célula procambial	Receptor de citocinina
mp	Elementos de vasos desalinhado	Fator de resposta a auxina
pin1	Aumento do tamanho dos feixes vasculares nos caules	Portador de efluxo de auxina
ifl1	Redução da diferenciação do xilema secundário nos caules	Predomínio de proteína leucina em fila dupla
irx1 irx2 irx3	Redução da formação da parede secundária nas células de xilema	Subunidade catalítica de Celulose sintase
eli1	Faixa de xilema descontínua	Desconhecido
gpx	Fenda do xilema	Microtúbulos com proteínas do tipo catanina
fra2	Tempo de vida das células vasculares reduzido	Microtúbulos com proteínas do tipo catanina

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

É preciso investigar mais sobre as ferramentas disponíveis a partir de plantas modelos, devido a sua grande eficácia no estudo do desenvolvimento cambial. Muitos estudos precisam ser realizados para um maior conhecimento da diferenciação das células floemáticas, já que as atenções são maiores para as células xilemáticas. Com a disponibilidade de ferramentas moleculares será possível avançar nos conhecimentos dos mecanismos que controlam os comandos que direcionam e posicionam as várias organizações de tecidos vasculares. Neste

sentido, o gênero *Arabidopsis* tem sido considerado uma poderosa ferramenta em comparação com a *Zinnia*, *Coleus* e *Populus* no que tange a caracterização dos genes envolvidos na organização dos tecidos vasculares. O conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos e genéticos, que controlam os vários aspectos das diferentes fases de desenvolvimento das plantas, torna-se cada vez mais necessário, não só para a compreensão da diferenciação das células vegetais, mas também como base de conhecimento para a atuação da engenharia genética intencionando agregar maior qualidade possível às plantas para um melhor aproveitamento como produto final.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pelo apoio financeiro através de concessão de bolsa do Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais do Instituto de Florestas da UFRRJ.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLONAI, QUINN M, SHOOP E, SWOPE K, CYR SS. Analysis of xylem formation in pine by cDNA sequencing. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 95:9693–98, 1998.
- ALONI, R. Differentiation of vascular tissues. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 38:179–204, 1987.
- ALONI, R. The role of cytokinin in organised differentiation of vascular tissues. **Aust. Journal Plant Physiol.** 20:601–8, 1993.
- ALONI, R., Role of auxin and sucrose in the differentiation of sieve and tracheary elements in plant tissue cultures. **Planta**, n.150, p.255-263, 1980.
- ANTEROLA AM, JEON J-H, DAVIN LB, LEWIS NG. Transcriptional control of monolignol biosynthesis in *Pinus taeda*. Factors affecting monolignol ratios and carbon allocation in phenylpropanoid metabolism. **J. Biol. Chem.** 277:18272–80, 2002.
- BAIMA S, NOBILI F, SESSA G, LUCCHETTI S, RUBERTI I, MORELLI G. The expression of the *Athb-8* homeobox gene is restricted to provascular cells in *Arabidopsis thaliana*. **Development** 12:4171–82, 1995.
- BERGMANN, L. Der Einfluß von Kinetin auf die Ligninbildung und Differenzierung Gewebekulturen von *Nicotiana tabacum*. **Planta**, v.62, p. 221-254, 1964.
- BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin Biosynthesis. **Annu. Rev. Plant Biol.** n.54, p.519–46, 2003.
- BRUCK, D. K., PAOLILLO, D. J. Jr. Anatomy of nodes vs. internodes in *Coleus*: The longitudinal course of xylem differentiation. **Am Journal Bot**, n.71, p.151-157, 1984.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. **Amer. Soc. Plant Physiologists**, Rockville, MD, 2000.
- CANDELA H, MARINEZ-LABORDA A, MICOL JL. Venation pattern formation in *Arabidopsis thaliana* vegetative leaves. **Dev. Biol.** n.205, p.205–16, 1999.
- CANO-DELGADO AI, METZLAFF K, BEVAN MW. The *eli1* mutation reveals a link between cell expansion and secondary cell wall formation in *Arabidopsis thaliana*. **Development**, n.127, p.3395–405, 2000.
- DHARMAWARDHANA DP, ELLIS BE, CARLSON JE. Characterization of vascular lignification in *Arabidopsis thaliana*. **Can. Journal Bot.** 70:2238–44, 1992.
- DONALDSON LA. Lignification and lignin topochemistry—an ultrastructural view. **Phytochemistry**, 57:859–73, 2001.
- ESAU K. *Anatomy of Seed Plants*. New York: Wiley. 2nd ed. 29. 1988 Ettliger C, Lehle L.. Auxin induces rapid changes in phosphatidylinositol metabolites. **Nature**, 331:176–78, 1977.
- FOSKET, D. E.; ROBERTS, L.W. Induction of wound-xylem differentiation in isolated *Coleus* stem segments in vitro. **Am Journal Bot**, v.51, p.19-25, 1964.
- FUKUDA H. Tracheary element formation as a model system of cell differentiation. **Int. Rev. Cytol.** 136:289–332, 1992.
- FUKUDA, H. Programmed cell death of tracheary

- elements as a paradigm in plants. **Plant Mol. Biol.** 44:245–53, 2000.
- FUKUDA, H. Tracheary element differentiation. **Plant Cell**, 9:1147–56, 1997.
- FUKUDA, H.; KOMAMINE, A. Cytodifferentiation. In: **Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants**, ed. IKVasil, v.2, p. 149–212, New York Academic, 1985.
- FUKUDA, H., KOMAMINE, A. Lignin synthesis and its related enzymes as markers of tracheary element differentiation in single cells isolated from mesophyll of *Zinnia elegans*. **Planta**, v. 155, p. 423–430, 1982.
- GIVNISH, T. J. Economics of support. In: **On the Economy of Plant Form and Function** (TJ Givnish, ed) p. 413–420 Cambridge University Press, Cambridge, 1986.
- HERTZBERG, M., ASPEBORG, H., SCHRADER, J. A transcriptional roadmap to wood formation. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, 98, 14732–14737, 2001.
- HU W-J, KAWAOKA A, TSAI C-J, LUNG J, OSAKABE K. Compartmentalized expression of two structurally and functionally distinct 4-coumarate: CoA ligase genes in aspen *Populus tremuloides*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 95:5407–12, 1998.
- HUMPHREYS JM, CHAPPLE C. Rewriting the lignin roadmap. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:224–29, 2002.
- IGARASHI M, DEMURA T, FUKUDA H. Expression of the *Zinnia* TED3 promoter in developing tracheary elements of transgenic *Arabidopsis*. **Plant Mol. Biol.** 36:917–27, 1998.
- IQBAL M, ed.. **The Vascular Cambium**. New York: Wiley 1990
- KOIZUMI K, SUGIYAMA M, FUKUDA H. A series of novel mutants of *Arabidopsis thaliana* that are defective in the formation of continuous vascular network: calling the auxin signal flow canalization hypothesis into question. **Development**, 127:3197–204, 2000.
- KURIYAMA, H. AND FUKUDA, H. Regulation of tracheary element differentiation. **Journal Plant Growth Regul.** 20, 35–51, 2001.
- LITTLE, C.H.A.; SAVIDGE, B. The role of plant growth regulators in forest tree cambial growth. **Plant Growth Regul.**, v.6, p. 137–169, 1987.
- MAUSETH, J. D. **Plant Anatomy**. Benjamin Cummings, California, p.53–59/317–340, 1988.
- MILIONI D, SADO P-E, STACEY NJ, DOMINGO C, ROBERTS K, MCCANN MC. Differential expression of cell-wall-related genes during the formation of tracheary elements in the *Zinnia* mesophyll cell system. **Plant Mol. Biol.** 47:221–38, 2001.
- NAIR RB, XIA Q, KARTHA CJ, KURYLOE, HIRJI RN, DATLA R, SELVARAJ G. *Arabidopsis* YP98A3 mediating aromatic 3-hydroxylation. Developmental regulation of the gene, and expression in yeast. **Plant Physiol.** 130:210–20, 2002.
- O'BRIEN TP, MCCULLY ME. **The Study of Plant Structure. Principles and Selected Methods**. South Melb., Aust.: Termarcarphi, 1981.
- PRZEMECK GKH, MATTSSON J, HARDTKE CS, SUNG ZR, BERLETH T. Studies on the role of the *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* in vascular development and plant cell axialization. **Planta** 200:229–37, 1996.
- RAES, J.; ROHDE, A.; CHRISTENSEN, J. H.; PEER, Y. V.; BOERJAN, W. Genome-Wide Characterization of the Lignification Toolbox in *Arabidopsis*, **Plant Physiology**, 133:1051–1071, 2003.
- RICHARDSON, S. D. The external environment and tracheid size in conifer seedlings. In: **The formation of wood in forest trees**. New York,



Academic Press, 1963.

RICHARDSON, S. D. **The role of physiology in forest-tree improvement.** N. Z. For. Serv. Reprint n.23, 1960.

ROBARDS, A.W.; DAVIDSON, E.; KIDWAI, P J Bot, v. 20, p. 912-920, 1969.

ROBERTS LW. **Cytodifferentiation in Plants. Xylogensis as a Model System.** London, UK: Cambridge Univ. Press 74. Roberts K, McCann MC. 2000. Xylogensis: the birth of a corpse. Curr. Opin. **Plant Biol.** 3: 517–22, 1976.

ROBERTS, L. W. Hormonal Aspects of Vascular Differentiation. In.: ROBERTS, L. W., GAHAN, P. B., ALONI, R. **Vascular Differentiation and Plant Growth Regulators (Springer series in wood science).** Estados Unidos, Springer-Verlag, Cap. 2, p. 22-38, 1988.

ROBERTS, L. W., GAHAN, P. B., ALONE, R. **Vascular differentiation and plant growth regulators.** Springer, Berlim Heidelberg, New York, p. 154,1988.

SACHS, T. Axiality and polarity in vascular plants. In: Barlow P W, Carr D J (eds) **Positional controls in plant development.** Cambridge University Press, Cambridge, p.193-224, 1984.

SACHS, T. Cell polarity and tissue patterning in plants. **Development.** S1:83–93 78, 1991.

SACHS, T. Integrating cellular and organismic aspects of vascular differentiation. **Plant Cell Physiol.** 41:649–56, 2000.

SAKS, Y., FEIGENBAUM, P., ALONI, R. Regulatory effect of cytokinin on secondary xylem fiber formation in na in vivo system. **Plant Physiol** 76:638-642, 1984.

SAVIDGE, R. A.; WAREING, P. F. Plant growth regulators and the differentiation of vascular elements. In: Barnett J. R. (ed). **Xylem cell development.** Castle House, Tunbridge Wells, p.

192-235, 1981.

SARKANEN KV, LUDWIG CH, ed. **Lignins: Occurrence, Formation, Structure, and Reactions.** New York: Wiley- Intersci. 916 pp. 1971.

SAVIDGE R., BARNETT J., NAPIER R., ed. Cell and Molecular Biology of Wood Formation. Oxford, UK: BIOS Sci. Publ., 2000.

SOROKIN, H. P.; MATHUS, S. N.; THIMANN, K. V. The effects of auxins and kinetin on xylem differentiation in the pea epicotyl. **Am J Bot**, v. 49,p. 444-454, 1962.

SOROKIN, H.P.; THIMANN, K. V. The histological basis for inhibition of axillary buds in *Pisum sativum* abd effects of auxins and kineti on xylem development. **Protoplasma**, v. 59, p. 326-350, 1964.

STERKY F, REGAN S, KARLSSON J, HERTZBERG M, ROHDE A. Gene discovery in the wood-forming tissue of poplar: analysis of 5692 expressed sequence tags. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 95: 13330– 35, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 3 ed. Porto Alegre, Artmed, 2004.

THOMPSON, N. P., JACOBS, W. P. Polarity of IAA effect on sieve-tube and xylem regeneration in *Coleus* and tomato stems. **Plant Physiol**, n.41, p .673-682, 1966.

TURNER SR, SOMERVILLE CR. Collapsed xylem phenotype of *Arabidopsis* identifies mutants deficient in cellulose deposition in the secondary cell wall. **Plant Cell.** 9:689–701, 1997.

WAITES R, HUDSON A. *phantastica*: a gene required for dorsiventrality of leaves in *Antirrhinum majus*. **Development.** 121:2143–54, 1995.

WAREING, P. F. Interaction between indole-acetic acid and gibberellic acid in cambial activity. **Nature**, Lond., n.181, p.1744-1745, 1958.

WHETTEN, R. W., MACKAY, J. J. & SEDEROFF, R. R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. **Annual Review of plant physiology and plant molecular biology**. V.49, p. 585-609, 1998.

WODZICKI, T. Investigation on the kind of *Larix polonica* Roc wood formed under various photoperiodic conditions. **Acta Soc. Bot. Polon**, V. 30, p.111, 1961.

YE, Z-H. Vascular tissue Differentiation and Pattern Formation in Plants. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 53, p. 183-202, 2002.

ZHAO, C., JOHNSON, B.J., KOSITSUP, B. AND BEERS, E.P. Exploiting secondary growth in *Arabidopsis*. Construction of xylem and bark cDNA libraries and cloning of three xylem endopeptidases. **Plant Physiol.** v.123, 1185-1196, 2000.

ZHONG R., TAYLOR J.J., YE Z-H. Transformation of the collateral vascular bundles into amphivasal vascular bundles in an *Arabidopsis* mutant. **Plant Physiol**. v. 120: 53-64, 1999.