**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Estruturas relacionadas ao potencial de rebrotamento de duas
espécies de Myrtaceae do Cerrado: análises morfoanatômicas
e químicas**

Gabriela Santos da Silva

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2017**

Gabriela Santos da Silva
Bacharela em Ciências Biológicas

**Estruturas relacionadas ao potencial de rebrotamento de duas espécies
de Myrtaceae do Cerrado: análises morfoanatômicas e químicas**

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. **BEATRIZ APPEZZATO DA GLÓRIA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica
de Plantas

Piracicaba
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Silva, Gabriela Santos da

Estruturas relacionadas ao potencial de rebrotamento de duas espécies de Myrtaceae do Cerrado: análises morfoanatômicas e químicas / Gabriela Santos da Silva. - - Piracicaba, 2017.

53 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Banco de gemas 2. Coléteres 3. Gemas acessórias 4. Sistemas subterrâneos 5. Rebrotamento I. Título

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP e ao Programa de Pós Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas por proporcionar a realização do curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos nº 130317/2016-0, sem a qual não seria possível a minha permanência nesta pesquisa.

À Profª Drª Beatriz Appezzato da Glória por me receber em seu grupo de pesquisa, pela orientação e pela dedicação em transmitir os seus conhecimentos em anatomia vegetal. Admiro muito o seu trabalho e sou grata pela sua constante contribuição na minha formação. Agradeço também pela oportunidade de continuar esta parceria e por todo apoio.

À Maria Solizete Granziol, secretária do Programa pela atenção e auxílio no andamento do curso.

Agradeço a Ms. Marli Soares, técnica do Laboratório de Anatomia Vegetal (LanVeg) – ESALQ/USP, por todo auxílio em laboratório e pelo treinamento técnico em anatomia vegetal. Obrigada por sempre estar disposta a ajudar e por ser uma excelente profissional.

Ao Prof. Dr. Cláudio Lima de Aguiar e ao Ms. Felipe Iwagaki Braga Ogando do Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados pela parceria e dedicação na parte química deste trabalho.

Ao Conselho Técnico do Instituto Florestal - COTEC pela autorização de coleta do material botânico na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), em Santa Bárbara-SP e, por conceder o alojamento nas expedições a campo.

À Dra Giselda Durigan e a Ms. Natashi Pilon pela identificação das plantas.

Ao Sr. Marcos Barbosa Soler técnico da EEcSB pelo auxílio nas coletas.

À equipe do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura - NAP/MEPA – ESALQ/USP pelo uso dos equipamentos.

Aos amigos do LanVeg por todo apoio diário, em especial ao Alexandre Ferraro e a Zélia Braga por todo carinho de sempre.

Agradeço também aos amigos que tive a oportunidade de conhecer em Piracicaba, os quais contribuíram para que esses dois anos fossem mais

prazerosos, em especial, ao Alexandre Poletini pela parceria e por não medir esforços para ajudar.

A minha companheira Beatriz Lucas por sempre me incentivar e dividir a experiência intensa de estar longe das pessoas que amamos por um objetivo. Obrigada pelo carinho, companheirismo e sororidade nesta caminhada.

A minha querida mãe, Genaura dos Santos, pessoa pela qual tenho um enorme respeito e admiração em tantos aspectos na vida, que é um exemplo de mulher. Sou grata por me ensinar que, com respeito e honestidade, nós podemos viver os nossos sonhos.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho, por todo incentivo e boas energias.

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Área de estudo.....	17
3.2. Material botânico.....	18
3.3. Estudos anatômicos.....	18
3.3.1. Parte aérea.....	18
3.3.2. Sistema subterrâneo.....	19
3.4. Banco subterrâneo de gemas	20
3.5. Análises químicas das raízes.....	20
3.5.1. Análise dos carboidratos totais.....	20
3.5.2. Análise de fenólicos totais, flavonoides totais, lignina, hemicelulose e celulose.....	21
4. RESULTADOS	25
4.1. Parte aérea.....	25
4.1.1. Proteção das gemas.....	25
4.1.2. Coléteres	27
4.2. Sistema subterrâneo	29
4.2.1. Banco de gemas.....	29
4.3. Anatomia dos sistemas subterrâneos	30
4.4. Análises químicas das raízes.....	35
5. DISCUSSÃO.....	37
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
REFERÊNCIAS.....	45

RESUMO

Estruturas relacionadas ao potencial de rebrotamento de duas espécies de Myrtaceae do Cerrado: análises morfoanatômicas e químicas

A área de Cerrado escolhida para o estudo está em regeneração na Estação Ecológica de Santa Bárbara, localizada no município de Águas de Santa Bárbara, SP. Nesta área o *Pinus*, que estava sob cultivo desde os anos 70, foi retirado em 2012 e, em 2014, foi realizada uma queimada. As espécies *Eugenia dysenterica* (Mart.) DC. e *E. puniceifolia* (Kunth) DC. foram escolhidas devido ao elevado número de indivíduos que rebrotaram na área. O objetivo geral do projeto foi conduzir análises morfoanatômicas e químicas das estruturas relacionadas ao potencial de rebrotamento. Foram realizadas: a contagem das gemas subterrâneas nos primeiros 10 centímetros abaixo do nível do solo, as análises químicas das raízes e análises anatômicas na região terminal de ramos aéreos e no sistema subterrâneo. Nas duas espécies, além da gema apical dos ramos aéreos, nas três regiões nodais subsequentes, acima da gema axilar ocorre uma gema acessória. Em todas as gemas, observam-se estruturas de proteção, pois junto ao meristema apical caulinar (MAC) ocorrem coléteres e cristais. Além disso, o MAC é protegido por primórdios foliares com cavidades de óleo, muitos cristais e tricomas unicelulares não glandulares que possuem espessamento parietal em celulose e podem acumular compostos fenólicos. Nos sistemas subterrâneos, o número de gemas, localizadas preferencialmente nos primeiros cinco centímetros do solo, variou entre os três indivíduos da mesma espécie: *E. dysenterica* 162, 17 e 253, *E. puniceifolia* 24, 40 e 109. Esta variação deveu-se ao grau de desenvolvimento das estruturas subterrâneas as quais certamente formaram-se antes do período da retirada do *Pinus*. O sistema subterrâneo das espécies é formado por um eixo lenhoso cuja porção superior é caulinar e emite vários ramos aéreos enquanto a porção inferior é constituída por uma raiz axial espessada que pode atingir até um metro de profundidade em *E. dysenterica*. Em *E. puniceifolia* o sistema subterrâneo ocupa uma região mais superficial do solo e, assim como o caule, as raízes axial e adventícias são distribuídas num plano mais horizontal. O tecido de revestimento nas raízes de *E. puniceifolia* e no caule e raízes de *E. dysenterica*, apresenta camadas alternadas de células de paredes suberizadas e de células com espessamentos parietais em pectina; no caule de *E. puniceifolia* há esclereídes que se alternam com as células suberizadas. Em *E. puniceifolia* o espessamento resulta de divisões anticlinais e expansão tangencial das células do parênquima floemático. Há floema interno e parênquima medular nos caules subterrâneos de ambas as espécies. Compostos fenólicos e grãos de amido estão presentes nas células parenquimáticas de regiões mais espessadas dos caules e raízes. Os teores de carboidratos totais, hemicelulose, celulose e lignina não diferem significativamente nas duas espécies. No entanto, as concentrações de flavonoides totais e de compostos fenólicos totais foram superiores nas raízes de *E. puniceifolia*. O grau de proteção das gemas aéreas, o elevado número de gemas e o acúmulo de compostos de reserva (amido) e de proteção (fenóis, flavonoides, lignina) nas estruturas subterrâneas podem ter favorecido o seu rebrotamento após a retirada do *Pinus* e a sua permanência das espécies na área.

Palavras-chave: Banco de gemas; Coléteres; Gemas acessórias; Sistemas subterrâneos; Rebrotamento

ABSTRACT

Structures related to sprouting potential of two Myrtaceae species of Cerrado: morphoanatomical and chemical analyses

The Cerrado area studied is under regeneration at the Estação Ecológica de Santa Bárbara, located in Águas de Santa Bárbara (São Paulo, Brazil). In this area, the *Pinus*, cultivated since the 1970s, was removed in 2012 and then, in 2014, the area was burnt. The species *Eugenia dysenterica* (Mart.) DC. and *E. punicifolia* (Kunth) DC. were studied due to their high resprouting after the burnt event. The aim was to carry out morphoanatomical and chemical analyses of the structures related to the resprouting capacity. The number of belowground buds was counted in the first 10 cm below the soil surface. The chemical analyses of the roots and anatomical analyses of the end portion of the aerial branches and the underground system were performed. Besides the apical bud, both species showed an accessory bud above the axillary one at the three subsequent nodal regions. In all studied buds, protection structures were observed, as colleters and crystals occur close to the shoot apical meristem (SAM). Moreover, SAM is protected by leaf primordia with oil cavities, many crystals and non-glandular unicellular trichomes. These trichomes present parietal cellulose thickening and are able to accumulate phenolic compounds. In underground systems, the number of buds, mostly in the first five centimeters below the soil surface, varied between individuals per species: *E. dysenterica* 162, 17 and 253; *E. punicifolia* 24, 40 and 109. This variation was caused by the development degree of the underground system, whose structures were certainly developed before *Pinus* removal. The underground system of the species display a woody axis, whose upper portion is a stem structure and produces several aerial branches. Its lower part is formed by an axial thickened root that can reach one metre deep in *E. dysenterica*. In *E. punicifolia*, the subterranean system occupies a more superficial region of the soil and, similar to the stem, the axial and adventitious roots are distributed in a more horizontal plane. The covering tissue of underground systems in *E. punicifolia* and *E. dysenterica* displays alternate layers of cells with suberized walls and pectin-thickened walls. In *E. punicifolia* stem, the covering tissue exhibits sclereids alternate with cells of suberized walls. The thickening in *E. punicifolia* is a result of anticlinal divisions and tangential expansion of phloematic parenchyma cells. Both species show internal phloem and medullary parenchyma in underground stems. Phenolic compounds and starch grains are present in parenchyma cells of thickened regions in stems and roots. The contents of total carbohydrates, hemicellulose, cellulose and lignin do not differ significantly in the two species. However, concentrations of total flavonoids and total phenolic compounds are higher in roots of *E. punicifolia*. The protection level of aerial buds, large number of underground buds, and accumulation of storage (starch) and protection (phenols, flavonoids, lignin) compounds in the underground structures may have favoured resprouting of the species after *Pinus* removal and their maintenance in the area.

Keywords: Bud bank; Colleters; Accessory buds; Underground system; Resprouting

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é um domínio fitogeográfico, pois esse termo implica uma fisionomia heterogênea que envolve componentes distintos para a sua determinação, como uma composição florística ampla (Fiaschi & Pirani, 2009). Este domínio possui a flora mais rica entre as savanas do mundo, com alto nível de endemismo (Klink & Machado, 2005). No entanto, não há gêneros endêmicos no Cerrado e, entre as espécies endêmicas, prevalecem as adaptações ao fogo (Simon et al., 2009), uma vez que os eventos de queimadas ocorrem com frequência, tanto por causas naturais, quanto pela ação humana com interesses voltados para a agricultura, sendo uma das características mais marcantes deste domínio (Pereira-Júnior et al., 2014).

O fogo pode desempenhar um papel fundamental na formação de novos indivíduos a partir da germinação de sementes por influenciar na quebra de dormência (Bowman & Murphy, 2010). No entanto, a capacidade de rebrotamento em resposta a distúrbios é atualmente reconhecida como um atributo funcional chave entre as espécies lenhosas e como a base da persistência das mesmas no ambiente (Clarke et al., 2013). De acordo com os autores, a habilidade de rebrotamento é determinada pelo desenvolvimento, grau de proteção e recrutamento de um banco de gemas viável. Tal banco refere-se às gemas em sistemas subterrâneos, bem como aquelas presentes em órgão aéreos (Klimešová & Klimeš, 2007).

A localização e o grau de proteção das gemas são características importantes na interpretação dos mecanismos de regeneração (Vesk & Westoby, 2004). Segundo os autores, as gemas presentes em órgãos aéreos permitem rápida regeneração de diferentes estratos da vegetação, entretanto são mais suscetíveis a agentes externos. As gemas presentes nos sistemas subterrâneos estão altamente protegidas pelo solo que é um excelente isolante térmico (Clarke et al., 2013), entretanto tais gemas exercem pouca influência na restauração de estratos superiores aos herbáceo-subarbustivos (Vesk & Westoby, 2004).

O rebrotamento a partir de gemas da parte aérea possui vantagem em relação ao rebrotamento na base da planta (Burrows & Chisnall, 2016) por proporcionar um crescimento rápido em altura que permite que as gemas da copa sobrevivam ao fogo recorrente. No entanto, as gemas aéreas necessitam de um

maior grau de proteção (Vesk & Westoby, 2004) e, em eventos de fogo de altas intensidades, nos quais raramente o câmbio vascular e as gemas aéreas se mantêm íntegros, a regeneração a partir de tais gemas se torna rara e de difícil manutenção de tal forma que, o rebrotamento pode ocorrer com maior facilidade se as gemas estiverem protegidas por uma casca espessa (Burrows & Chisnall, 2016), as quais se posicionadas profundamente à casca conferem uma alta capacidade de rebrotamento epicórmico (Charles-Dominique et al., 2015), em especial, naquelas espécies cujos cordões epicórmicos (Burrows, 2002) estão distribuídos ao longo do floema, nas proximidades do câmbio e do xilema secundário (Clarke et. al., 2013).

Por outro lado, espécies com casca não espessada também podem apresentar cordões epicórmicos como as que possuem casca espessa, por exemplo, espécies de eucalipto (Myrtaceae), que possuem baixa mortalidade após eventos de fogo. Portanto, a espessura da casca não é um atributo autônomo, mas desempenha grande proteção quando está presente (Charles-Dominique et al., 2015). No entanto, as gemas presentes nas axilas foliares e gemas acessórias também podem proporcionar a regeneração pela parte aérea após distúrbios. Estas gemas, em geral, apresentam algum destes tipos de proteção: escamas, estípulas, base da folha correspondente (Bell et al. 1999), apêndices epidérmicos, como os tricomas (Burrows, 2008), coléteres (Silva et al., 2012), a presença de células pétreas, compostos fenólicos, cristais e lipídeos e, excepcionalmente, de cutícula espessa (Bell et al., 1999).

Nos sistemas subterrâneos, a ocorrência de gemas é considerada uma característica adaptativa importante por proporcionar resistência a distúrbios, como o fogo e o déficit hídrico e nutricional, que removem a biomassa acima do nível do solo, pois promovem a regeneração da parte aérea das plantas restabelecendo assim a vegetação do ambiente afetado (Rodrigues et al., 2004; Paula et al., 2016; Moraes et al., 2016). Para que ocorra o rebrotamento, a planta requer carbono e, na ausência de fotossintatos, o carbono deve vir da mobilização das reservas presentes nos órgãos subterrâneos (Moraes et al., 2016). Os principais carboidratos não estruturais listados pelos autores para as espécies de Cerrado foram a glicose, frutose, sacarose, maltose, rafinose, frutanos do tipo inulina, frutanos do tipo levano, malto-oligossacarídeos e o amido. Os carboidratos solúveis em água acumulados em sistemas subterrâneos além de fonte de carbono, oferecem um mecanismo

alternativo para osmorregulação protegendo as plantas contra as baixas temperaturas (Asega et al., 2011) e estresse hídrico (Dias-Tagliacozzo et al., 2004; Moraes et al., 2016).

Dentre as famílias que possuem estas estratégias de regeneração, Myrtaceae tem recebido uma atenção especial, devido ao potencial de rebrotamento das espécies de eucalipto, que é amplamente utilizado comercialmente (Kruchelski, 2015). Entretanto, gêneros como *Corymbia*, *Melaleuca*, *Syzygium* e *Xanthostemon* têm apresentado um alto potencial de regeneração a partir de estruturas meristemáticas que podem ter alocação de reservas tanto na parte aérea, quanto nos sistemas subterrâneos (Burrows et al., 2008). Esses trabalhos têm sido conduzidos com espécies de Myrtaceae que ocorrem na Austrália, que já são destacadas pela regeneração nas formações savânicas (Burrows, 2008; Burrows et al., 2008).

No Brasil, os estudos direcionados a entender os mecanismos de rebrotamento após distúrbios ambientais têm sido conduzidos principalmente com espécies de Apocynaceae (Appezato-da-Glória & Estelita, 2000b; Lopes-Mattos et al., 2013), Asteraceae (Appezato-da-Glória & Cury, 2011; Bombo et al., 2014), Fabaceae (Milanez & Moraes-Dallaqua, 2003), Rutaceae (Hayashi & Appezato-da-Glória, 2009; Rodrigues et al., 2004) e Smilacaceae (Martins et al., 2010a). Entretanto, a família Myrtaceae não tem sido contemplada nos trabalhos que envolvem mecanismos de rebrotamento em espécies brasileiras, apesar de ser uma das famílias mais representativas no Cerrado (Fiaschi & Pirani, 2009), com 21 gêneros e aproximadamente 344 espécies (Mendonça et al., 2008).

Dada a escassez de informações sobre os atributos morfológicos das Myrtaceae associados ao rebrotamento após distúrbios, o objetivo geral do projeto foi conduzir análises morfoanatômicas e químicas das estruturas relacionadas ao potencial de rebrotamento das espécies *Eugenia dysenterica* (Mart.) DC. e *E. puniceifolia* (Kunth) DC. as quais apresentaram elevado número de indivíduos que rebrotaram numa área de Cerrado em regeneração.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Myrtaceae Juss. compreende 145 gêneros e aproximadamente 5970 espécies (The plant list, 2013) com distribuição pantropical (Souza & Lorenzi, 2012). São arbustos até árvores, em geral aromáticas com casca escamosa (Stevens, 2001), folhas simples opostas, algumas espécies com glândulas translúcidas visíveis a olho nu (Silva & Capelo, 2016), glândulas de óleo (Mobot, 2017), ovário semi-ínfero a ínfero, estames geralmente numerosos e floema interno (Wilson et al., 2001).

É uma das famílias mais representativas na flora do Brasil, com 1028 espécies abarcando 23 gêneros amplamente distribuídos na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal, e, dentre essas espécies, 789 são endêmicas (Sobral et al., 2015). É a terceira maior família em termos de endemismo na flora nacional, com 12,7% do número de espécies, ficando atrás somente de Euphorbiaceae (26,6%) e Bromeliaceae (14%) (BFG, 2015).

No Cerrado, Myrtaceae abrange com 21 gêneros e aproximadamente 344 espécies (Mendonça et al., 2008). É uma das famílias mais representativas em levantamentos florísticos deste domínio (Silva & Capelo, 2016), e possui uma grande importância no ponto de vista econômico. A respeito disto encontra-se o gênero *Eucalyptus* como fonte de madeira e óleos aromáticos antissépticos e espécies frutíferas comestíveis que são exploradas comercialmente (e.g. a goiabeira, *Psidium guajava* L., a jabuticabeira, *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg, e a pitangueira, *Eugenia uniflora* L.) (Judd et al., 2009). Essas espécies representam apenas uma pequena fração do grande potencial econômico da família, tendo em vista o grande número de frutos comestíveis produzidos por espécies não comerciais (Landrum & Kawasaki, 1997). Além disto, muitas espécies são utilizadas na medicina tradicional como constipantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos e redutores de colesterol (Stefanello et al., 2011).

Dentre os gêneros mais representativos da família, está *Eugenia* L. (Landrum & Kawasaki, 1997), que abrange 1058 espécies (The plant list, 2013). É também um dos gêneros mais representativos no Brasil, onde são encontradas aproximadamente 388 espécies, amplamente distribuídas em todos os domínios fitossociológicos, e, dentre estas espécies, 302 são endêmicas (Sobral et al., 2015).

Várias espécies deste gênero possuem interesse comercial, como a utilização da madeira em pequenas construções e produção de carvão (Silva, 2001), cultivo de frutas comestíveis como a uvaia (*E. pyriformis* Cambess.), pitanga (*E. uniflora* L.), araçá boi (*E. stipitata* McVaugh) e grumixama (*E. brasiliensis* Lam.) (Mazine et al., 2014). Além disto, estudos com *E. beaurepairiana* (Kiaersk.) D.Legrand, *E. dysenterica* (Mart.) DC. e *E. uniflora* demonstram que estas espécies são amplamente utilizadas na medicina popular por apresentar atividade antioxidante e antimicrobiana (Martins, 2015), analgésica, antiinflamatória, anti-hipertensiva e efeitos contra diabetes (Auricchio & Bacchi, 2003).

As espécies de *Eugenia* selecionadas para este estudo: *Eugenia dysenterica* (Mart.) DC. e *E. puniceifolia* (Kunth) DC. apresentaram elevado número de indivíduos numa área de Cerrado em regeneração (Pilon & Durigan, comunicação pessoal). Porém, pouco se sabe a respeito da ocorrência das estruturas associadas ao rebrotamento, bem como o grau de proteção das gemas e os compostos de reserva armazenados.

Eugenia dysenterica é uma espécie nativa e endêmica, distribuída amplamente na Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Sobral et al., 2015). É conhecida popularmente como cagaita ou cagaiteira e muito utilizada pelas populações tradicionais como fonte alimentícia e medicinal (Bezerra et al., 2002). O hábito é arbustivo ou arbóreo, podendo atingir até 10 metros de altura (Naves et al., 2002), no entanto na área do estudo as plantas são subarbustivas com múltiplas ramificações laterais (Figura 1 A-F), podendo formar agrupamentos (Figura 1 A). Os ramos são tortuosos e a casca suberosa profundamente sulcada (Durigan et al., 2004), com queda de folhas velhas, brotamentos, florescimento e frutificação na estação seca, conferindo adaptação a ambientes com solos pobres em nutrientes e déficit hídrico por alguns meses do ano (Naves et al., 2002). Os frutos possuem efeito purgativo (Brandão, 1991), antioxidante, antibiótico (Daza et al., 2017) e alelopático (Souza et al., 2007). As folhas preparadas em garrafadas podem surtir efeitos antidiarreicos e no tratamento de problemas cardíacos (Brandão, 1991), além de atividade antioxidante (Takao et al., 2015) e esse potencial medicinal tem sido atribuído à presença de compostos fenólicos nessas estruturas (Pereira et al., 2012).

Eugenia puniceifolia é uma espécie nativa, endêmica do Brasil, com distribuição na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Sobral et al., 2015). É

conhecida popularmente como cereja-do-cerrado (Durigan et al., 2004) e possui hábito arbustivo ou subarbustivo (Sobral et al., 2015), podendo medir até três metros de altura, com ramos marrom-avermelhados e casca esfoliativa (Durigan et al., 2004). Na área do estudo as plantas são subarbustivas com vários ramos aéreos, de até um metro de altura (Figura 1 G-K) e, suas ramificações basais (Figura 1 L), originados do sistema subterrâneo. A espécie é utilizada na medicina tradicional na forma de decocções e infusões (Leite et al., 2010). Nos dias atuais, as pesquisas farmacológicas têm demonstrado interesse por extratos dessa planta no tratamento da diabetes melito (Sales et al., 2014) e, em tratamentos de infecções no estômago, pois estimula a produção de muco gástrico (Basting et al., 2014).

É importante ressaltar que o hábito subarbustivo observado nas duas espécies na área de estudo pode estar associado à supressão do crescimento da parte aérea devido ao cultivo do *Pinus* e, posterior queimada. Observa-se um maior investimento nas estruturas subterrâneas em relação à parte aérea (Figura 1 A-L). Em *Eugenia dysenterica* os ramos aéreos com comprimentos de 30 a 62 cm e os órgãos subterrâneos com 71 a 129 cm (Figura 1 A-F) e, em *E. puniceifolia*, 10 a 15 cm e 21 a 60 cm, respectivamente (Figura 1 G-L). Sistemas subterrâneos bem desenvolvidos garantem o banco de gemas e as reservas necessárias para o rebrotamento (Filartiga et al., 2017b). Tais características serão apresentadas e discutidas nesta dissertação.

Figura 1: Indivíduos de *Eugenia dysenterica* (A-F) e *E. punicifolia* (G-L) na área de Cerrado em regeneração. A seta em L indica o brotamento da gema axilar na base do ramo aéreo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O estudo foi desenvolvido numa área de Cerrado em regeneração após ter sido retirado, em 2012, os indivíduos de *Pinus* que estavam sob cultivo desde os anos 70 e que foi queimado em 2014, na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB) (Figura 2).

A EEcSB está localizada em Águas de Santa Bárbara, estado de São Paulo (22°48'59"S; 49°14'12"W). A Estação possui 2712 ha e está sujeita a uma sazonalidade climática, caracterizada por períodos bem definidos de chuvas (outubro a março) e de seca (abril a setembro), clima Cwa (quente e úmido e inverno seco), temperatura média de 18°C no inverno e de 22°C no verão, com precipitação variando de 1000-1300 mm/ano e os solos latossolos vermelhos são dominantes na unidade (Melo & Durigan, 2011). A EEcSB possui um mosaico de fisionomias de Cerrado, desde formações campestres e savânicas, até florestais e com presença de floresta estacional semidecidual, além de plantios de espécies de *Pinus* implantados nos anos 70, áreas invadidas por *Pinus elliotti* (Melo & Durigan, 2011) e áreas em regeneração após a retirada dos plantios de *Pinus*.

Figura 2: Área de Cerrado em regeneração na Estação Ecológica de Santa Bárbara em 14 de julho de 2017.

3.2. Material botânico

Eugenia dysenterica e *E. puniceifolia* foram selecionadas por apresentar elevado número de indivíduos que rebrotaram na área escolhida para o estudo (Pilon & Durigan, comunicação pessoal).

Foram coletados três indivíduos inteiros. As amostras foram identificadas e as exsicatas registradas e incorporadas ao acervo do Herbário da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESA) da Universidade de São Paulo.

3.3. Estudos anatômicos

3.3.1. Parte aérea

Foram coletados três ramos com a gema apical e as três regiões nodais subsequentes em cada indivíduo de cada espécie a fim de verificar se havia gemas acessórias além da gema axilar, bem como o grau de proteção das gemas. As amostras foram fixadas em FAA 50 (1:1:18 formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%) por 48 horas, desidratadas em série etílica e incluídas em resina plástica Leica® seguindo as recomendações do fabricante. Os blocos obtidos foram seccionados no plano longitudinal em micrótomo rotativo manual (Leica®) a 7µm com navalha de aço do tipo C e com navalhas descartáveis. As seções foram coradas com azul de toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 e montadas em resina sintética Entellan® (Merck®) para as análises histológicas usuais. Outras seções foram submetidas ao teste com Sudan IV (Jensen, 1962) para lipídeos totais, vermelho de rutênio para mucilagem ácida (Gregory & Baas, 1989), cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen, 1940). Para detectar a celulose foi empregado o fluorocromo Calcofluor White M2R (Hughes & Mccully, 1975) e análise e, microscópio de epifluorescência, o filtro utilizado foi A (Excitation 325-375 nm, Emission 435-485 nm).

Os coléteres foram analisados ao microscópio de luz (ML) e eletrônico de varredura (MEV). Para a análise ao ML, foram coletados outros cinco ramos de cada espécie. Em cada ramo foram analisadas a gema apical e as três regiões nodais subsequentes. Parte das amostras foi fixada em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965) por 48 horas, desidratada em série etílica e incluída em resina plástica Leica®. Os blocos obtidos foram seccionados nos planos transversal e longitudinal

em micrótomo rotativo manual (Leica®) a 7µm com navalhas descartáveis. As seções foram coradas com azul de toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 e montadas em resina sintética Entellan® (Merck®) para as análises histológicas usuais. Outras seções foram submetidas aos testes com Aniline blue black (Fisher, 1968) para identificar a presença de compostos de natureza protéica, com vermelho de rutênio para mucilagem ácida (Gregory & Baas, 1989), com o reagente PAS (Periodic Acid-Schiff's) para polissacarídeos totais (Mcmanus, 1948) e com o cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen, 1940). Algumas amostras de material fresco e amostras não infiltradas em resina plástica foram submetidas ao reagente vermelho de rutênio para verificar a ocorrência da secreção de natureza mucilagínosa. Os resultados das análises anatômicas e histoquímicas foram documentados por meio da captura de imagens usando câmera de vídeo Leica® DC 300F acoplada ao microscópio Leica® DM LB.

Para as análises ao MEV, amostras de ápices caulinares e regiões nodais com coléteres foram fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), levadas a uma bomba de vácuo para a retirada do ar contido nos tecidos. Após a fixação, as amostras foram desidratadas em série etílica, secas ao método do ponto crítico de CO₂ (Horridge & Tamm, 1969), montadas sobre suportes de alumínio e cobertas com uma delgada camada de ouro de 30 a 40nm. As observações e as eletromicrografias foram feitas ao microscópio eletrônico de varredura modelo LEO VP 435 (Zeiss, Oberkochen, Germany), operado a 20 kV, com as escalas das eletromicrografias diretamente impressas.

3.3.2. Sistema subterrâneo

Diferentes regiões dos sistemas subterrâneos de três indivíduos por espécie ainda frescos foram seccionadas no plano transversal em micrótomo de deslize com navalhas de aço descartáveis para identificação da estrutura anatômica e realização dos testes histoquímicos. Para os testes as seções foram submetidas aos seguintes corantes e reagentes: Sudan IV (Jensen, 1962) e Sudan Black B (Pearse, 1953) para lipídios totais; azul de metileno para mucilagem básica (Johansen, 1940); vermelho de rutênio para mucilagem ácida (Gregory & Baas, 1989); cloreto de zinco iodado para grãos de amido (Strasburger, 1899) e cloreto férrico para compostos

fenólicos (Johansen, 1940). Seções controles foram realizadas conforme procedimento padrão para confirmação dos testes histoquímicos. Algumas amostras de raízes foram fixadas em sulfato ferroso em formalina para a detecção dos compostos fenólicos (Johansen, 1940).

Amostras das regiões dos sistemas subterrâneos com gemas e que não foram identificadas nas seções obtidas no micrótomo de deslize foram fixadas em FAA 50 (1:1:8, formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%) por 48 horas (Johansen, 1940). As amostras foram posteriormente desidratadas em série etílica e submetidas ao processo de inclusão em historresina (Leica Historesin[®]), segundo as instruções do fabricante. Os blocos obtidos foram seccionados no plano transversal em micrótomo rotativo manual (Leica[®]) com navalha de aço do tipo C e com navalhas descartáveis. As seções foram coradas com azul de toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 e montadas em resina sintética Entellan[®] (Merck[®]).

Os resultados das análises anatômicas e histoquímicas foram documentados por meio da captura de imagens usando câmera de vídeo Leica[®] DC 300F acoplada ao microscópio Leica[®] DMLB. Algumas análises foram realizadas usando o filtro de polarização.

3.4. Banco subterrâneo de gemas

A avaliação do número de gemas foi realizada nos sistemas subterrâneos dos três indivíduos coletados de cada espécie, e a contagem das gemas foi realizada nos primeiros 10 centímetros a partir do nível do solo utilizando um estereomicroscópio para visualização. Após a contagem, as amostras foram separadas para os estudos anatômicos conforme foi descrito no item 3.3.2.

3.5. Análises químicas das raízes

3.5.1. Análise dos carboidratos totais

Amostras congeladas das raízes de três indivíduos de cada espécie foram seccionadas utilizando navalha descartável em micrótomo de deslize e moídas com auxílio de pistilo e cadinho. Um grama do material foi dissolvido em 10 mL de água destilada em agitador magnético e, em seguida, filtrado a vácuo em membrana

Millipore de nitrato de celulose com 0,45 μm de diâmetro de poro. O filtrado foi utilizado na análise de carboidratos totais e o retentado foi descartado. O filtrado foi tratado com mistura clarificante à base de óxido de alumínio na proporção de 0,004 g de clarificante por mL de amostra. O objetivo foi reduzir a influência dos pigmentos na quantificação dos carboidratos. Os teores de carboidratos totais foram analisados pelo método de Fenol-Sulfúrico (Dubois et al., 1956). Em tubos de ensaio, 1 mL de cada amostra foi diluída em 25 μL de solução a 80% (m/v) de fenol P.A. e 2,5 mL de ácido sulfúrico PA ($d = 1,84$). As soluções foram homogeneizadas e, em seguida, mantidas em repouso à temperatura ambiente por 20 min. Em seguida, as amostras foram novamente homogeneizadas em Vortex e a leitura espectrofotométrica foi feita a 490 nm em espectrofotômetro UV-Mini 1240 (Shimadzu Co.). Uma amostra em branco foi utilizada como referência, sendo composta por 1 mL de água destilada em substituição às amostras de filtrado. Os teores de carboidratos totais foram expressos como o resultado após leitura espectrofotométrica contra uma curva de calibração de glicose (solução-mãe: 1 mg mL^{-1}) no intervalo de 100 a 1.000 μg .

3.5.2. Análise de fenólicos totais, flavonoides totais, lignina, hemicelulose e celulose

Amostras congeladas das raízes de três indivíduos de cada espécie foram fragmentadas e pesadas. Cinco gramas de cada amostra foram colocadas em envelopes de papel de filtro. Em seguida, foi realizada a extração de componentes extrativos (terpenoides, terpenos, gorduras, ceras e outros compostos responsáveis por cor, cheiro, propriedades abrasivas, dentre outros) utilizando etanol 95% como solvente polar em aparato de Soxhlet (Ferraz et al., 2000). O extrato etanólico foi utilizado nas análises de fenólicos totais e flavonoides totais e, do material sólido, foram quantificadas a concentração de lignina, hemicelulose e celulose.

3.5.2.1. Quantificação de fenólicos e flavonoides totais

Os fenólicos totais foram determinados misturando 100 μL do extrato etanólico das amostras com 900 μL de água ultrapura. Em seguida, foi adicionado 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído 1:10 (v/v) com água ultrapura e 2,5 mL de

Na_2CO_3 4% (m/v). Após 40 min, foram feitas leituras em espectrofotômetro UV-visível a 725 nm (Nozella, 2001).

Foi realizada uma solução com 0,5 mL do extrato etanólico, 4,3 mL de etanol 80% (v/v), 0,1 mL de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 10% (m/v) e 0,1 mL de acetato de potássio (1M). Após 40 minutos em repouso à temperatura ambiente, foi realizada leitura de absorbância em espectrofotômetro UV-visível a 415 nm (Park et al., 1995). A curva padrão foi realizada com rotina e os resultados expressos em rotina por 100 gramas de raízes.

3.5.2.2. Determinação de lignina, hemicelulose e celulose

O material sólido foi seco por 12 horas em temperatura ambiente. Um grama de cada amostra foi utilizado na determinação da umidade através de gravimetria. Em seguida, foram pesados 0,3 g de massa seca em tubos de ensaios e iniciada a hidrólise ácida com a adição de 3 mL de H_2SO_4 (72% v/v; $d=1,86$) e 79 mL de água deionizada. As amostras ficaram em banho-maria por uma hora, a 30 °C com agitação de 75 rpm. Por fim, o material foi colocado em autoclave a 1 atm e 121 °C, por uma hora (Ferraz et al., 2000).

O hidrolisado foi filtrado a vácuo em cadinho poroso nº 3 e o material retido foi seco em estufa a 105 °C por uma hora e meia. A concentração de lignina insolúvel foi feita por gravimetria. A parte filtrada foi analisada em espectrofotômetro (205 nm), sendo considerado o coeficiente de extinção da lignina igual a 105 $\text{L.g}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. A partir do material filtrado também foram determinadas as concentrações de celulose e hemicelulose.

A concentração de celulose foi determinada como função das concentrações de glicose e 5-hidroximetil furfural (HMF). A glicose foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência utilizando um Cromatógrafo Líquido Ultra Rápido (HPLC) com detector de espalhamento de luz evaporativo a baixa temperatura (ELSD-LT). Os resultados foram comparados contra curva de calibração utilizando solução padrão do analito. As condições de trabalho foram (Ogata, 2013): coluna Aminex HPX-87H, água ultra pura como fase móvel, fluxo de 0,6 mL.min^{-1} , temperatura de termoestatização da coluna a 45 °C, temperatura do detector a 80 °C com ganho de 7 e o gás de nebulização foi o N_2 a 350 kPa.

O HMF também foi determinado utilizando o HPLC. O detector acoplado foi o Diode Array Detector (DAD), sendo as condições de corrida (Ogata, 2013): coluna Shim-pack VP-ODS 5 μ m, solução de acetronitrila e água (1:8) com 1% de ácido acético como fase móvel, fluxo de 0,8 mL.min⁻¹, temperatura de termoeestatização da coluna a 25 °C e o comprimento de onda analisado foi 275 nm.

A concentração de hemicelulose foi em função das concentrações de xilose, ácido acético e furfural. A quantidade de xilose foi obtida junto à corrida de glicose; enquanto que o furfural foi determinado simultaneamente com a análise de HMF. Por fim, o ácido acético também foi quantificado utilizando o HPLC/DAD na seguinte disposição (Ogata, 2013): coluna Aminex HPX-87H, H₂SO₄ (50 mM) como fase móvel, fluxo de 0,5 mL min⁻¹, temperatura do forno foi a 45 °C e comprimento de onda analisado foi 210 nm.

Para as análises estatísticas foi considerado o experimento inteiramente casualizado com dois tratamentos (espécies) e três repetições (amostras de raízes de três diferentes indivíduos). Todos os resultados foram submetidos ao teste t ($p < 0,05$ e $p < 0,01$) através do software Assistat.

4. RESULTADOS

4.1. Parte aérea

4.1.1. Proteção das gemas

Em *E. dysenterica* e *E. puniceifolia* além da gema apical dos ramos (Figura 3 A-B), nas três regiões nodais subsequentes, acima da gema axilar (Figuras 3 C-D) ocorre uma gema acessória (Figura 3 E-F, setas). Em todas as gemas, junto ao meristema apical caulinar (MAC) ocorrem coléteres (Figuras 3 A,D, setas) os quais serão descritos num item separado. O MAC é protegido por primórdios foliares com muitos tricomas unicelulares não glandulares (Figura 3 A-K). Tais tricomas possuem espessamento parietal em celulose (Figura 3 B, inset) e podem acumular compostos fenólicos (Figura 3 H-K). Nas demais células epidérmicas e nas células subepidérmicas, em especial, aquelas voltadas para a face abaxial dos primórdios foliares também se observa o acúmulo de fenóis (Figura 3 H). No mesofilo há idioblastos cristalíferos (Figura 3 G) e outros que acumulam fenóis (Figura 3H). Nos primórdios foliares mais desenvolvidos há cavidades de óleo (Figura 3F). Os cristais também estão presentes nas gemas abaixo do MAC (Figura 3G).

Figura 3: Gemas aéreas de *Eugenia dysenterica* (A, C, D-G) e *E. puniceifolia* (B, H-K). B,C,E-I. Seções longitudinais. B e G. Análise sob luz polarizada. A. Gema terminal e gemas axilares protegidas pela densa pilosidade. Observar a presença de coléteres (setas). B. Gema terminal com primórdios foliares providos de tricomas não glandulares (TNG). Observar a birrefringência das paredes dos TNG e a presença de cristais (setas). No inset, observa-se a parede espessa dos TNG corada pelo Calcofluor White e analisada em microscópio de fluorescência. C. Gema axilar protegida pela densa pilosidade (tracejado). D. Região nodal com coléteres laterais (setas) próximos às gemas. E-F. Gemas acessórias (setas) e as gemas axilares protegidas pelos primórdios densamente pilosos. Cavidades de óleo (pontas de seta). G. Gema axilar com primórdios e a porção abaixo do meristema apical providos de cristais. H. Gema axilar. Observar nos primórdios foliares o conteúdo dos tricomas, das células da epiderme, da camada subepidérmica e do mesofilo reagindo positivamente com o cloreto férrico. I-K. TNG com acúmulo de compostos fenólicos evidenciados com cloreto férrico.

4.1.2. Coléteres

Nas duas espécies estudadas, os coléteres já estão presentes nos ápices caulinares ocupando posição lateral e intrapeciolar (Figura 4 A-E). O número e o tamanho variam, porém o formato é mais constante. Há apenas um coléter inserido nas laterais do primórdio foliar ao nível da região nodal (Figura 4 A,B). Na posição intrapeciolar, em geral, há seis coléteres (Figura 4 C,D). Os tamanhos variam de 407 a 780 μm e o diâmetro circular (Figura 4 E,F) é menor no ápice em relação à base (Figura 4D). Alguns coléteres são curto-pedunculados (Figura 4 G) e outros sésseis.

Em ambas as espécies de *Eugenia* analisadas, os coléteres são emergências, que se originam na face adaxial dos primórdios foliares, formadas a partir de divisões das células do meristema fundamental e da protoderme (Figura 4 E-F). Não há participação do procâmbio, portanto os coléteres não são vascularizados. Na fase secretora são translúcidas (Figura 4 D) e constituem de um eixo alongado de células parenquimáticas revestidas pela epiderme de células não dispostas em paliçada recobertas por cutícula delgada (Figura 4 G).

A secreção de aspecto pegajoso (Figura 3 H,I) reage positivamente ao teste com PAS (Figura 4 J,K) e ao vermelho de rutênio (Figura 4 L-N) confirmando a sua natureza mucilaginosa. A reação com Aniline blue black foi negativa. A secreção acumula-se no citossol e entre os amplos espaços que se formam no parênquima (Figura 4 J,K, setas) e é eliminada entre as células da epiderme (Figura 4 K, pontas de seta) no ápice (Figura 4 L), ao longo do eixo (Figura 4 N, seta) e na base (Figura 4 M) onde se acumula sobre a gema axilar (Figura 4 C, M, seta). A senescência inicia-se no ápice do coléter com o colapso das células (Figura 4 J, inset) que passam a acumular compostos fenólicos após a secreção. Em algumas amostras verificou-se a presença de bactérias associadas à secreção liberada por essas estruturas (Figura 4 I).

Figura 4: Coléteres de *Eugenia dysenterica* (A,C,D,E,F,I,J,K,M) e *E. punicifolia* (B,G,H,L,N). Eletromicrografias de varredura (A-C,H,I). Seções transversais (E,F,J,K) e longitudinal (G) do ápice caulinar. Fotomicrografias em estereomicroscópio (D,L-N). A. Coléteres (*) liberando secreção (seta) no ápice caulinar. B. Coléter (*) inserido na lateral do primórdio foliar ao nível da região nodal. A seta indica a gema axilar. C-D. Vista frontal após a remoção do primórdio foliar mostrando coléteres intrapeciolares protegendo a gema axilar (seta). E. Coléteres no ápice caulinar vegetativo. Observar o diâmetro circular e a presença dos amplos espaços intercelulares no parênquima em alguns deles. F. Detalhe do setor indicado em E. Observar dois coléteres em fase inicial de formação na face adaxial dos primórdios foliares (setas). G. Coléter lateral corado pelo azul de toluidina. H-I. Secreção de aspecto pegajoso. J,K. Coléter após reação positiva com PAS. J. Observar a secreção no amplo espaço intercelular (seta). No inset, o detalhe do ápice mostrando células colapsadas após a secreção. K. Secreção acumulada entre as células do parênquima (seta) e liberada entre as células da epiderme (pontas de seta). L-N. Coléteres exibindo reação positiva com vermelho de rutênio no ápice (L), ao longo do eixo (seta em M) e na base (N) próximos da gema axilar (seta em N). Ca = caule; Pe = pecíolo.

4.2. Sistema subterrâneo

4.2.1. Banco de gemas

O número de gemas, localizadas nos primeiros 10 centímetros do solo, variou entre os indivíduos da mesma espécie (Tabela 1). A variação deveu-se ao grau de desenvolvimento das estruturas subterrâneas (Figura 1 C,D,F,H,I,K).

Tabela 1: Número de gemas por indivíduo de *Eugenia dysenterica* e *E. punicifolia*.

Espécie	Gemas/indivíduo		
	1	2	3
<i>Eugenia dysenterica</i>	162	17	253
<i>Eugenia punicifolia</i>	24	40	109

As estruturas que compreendem a região de 10 centímetros a partir do nível do solo apresentavam múltiplas ramificações (Figura 5 A, E) de natureza caular (Figura 5 D), portanto as gemas eram axilares (Figura 5 D). As gemas estavam situadas preferencialmente nos primeiros cinco centímetros e, às vezes, somente eram visualizadas após a remoção das escamas protetoras (Figura 5 B-C) ou do revestimento (Figura 5 F).

Figura 5: Sistemas subterrâneos com múltiplas ramificações de *Eugenia dysenterica* (A) e *E. puniceifolia* (E) na região da contagem das gemas (entre linhas tracejadas). Gema de *E. dysenterica* protegida por escama (B) e a sua visualização após a remoção da escama (C, seta). Corte transversal de uma ramificação de *E. dysenterica*. Observar a natureza caulinar e a lacuna de duas gemas axilares (setas) (D). Gema (seta) de *E. puniceifolia* protegida pelo revestimento (F).

4.3. Anatomia dos sistemas subterrâneos

O sistema subterrâneo de *Eugenia dysenterica* é formado por um eixo lenhoso cuja porção superior é caulinar e emite vários ramos aéreos enquanto a porção inferior é constituída por uma raiz axial espessada que pode atingir até um metro de profundidade (Figura 6 A-D). O tamanho da porção caulinar varia entre os indivíduos e pode emitir raízes adventícias com porções delgadas e tuberizadas (Figura 6 A, iii e iv). A periderme que reveste todo o eixo subterrâneo é constituída por camadas de células suberizadas (Figura 6 E) contendo compostos fenólicos alternadas com camadas de células cujas paredes periclinais internas são

espesadas em pectina (Figura 6 F). No cilindro vascular, no sistema axial do floema secundário são observados grupos de esclereides (Figura 6 G, setas) e as células do parênquima acumulam amido e compostos fenólicos. As células do parênquima radial são dilatadas na porção mais externa e acumulam compostos fenólicos e amido (Figura 6 B, seta). As células floemáticas que acumulam fenóis têm conteúdo de coloração natural alaranjado. Nas porções não tuberizadas do eixo subterrâneo, o xilema secundário apresenta menos parênquima axial e radial e mais elementos lignificados (Figura 6 H,I) quando comparado com as porções tuberizadas (Figura 6 J,K). Portanto, nas porções tuberizadas o acúmulo de amido é maior (Figura 6 K). O caule apresenta possui floema secundário interno (Figura 6 C), com acúmulo de compostos fenólicos no parênquima radial, e medula proeminente constituída por células parenquimáticas contendo compostos fenólicos e grãos de amido escassos. Nas porções radiculares, o xilema primário exarco ocupa o centro do órgão (Figura 6 D).

Figura 6: A. Sistema subterrâneo de *Eugenia dysenterica*. B. Detalhe do eixo lenhoso cuja porção superior é caulinar (i) e a porção inferior é radicular (ii). C-K. Seções transversais. C-D. Centro do cilindro vascular da porção caulinar (i) e radicular (ii), respectivamente. E-F. Periderme de todo o eixo subterrâneo com camadas de células suberizadas coradas pelo Sudan black B (E) alternadas com camadas de células espessadas em pectina evidenciada pelo vermelho de rutênio (F). G. Floema secundário com grupos de esclereides (G, setas) e células do parênquima axial e radial contendo compostos fenólicos evidenciados pelo cloreto férrico. H-I. Porções não tuberizadas do eixo subterrâneo mostrando o xilema secundário com mais elementos lignificados evidenciados pela safranina (H) e na polarização (I). J-K. Porções tuberizadas com mais parênquima vascular (J, luz polarizada) e maior acúmulo de amido evidenciado pelo cloreto de zinco iodado (K). Linha tracejada = nível do solo. fi= floema interno.

Em *Eugenia puniceifolia* o sistema subterrâneo espessado era mais homogêneo entre os indivíduos analisados (Figura 1 I-K). O caule subterrâneo forma porções horizontais pelas quais ramos aéreos e as raízes adventícias são emitidos. A raiz axial e as raízes adventícias ocupam uma região mais superficial do solo e, assim como o caule, são distribuídas num plano mais horizontal (Figura 7 A). O revestimento no eixo caulinar de *E. puniceifolia* difere das raízes, uma vez que a periderme apresenta camadas de células com as paredes tangenciais e radiais espessadas em lignina alternadas com camadas de células suberizadas (Figura 7 B,C). No cilindro vascular do caule, o floema secundário é bem desenvolvido com raios floemáticos dilatados, cuja dilatação resulta do alongamento periclinal das células e de divisões anticlinais (Figura 7 D,E). Há cristais de oxalato de cálcio e esclereídes no floema secundário (Figura 7 F). Várias células do parênquima floemático contêm substância de coloração natural alaranjada e outras de coloração amarronzada (Figura 7 G), ambas reagem positivamente com cloreto férrico e apresentam grãos de amido (Figura 7 H). Também no raio xilemático, no parênquima do floema interno e no parênquima medular ocorrem células com conteúdo de cor alaranjada (Figura 7 I) que reage positivamente para compostos fenólicos (Figura 7 J), mas apenas na medula são verificados grãos de amido.

Nas raízes, independente do grau de espessamento, o revestimento é similar ao descrito para o caule e raízes de *E. dysenterica*, com camadas alternadas de células suberizadas e de células com espessamentos em pectina (Figura 7 K,L). No cilindro vascular, o floema secundário também apresenta células parenquimáticas contendo grãos de amido algumas das quais possuem conteúdo natural alaranjado (Figura 7 M) de natureza fenólica (Figura 7 N) como observado em *E. dysenterica*. Assim como no caule, os raios floemáticos apresentam divisões anticlinais e expansão tangencial das células cuja intensidade depende do grau de espessamento das raízes (Figura 7 O). Há cristais de oxalato de cálcio e esclereídes no parênquima floemático (Figura 7 P). No xilema secundário as células do raio acumulam compostos fenólicos (Figura 7 N) e grãos de amido. Internamente ao xilema primário exarco as células podem estar lignificadas (Figura 7 Q) ou não (Figura 7 R).

Figura 7: A. Sistema subterrâneo de *Eugenia punicifolia*. Seções transversais do caule (B-J) e das raízes (K-R). C e K. Seções coradas com Sudan Black B e vermelho de rutênio. F e P. Seções observadas sob luz polarizada. N. Seção de material fixado em sulfato ferroso em formalina. B-C. Periderme com camadas de células de paredes espessadas em lignina coradas pela safranina (B) alternadas com camadas de células suberizadas coradas pelo Sudan black B (C). D-E. Raios floemáticos dilatados (setas). F. Floema secundário com cristais prismáticos e esclereides. G-H. Células do parênquima floemático contendo grãos de amido e coloração alaranjada (G) de natureza fenólica evidenciada pelo cloreto férrico (H). I-J. Células do raio xilemático, parênquima do floema interno e medular com conteúdo de cor alaranjada (I) que reage positivamente com cloreto férrico (J). K-L. Periderme com camadas de células suberizadas e de células com espessamentos em pectina. M-N. Células de coloração alaranjada (M) de natureza fenólica (N). O. Cilindro vascular da raiz espessada. Observar os raios floemáticos dilatados (setas). P. Floema secundário com cristais prismáticos e esclereides. Q-R. No centro do cilindro vascular as células podem estar lignificadas (Q) ou não (R). Linha tracejada = nível do solo. fi = floema interno.

4.4. Análises químicas das raízes

O teor de carboidratos totais livres nas raízes de *Eugenia dysenterica* (4,17 g 100g⁻¹) e de *E. puniceifolia* (4,46 g 100g⁻¹) não diferiu significativamente (Tabela 2). O conteúdo refere-se à concentração de açúcar solubilizada em meio aquoso após maceração e o material insolúvel (fibras) não foi analisado.

Tabela 2. Carboidratos totais livres (em g 100g⁻¹) em amostras de raízes de *Eugenia dysenterica* e *E. puniceifolia*. Rep = repetição biológica; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação. Concentrações seguidas das mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 1% e 5%.

Amostra	Carboidratos Totais (g 100g ⁻¹)					
	Rep #1	Rep #2	Rep #3	Média	DP	CV
<i>Eugenia dysenterica</i>	2,77	5,45	4,30	4,17 ^a	1,35	32,3%
<i>Eugenia puniceifolia</i>	5,47	4,60	3,31	4,46 ^a	1,09	24,3%

Houve diferença significativa entre as espécies em relação às concentrações de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais nas raízes (Tabelas 3 e 4, respectivamente).

As concentrações de compostos fenólicos totais em raízes de *E. puniceifolia* e *E. dysenterica* foram 13,66 e 2,54 mg equivalente ácido tânico por 100 g de raiz, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração de compostos fenólicos totais em amostras de raízes de *Eugenia dysenterica* e *E. puniceifolia*. Rep = repetição biológica; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação. Concentrações seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey a 1% de significância.

Amostra	Fenólicos Totais (mg equivalente ácido tânico . 100 g ⁻¹ de raiz)					
	Rep #1	Rep #2	Rep #3	Média	DP	CV
<i>E. dysenterica</i>	2,86 ± 0,1	2,24 ± 0,6	2,51 ± 0,2	2,54 ^b	0,31	12%
<i>E. puniceifolia</i>	13,46 ± 0,5	13,80 ± 0,5	13,71 ± 0,8	13,66 ^a	0,17	1%

As concentrações de flavonoides totais em raízes de *E. puniceifolia* e *E. dysenterica* foram 7,28 e 1,18 mg por 100 g de raiz, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Concentração de flavonoides totais em amostras de raízes de *Eugenia dysenterica* e *E. punicifolia*. Rep = repetição biológica; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação. Concentrações seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey a 1% de significância.

Amostra	Flavonoides Totais (mg 100 g ⁻¹)					
	Rep #1	Rep #2	Rep #3	Média	DP	CV
<i>E. dysenterica</i>	1,79 ± 0,1	0,49 ± 0,1	1,26 ± 0,0	1,18 ^b	0,7	56%
<i>E. punicifolia</i>	8,23 ± 0,3	5,91 ± 0,0	7,70 ± 0,2	7,28 ^a	1,2	17%

Não houve diferença nos teores de lignina, hemicelulose e celulose nas raízes das duas espécies (Tabela 5).

Tabela 5. Teores de lignina, hemicelulose e celulose em amostras de raízes de *Eugenia dysenterica* e *E. punicifolia*. Rep = repetição biológica; DP = desvio padrão. Concentrações seguidas das mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 1% de significância.

Amostras	Celulose (%)		Hemicelulose (%)		Lignina (%)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<i>E. dysenterica</i>	47,14 ^a	19,2	9,04 ^a	0,7	29,00 ^a	1,8
<i>E. punicifolia</i>	40,64 ^a	4,0	12,05 ^a	2,7	36,86 ^a	2,0

5. DISCUSSÃO

Os estudos que enfatizam as estratégias de proteção das gemas aéreas de espécies adaptadas a ambientes propensos a distúrbios, como ocorrem no Cerrado, são de grande relevância para entender o quão amplo são os mecanismos de regeneração das plantas (Charles-Dominique et al., 2015). Entretanto, apesar das variações de formas e tipos de proteção com considerações funcionais importantes, a anatomia das gemas localizadas nos órgãos aéreos é raramente estudada (Burrows, 2008).

No presente trabalho foi possível observar que *Eugenia dysenterica* e *E. puniceifolia* apresentam estratégias de proteção das gemas aéreas semelhantes às aquelas encontradas em espécies de Myrtaceae australianas como a presença de primórdios foliares com muitos tricomas não glandulares voltados para a face abaxial (Burrows, 2008) que podem estar acumulando compostos fenólicos (Burrows et al., 2008). Os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes em diversas espécies de *Eugenia* (Auricchio & Bacchi, 2003; Takao et al., 2015; Armstrong et al., 2012) e estão envolvidos com os mecanismos de defesa química das plantas contra patógenos (Taiz et al., 2017), herbivoria (Bellingham & Sparrow, 2000), poluição, produção de substâncias alelopáticas e minimizam a exposição dos órgãos aéreos a raios UV (Lambers et al., 2008). Segundo Bell et al. (1999), os tricomas que protegem as gemas, além de acumular compostos fenólicos podem ser suberizados e/ou lignificados e este conjunto pode desempenhar uma dupla função de defesa da planta, atuando também na redução da dessecação. A proteção das gemas também pode estar associada às cavidades secretoras encontradas nas folhas, pois as substâncias lipofílicas presentes nestas podem repelir insetos, reduzindo a herbivoria (Castro & Machado, 2003). Cristais de oxalato de cálcio e coléteres também são características que conferem proteção às gemas (Bell et al., 1999) e estão presentes nas espécies de *Eugenia* estudadas.

As cavidades secretoras são frequentemente encontradas em *Eugenia* (Fontenelle et al., 1994; Armstrong et al., 2012; Donato & Morretes, 2009), podendo ser visualizadas morfológicamente como pontuações translúcidas (Defaveri et al., 2011), que é uma das características diagnósticas na família (Martins-da-Silva et al., 2014). Outros gêneros como *Eucalyptus* (Santos et al., 2008) e *Myrciaria* (Silva et

al., 2013; Pacheco-Silva & Donato, 2016) também apresentam cavidades com conteúdo lipofílico. Assim como as cavidades, os cristais são estruturas comuns em Myrtaceae (Pacheco-Silva & Donato, 2016; Retamales et al., 2014) e são associados aos mecanismos de defesa das plantas contra ataque de herbívoros, como defesa antinutritiva (Korth et al., 2006).

Os coléteres presentes neste trabalho são do tipo cônico seguindo a classificação proposta por Silva et al. (2012), pois o formato é circular em seção transversal e o diâmetro decrescente do ápice para a base. Este tipo de coléter foi observado em 19 espécies da subfamília Myrtoideae localizados próximos ao meristema apical caulinar no ápice e em axilas foliares e descritos pela primeira vez por Silva et al. (2012). Entretanto, este é o primeiro registro de coléteres em *E. dysenterica* e *E. puniceifolia*, que são emergências de origem protodérmica e do meristema fundamental, característica observada em outras famílias botânicas (Coelho et al., 2013; Vitarelli & Santos, 2009; Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000a).

Nos coléteres de Apocynaceae (Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000a; Martins et al., 2010b) e Rubiaceae (Coelho et al., 2013) as células epidérmicas em paliçada, são responsáveis pela secreção do exsudato. No entanto, nas espécies estudadas e nas Myrtaceae analisadas por Silva et al. (2012) as células epidérmicas não são alongadas radialmente, mas apresentam citoplasma denso e reação positiva ao teste para polissacarídeos totais. Tais características também são observadas nas células do parênquima ao longo de todo o eixo do coléter, exceto no pedúnculo quando este está presente. O padrão homogêneo de células do parênquima verificado nos coléteres das espécies de *Eugenia* no presente estudo e por Silva et al. (2012) também tem sido descrito nos coléteres de leguminosas (Paiva & Machado, 2006; Coutinho et al., 2015; Silva et al., 2017). Em *Eugenia dysenterica* e em *E. puniceifolia*, este parênquima, antes da fase secretora apresenta espaços intercelulares típicos do tecido fundamental, porém durante a fase secretora observa-se o aumento destes espaços e o acúmulo do exsudato nos mesmos. Este acúmulo intercelular da secreção já havia sido relatado em outras Myrtaceae (Silva et al., 2012) e em *Hymenaea stigonocarpa* - Fabaceae: Caesalpinioideae (Paiva & Machado, 2006). Os últimos autores verificaram que em todas as células parenquimáticas do eixo do coléter há compostos pécticos nos espaços

intercelulares e no citossol como aqui descrito para as duas espécies de *Eugenia* analisadas. Os coléteres não são vascularizados como verificado em outras espécies (Silva et al., 2017; Ribeiro et al., 2017; Martins et al., 2010b) e pode indicar que o transporte nessas estruturas seja feito via simplasto (Silva et al., 2012). A secreção nos coléteres em *E. dysenterica* e *E. punicifolia* é liberada através de espaços que se formam entre as células epidérmicas. Essa característica já foi observada em espécies de Apocynaceae (Appezato-da-Glória & Estelita, 2000a; Martins et al., 2010b), entretanto em Myrtaceae é o primeiro registro do processo de liberação da secreção.

A secreção observada nos coléteres das espécies analisadas reage positivamente para detecção de polissacarídeos. Este tipo de secreção é uma característica geralmente encontrada em coléteres (Silva et al., 2017; Ribeiro et al., 2017), confirmando a sua natureza mucilaginosa, responsável pela função principal dos coléteres, que é proteger os meristemas (Ribeiro et al., 2017). A presença de secreção e a localização dos coléteres evidencia a importância dessas estruturas para a proteção de gemas contra a luz solar excessiva e altos níveis de transpiração, reduzindo o dessecamento (Oliveira et al., 2017), proliferação de fungos (Ribeiro et al., 2017) e pode ser considerada como um fator adaptativo na subfamília Myrtoideae (Silva et al., 2012). Essa proteção é dada pela propriedade de absorção de água do ar mesmo em condições de baixa umidade (Oliveira et al., 2017) e textura viscosa dos compostos secretados, que pode ser constituído de mucilagem, lipídios e proteínas ou por uma mistura de ambos (Fahn, 1979) e também pode conter compostos fenólicos (Demarco, 2008).

Coléteres presentes em outras espécies da subfamília Myrtoideae apresentam uma coloração acastanhada que se inicia no ápice quando a senescência é iniciada pelo fim da fase secretora (Silva et al., 2012). Essa característica já foi observada em coléteres de outras famílias (Ribeiro et al., 2017; Appezato-da-Glória & Estelita, 2000a) e essa mudança de coloração tem sido associada à oxidação de compostos fenólicos como produto final da senescência nas células do ápice (Coelho et al., 2013), seguido por um colapso dessas células (Souza, 2014) como verificado em *E. dysenterica* e *E. punicifolia*.

Os sistemas subterrâneos das espécies analisadas são sóbols (Appezato-da-Glória, 2015) e apresentam características morfoanatômicas e químicas

relevantes, como o alto número de gemas e o acúmulo de compostos de reserva e de proteção, que podem ter sido determinantes na sobrevivência dessas plantas sob o longo cultivo do *Pinus* e contribuído para o rebrotamento das mesmas após a remoção da cultura em 2012.

Os estudos que enfatizam o banco de gemas subterrâneo em espécies do Cerrado têm demonstrado uma maior concentração das gemas na porção do órgão mais próxima do nível do solo (Filartiga et al., 2017a,b; Bombo et al., 2014; Appezzato-da-Glória & Cury, 2011; Alonso & Machado, 2007) como aqui verificado. O grau de proteção dessas gemas é uma característica importante na manutenção de um banco de gemas viável. Tais gemas são protegidas pelo solo (Alonso & Machado, 2007; Vesik & Westoby, 2004) que tem como uma das características ser um excelente isolante térmico, protegendo as gemas contra mudanças ambientais relacionadas à temperatura (Clarke et al., 2013). No entanto, além da proteção do solo, as gemas subterrâneas em *E. dysenterica* são protegidas por escamas espessas o que pode ser uma proteção adicional inclusive contra agentes presentes no próprio solo. Também tem sido observada uma correlação entre a manutenção do banco de gemas e o acúmulo de carboidratos de reserva nas raízes (Appezzato-da-Glória et al., 2008) com a persistência e a regeneração dos órgãos aéreos danificados após distúrbios ambientais (Abdalla et al., 2016; Alonso & Machado, 2007). Dentre os carboidratos de reserva, o amido é o mais abundante entre as plantas vasculares (Moraes et al., 2016) e ocorre com frequência em órgãos subterrâneos de espécies do Cerrado (Alonso & Machado, 2007; Lopes-Mattos et al., 2013) inclusive nas *Eugenia* aqui analisadas. O amido fornece energia direta no processo de rebrotamento (Orthen, 2001) e o carbono estrutural para a formação de novos tecidos dos rebrotes (Moraes et al., 2016).

Em *Eugenia dysenterica* e *E. puniceifolia*, assim como em órgãos subterrâneos espessados de outras espécies, o acúmulo de reservas geralmente está relacionado ao incremento de células no parênquima vascular (Abdalla et al., 2016; Appezzato-da-Glória, 2015; Bell et al., 1996). Em *E. dysenterica* o acúmulo de amido é mais proeminente nas células do parênquima axial e radial do xilema secundário, enquanto em *E. puniceifolia* ocorre nas células do parênquima floemático. Nas duas espécies não há variação na atividade cambial para a produção do parênquima vascular, porém há divisões anticlinais e expansões das paredes tangenciais das

células do parênquima floemático que promovem o crescimento em espessura do órgão, em especial, em *E. puniceifolia*. Soffiatti e Angyalossy-Alfonso (1999) também observaram dilatações das células do parênquima radial, com divisões e expansões celulares em direção à periferia do órgão, formando um tecido de arranjo desordenado com a presença de cristais em *Eugenia cerasiflora* e *E. uniflora* e grupos de esclereídes em *E. uniflora*. Tanto em *Eugenia dysenterica* quanto em *E. puniceifolia* são observados cristais e grupos de esclereídes lignificadas no floema secundário importantes para a proteção do eixo subterrâneo principalmente contra ataque de insetos (Hudgins et al., 2003). Na porção caular subterrânea de ambas as espécies e, em *Eugenia pyriformis* (Armstrong et al., 2012), além do floema externo verifica-se o floema interno ambos com acúmulo de compostos fenólicos nas células do parênquima radial. A presença de floema interno é uma característica comum às Myrtaceae (Metcalf & Chalk, 1950). Nas raízes das duas espécies a periderme apresenta alternância de camadas de células de paredes suberizadas e de células com espessamentos parietais em pectina. A suberização das paredes celulares confere uma barreira de proteção contra a perda de água (Franke & Schreiber, 2007), por possuir uma característica hidrofóbica (Abdalla et al., 2016) e também auxilia na proteção das estruturas contra o ataque de patógenos (Franke & Schreiber, 2007). Por outro lado, dada as propriedades hidrofílicas da pectina (Paiva et al., 2009) as paredes com espessamentos pectínicos podem estar retendo umidade no tecido de revestimento. Na periderme do caule de *Eugenia puniceifolia* foi verificada a presença de camadas de células com paredes lignificadas como já relatado em outras Myrtaceae (Armstrong et al., 2012; Soffiatti & Angyalossy-Alfonso, 1999). A presença de compostos fenólicos nas células da periderme nas raízes e caules aqui analisados é uma característica frequente em órgãos subterrâneos de espécies que ocorrem no Cerrado (Appenzato-da-Glória & Cury, 2011; Joaquim et al., 2014).

Além dos carboidratos de reserva nas espécies de *Eugenia* estudadas, outros compostos podem estar diretamente relacionados à proteção das estruturas subterrâneas e, portanto com a sobrevivência e o potencial de rebrotamento dessas plantas.

Alguns compostos fenólicos como o hidroxibenzoato, catequinas, gliceolina e taninos podem diminuir a digestibilidade de herbívoros e atuar como fitoalexinas,

fitoanticipinas e nematicidas (Bhattacharya et al., 2010; Kefeli et al., 2003; Akhtar & Malik, 2000). Além disto, estes compostos podem se polimerizar e formar lignina, consequentemente fortalecendo as paredes celulares (Bhattacharya et al., 2010; Kefeli et al., 2003). Nas espécies estudadas, os compostos fenólicos foram detectados, não só na periderme, mas também nas células dos parênquimas floemático, xilemático e medular (quando presente). A diferença das concentrações de compostos fenólicos em *E. dysenterica* e *E. puniceifolia* pode indicar que as raízes de *E. puniceifolia* possuem maior probabilidade de ação antioxidante e possível proteção contra ataques de nematoides e pragas. Entretanto, para entender a função fisiológica exata nas espécies analisadas é necessária a identificação e quantificação de cada fenólico, uma vez que eles possuem funções específicas (Yi et al., 2011). Além dos compostos fenólicos, os flavonoides também desempenham diversas funções de proteção nas plantas. As antocianinas garantem a pigmentação, flavonas protegem contra danos causados por raios UV e isoflavonas estão associadas à polimerização da lignina para suporte e ação antimicrobiana (Ferrer et al., 2008). A diferença de concentrações desses compostos nas espécies analisadas pode indicar que *E. puniceifolia* possui uma maior possibilidade de beneficiamento pela ação dos flavonoides. Entretanto, assim como os compostos fenólicos, para entender a função fisiológica exata é necessária a identificação e quantificação do tipo de flavonoide presente nestas plantas.

Os teores de lignina, celulose e hemicelulose não diferiram entre as espécies analisadas, sendo que as concentrações de hemicelulose foram semelhantes às encontradas em espécies dos gêneros *Populus* e *Salix* (Salicaceae) (Hathaway & Penny, 1975). A concentração de celulose e hemicelulose nas raízes das espécies analisadas foram superiores aos descritos em raízes de *Pseudotsuga menziesii* - Pinaceae (entre 19 e 28%) e *Fagus sylvatica* - Fagaceae (entre 25 e 30%), porém inferiores a concentração em *Castanea sativa* - Fagaceae ($60 \pm 2,2\%$) e *Pinus pinaster* - Pinaceae ($69,9 \pm 2,3\%$) (Thomas et al., 2014).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os dados presentes neste trabalho podemos inferir que o alto grau de proteção das gemas nos órgãos aéreos, a presença e o elevado número de gemas nas estruturas subterrâneas, bem como o acúmulo de compostos de reserva e de proteção nos órgãos subterrâneos pode ter favorecido a permanência de *Eugenia dysenterica* e *E. puniceifolia* na área de Cerrado e o rebrotamento destas após a retirada do *Pinus*. Além disto, as características morfoanatômicas e químicas apresentadas são relevantes para contribuir com os estudos sobre as estratégias de proteção, permanência e regeneração das plantas submetidas a distúrbios ambientais.

REFERÊNCIAS

- Abdalla, D. F., Moraes, M. G., Rezende, M. H., Hayashi, A. H., Carvalho, M. A. M., 2016. Morpho-anatomy and fructans in the underground system of *Apopyros warmingii* and *Ichthyothere terminalis* (Asteraceae) from the cerrado rupestre. The Journal of the Torrey Botanical Society. 143, 69-86.
- Akhtar, M., Malik, A., 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology. 74, 35-47.
- Alonso, A. A., Machado, S. R., 2007. Morphological and developmental investigations of the underground system of *Erythroxylum* species from Brazilian cerrado. Australian Journal of Botany. 55, 749-758.
- Appezzato-da-Glória, B., 2015. Morfologia de Sistemas Subterrâneos de Plantas. Ed. 3i. Belo Horizonte.
- Appezzato-da-Glória, B., Cury, G., 2011. Morpho-anatomical features of underground systems in six Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 83, 981-992.
- Appezzato-da-Glória, B., Cury, G., Soares, M. K. M., Rocha, R., Hayashi, A. H., 2008. Underground systems of Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. The Journal of the Torrey Botanical Society. 135, 103-113.
- Appezzato-da-Glória, B., Estelita, M. E., 2000a. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). Brazilian Journal of Botany. 23, 113-120.
- Appezzato-da-Glória, B., Estelita, M. E., 2000b. The developmental anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson and *M. velutina* (Mart. ex Stadelm.) Woodson (Apocynaceae). Brazilian Journal of Botany. 23, 27-35.
- Armstrong, L., Duarte, M. D. R., Miguel, O. G., 2012. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Eugenia pyriformis*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 22, 475-481.
- Asega, A. F., Nascimento, J. R. O., Carvalho, M. A. M., 2011. Increased expression of fructan 1-exohydrolase in rhizophores of *Vernonia herbacea* during sprouting and exposure to low temperature. Journal of plant physiology. 168, 558-565.
- Auricchio, M. T., Bacchi, E. M., 2003. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 62, 55-61.
- Basting, R. T., Nishijima, C. M., Lopes, J. A., Santos, R. C., Périco, L. L., Laufer, S., Vilegas, W., 2014. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents. Journal of ethnopharmacology. 157, 257-267.
- Bell, A. D., Bell, A., Dines, T. D., 1999. Branch construction and bud defence status at the canopy surface of a West African rainforest. Biological Journal of the Linnean Society. 66, 481-499.

Bell, T. L., Pate, J. S., Dixon, K. W., 1996. Relationships between fire response, morphology, root anatomy and starch distribution in south-west Australian Epacridaceae. *Annals of Botany*. 77, 357-364.

Bellingham, P. J., Sparrow, A. D., 2000. Resprouting as a life history strategy in woody plant communities. *Oikos*. 89, 409-416.

Bezerra, J. C. B., Silva, I. A., Ferreira, H. D., Ferri, P. H., Santos, S. C., 2002. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapia*. 73, 428-430.

Bhattacharya, A., Sood, P., Citovsky, V., 2010. The roles of plant phenolics in defense and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Molecular Plant Pathology*. 11, 705-719.

Bombo, A. B., de Oliveira, T. S., de Oliveira, A. S.S., Rehder, V. L. G., Appezzato-da-Glória, B., 2014. Anatomy and essential oil composition of the underground systems of three species of *Aldama* La Llave (Asteraceae). *Journal of the Torrey Botanical Society*. 141, 115-125.

Bowman, D.M.J.S., Murphy, B.P., 2010. Fire and biodiversity, in: Sodhi, N. S., Ehrlich, P.R. (Eds.) *Conservation Biology for All*. Oxford University Press, New York, pp.163-176.

Brandão, M., 1991. Plantas medicamentosas do cerrado mineiro. *Informe Agropecuário*, 15, 15-20.

Burrows, G. E., 2002. Epicormic strand structure in *Angophora*, *Eucalyptus* and *Lophostemon* (Myrtaceae)—implications for fire resistance and recovery. *New Phytologist*. 153, 111-131.

Burrows, G. E., 2008. *Syncarpia* and *Tristaniopsis* (Myrtaceae) possess specialised fire-resistant epicormic structures. *Australian Journal of Botany*. 56, 254-264.

Burrows, G. E., Chisnall, L. K., 2016. Buds buried in bark: the reason why *Quercus suber* (cork oak) is an excellent post-fire epicormic resprouter. *Trees*. 30, 241-254.

Burrows, G. E., Hornby, S. K., Waters, D. A., Bellairs, S. M., Prior, L. D., Bowman, D. M. J. S., 2008. Leaf axil anatomy and bud reserves in 21 Myrtaceae species from northern Australia. *International Journal of Plant Sciences*. 169, 1174-1186.

Castro, M. M., Machado, S. R., 2003. Células e tecidos secretores. In: Appezzato-da-Glória, B., Carmello-Guerreiro, S.M. (Eds.), *Anatomia Vegetal*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, pp. 179-203.

Charles- Dominique, T., Beckett, H., Midgley, G. F., Bond, W. J., 2015. Bud protection: a key trait for species sorting in a forest–savanna mosaic. *New Phytologist*, 207, 1052-1060.

Clarke, P. J., Lawes, M. J., Midgley, J. J., Lamont, B. B., Ojeda, F., Burrows, G. E., Knox, K. J. E., 2013. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. *New Phytologist*. 197, 19-35.

- Coelho, V. P. M., Leite, J. P. V., Fietto, L. G., Ventrella, M. C., 2013. Colleters in *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae): development, ultrastructure and chemical composition of the secretion. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 208, 579-590.
- Coutinho, Í. A. C., Francino, D. M. T., Meira, R. M. S. A., 2015. New records of colleters in *Chamaecrista* (Leguminosae, Caesalpinioideae SL): structural diversity, secretion, functional role, and taxonomic importance. *International Journal of Plant Sciences*. 176, 72-85.
- Daza, L. D., Fujita, A., Granato, D., Fávaro-Trindade, C. S., Genovese, M. I., 2017. Functional properties of encapsulated Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extract. *Food Bioscience*. 18, 15-21.
- Defaveri, A. C., Arruda, R. C., Sato, A., 2011. Leaf anatomy and morphology of *Eugenia rotundifolia* Casar., Myrtaceae, applied to the authentication of the "abajurú" commercially sold. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 21, 373-381.
- Demarco, D., 2008. Glândulas de órgãos vegetativos aereos e florais de espécies de Asclepiadeae (R. Br.) Duby (Asclepiadoideae, Apocynaceae) de mata atlântica do estado de São Paulo. Universidade Estadual de Campinas. Tese de doutorado.
- Dias-Tagliacozzo, G. M., Itaya, N. M., Carvalho, M., Figueiredo-Ribeiro, R. D. C. L., Dietrich, S., 2004. Fructans and water suppression on intact and fragmented rhizophores of *Vernonia herbacea*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 47, 363-373.
- Donato, A. M., Morretes, B. L. D., 2009. Anatomia foliar de *Eugenia florida* DC.(Myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19, 759-770.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. T., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*. 28, 350-356.
- Durigan, G., Baitello, J. B., Franco, G. A. D. C., Siqueira, M. F., 2004. Plantas do Cerrado Paulista: Imagens de uma paisagem ameaçada. first ed. Páginas & Letras. São Paulo.
- Fahn, A., 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- Ferraz, A., Mendonça, R., Silva, F. T., 2000. Organosolv delignification of white-and brown-rotted *Eucalyptus grandis* hardwood. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 75, 18-24.
- Ferrer J.L., Austin, M.B., Stewart, C., Noel, J.P., 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*. 46, 356-370.
- Fiaschi, P., Pirani, J. R., 2009. Review of plant biogeographic studies in Brazil. *Journal of systematics and evolution*. 47, 477-496.
- Filartiga, A. L., Bombo, A. B., Garcia, V. L., Appezzato-da-Glória, B., 2017 a. Belowground organs of four Brazilian *Aldama* (Asteraceae) species: Morphoanatomical traits and essential oil profile. *South African Journal of Botany*. 113, 150-159.

Filartiga, A. L., Klimešová, J., Appezzato-da-Glória, B., 2017 b. Underground organs of Brazilian Asteraceae: testing the CLO-PLA database traits. *Folia Geobotanica*, 1-19.

Fisher, D. B., 1968. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie*. 16, 92-96.

Fontenelle, G. B., Costa, C. G., Machado, R. D., 1994. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L.(Myrtaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 116, 111-133.

Franke, R., Schreiber, L., 2007. Suberin - a biopolyester forming apoplastic plant interfaces. *Current opinion in plant biology*. 10, 252-259.

Gregory, M., Baas, P., 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany*. 38, 125-174.

Hathaway, R.L., Penny, D., 1975. Root strength in some *Populus* and *Salix* clones. *New Zealand Journal of Botany*. 13, 334-344.

Hayashi, H.A., Appezzato-da-Glória, B., 2009. Resprouting from roots in four Brazilian tree species. *Revista de biología tropical*. 57, 789-800.

Horridge, G. A., Tamm, S. L., 1969. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. *Science*. 163, 817-818.

Hudgins, J. W., Krekling, T., Franceschi, V. R., 2003. Distribution of calcium oxalate crystals in the secondary phloem of conifers: a constitutive defense mechanism?. *New Phytologist*. 159, 677-690.

Hughes, J., McCully, M.E., 1975. The use of an optical brightener in the study of plant structure. *Stain Technol*. 50, 319-452.

Jensen, W. A. W. A., 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice.*, W.H. Freeman, San Francisco.

Joaquim, E. D. O., Figueiredo-Ribeiro, R. C. L., Hayashi, A. H., Carvalho, M. A. M., 2014. Inulin contents and tissue distribution in underground storage organs of Asteraceae species from the Brazilian rocky fields. *Botany*. 92, 827-836.

Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*, 1. ed. McGraw-Hill Books Company Inc., New York.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., Donoghue, M. J., 2009. *Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético*. Artmed, Porto Alegre.

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

Kefeli, V.I., Kalevitch, M.V., Borsari, B., 2003. Phenolic cycle in plants and environment. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 2, 13-18.

Klimešová, J., Klimeš, L., 2007. Bud banks and their role in vegetative regeneration – A literature review and proposal for simple classification and assessment. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 8, 115-129.

Klink, C. A., Machado, R. B., 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade*. 1, 147-155.

Korth, K. L., Doege, S. J., Park, S. H., Goggin, F. L., Wang, Q., Gomez, S. K., Nakata, P. A., 2006. *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. *Plant Physiology*. 141, 188-195.

Kruchelski, S., 2015. Condução da brotação em plantas jovens de *Eucalyptus saligna* Smith acometidas por geada. Universidade Federal do Paraná. Monografia.

Lambers, H., Chapin, F. S., Pons, T. L., 2008. Photosynthesis. In *Plant physiological ecology*. Springer, New York.

Landrum, L. R., Kawasaki, M. L., 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia*. 49, 508-536.

Leite, P. E. C., Almeida, K. B., Lagrota- Candido, J., Trindade, P., Silva, R. F., Ribeiro, M. G. L., Quirico- Santos, T., 2010. Anti- inflammatory activity of *Eugenia punicifolia* extract on muscular lesion of mdx dystrophic mice. *Journal of cellular biochemistry*. 111, 1652-1660.

Lopes-Mattos, K. L. B., Azevedo, A. A., Soares, A. A., Meira, R. M. S. A., 2013. Underground system of *Mandevilla atrovioleacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae) from the Brazilian high-altitude grassland. *South African Journal of Botany*. 87, 27-33.

Martins, A. R., Pütz, N., Soares, A. N., Bombo, A. B., Appezzato-da-Glória, B., 2010 a. New approaches to underground systems in Brazilian *Smilax* species (Smilacaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society*. 137, 220-235.

Martins, A. D. S., 2015. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia* (Myrtaceae). Universidade de Brasília. Monografia.

Martins-da-Silva, R. C. V., da Silva, A. S. L., Fernandes, M. M., Margalho, L. F., 2014. Noções morfológicas e taxonômicas para identificação botânica. Embrapa Amazônia Oriental-Livro científico (ALICE).

Martins, F. M., Kinoshita, L. S., Castro, M. D. M., 2010 b. Coléteres foliares e calicinais de *Temnadenia violacea* (Apocynaceae, Apocynoideae): estrutura e distribuição. *Brazilian Journal of Botany*. 33, 489-500.

Mazine, F. F., Souza, V. C., Sobral, M., Forest, F., Lucas, E., 2014. A preliminary phylogenetic analysis of *Eugenia* (Myrtaceae: Myrteae), with a focus on Neotropical species. *Kew Bulletin*. 69, 9497.

Mcmanus, J. F. A., 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain technology*. 23, 99-108.

Melo, A. C. G., Durigan, G., 2011. Plano de Manejo da Estação Ecológica de Santa Bárbara. http://florestal.sp.gov.br/institutoflorestal/files/2013/03/Plano_de_Manejo_Ec_Santa_Barbara.pdf (acesso em novembro de 2017).

Mendonça, R. C., Felfili, J. M., Walter, B. M. T., Silva-Júnior, M. C., Rezende, A. V., Filgueiras, T. S., Nogueira, P. E., Fagg, C. W., 2008. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: Cerrado: ecologia e flora, Ed. 1. Sano, S.M., Almeida, S.P., Ribeiro, J.F., Ed. Embrapa Cerrados/Embrapa Informação Tecnológica. Brasília.

Metcalf, C. R., & Chalk, L., 1950. Anatomy of the Dicotyledons. At The Clarendon Press, Oxford.

Milanez, C. R., Moraes-Dallaqua, M. A., 2003. Ontogeny of the subterranean system of *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi (Fabaceae). Brazilian Journal of Botany. 26, 415-427.

Moraes, M. G., Carvalho, M. A. M., Franco, A. C., Pollock, C. J., Figueiredo-Ribeiro, R. D. C. L., 2016. Fire and Drought: Soluble Carbohydrate Storage and Survival Mechanisms in Herbaceous Plants from the Cerrado. BioScience. 66, 107-117.

Naves, R. V., Borges, J. D., Chaves, L. J., 2002. A cagaiteira. Revista Brasileira de Fruticultura. 24, 0-0.

Nozella, E.F., 2001. Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Dissertação.

Ogata, B. H., 2013. Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Dissertação.

Oliveira, C. S., Salino, A., Paiva, E. A. S., 2017. Colleters in Thelypteridaceae: Unveiling mucilage secretion and its probable role in ferns. Flora. 228, 65-70.

Orthen, B., 2001. Sprouting of the fructan-and starch-storing geophyte *Lachenalia minima*: Effects on carbohydrate and water content within the bulbs. Physiologia plantarum. 113, 308-314.

Pacheco-Silva, N. V., Donato, A. M., 2016. Morpho-anatomy of the leaf of *Myrciaria glomerata*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 26, 275-280.

Paiva, É. A. S., & Machado, S.R., 2006. Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) colleters. Revista de biología tropical. 54, 943-950.

Paiva, E. P., Lima, M. S., Paixão, J. A., 2009. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. Revista Iberoamericana de Polímero. 10, 196-211.

Paula, S., Naulin, P. I., Arce, C., Galaz, C., Pausas, J. G., 2016. Lignotubers in Mediterranean basin plants. Plant ecology. 217, 661-676.

Park, Y.K., Koo, M.H., Sato, H.H., Contado, J.L., 1995. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellífera* no Brasil. Arquivos de Biologia e Tecnologia. 38, 1253-1259.

Pearse, A. E., 1953. Histochemistry: Theoretical and applied. The American Journal of the Medical Sciences.

Pereira-Júnior, A. C., Oliveira, S. L., Pereira, J. M., Turkman, M. A. A., 2014. Modelling fire frequency in a Cerrado savanna protected area. PloS one. 9, e102380.

Pereira, M. C., Steffens, R. S., Jablonski, A., Hertz, P. F., de O. Rios, A., Vizzotto, M., Flôres, S. H., 2012. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. Journal of agricultural and food chemistry. 60, 3061-3067.

Retamales, H. A., Scherson, R., Scharaschkin, T., 2014. Foliar micromorphology and anatomy of *Ugni molinae* Turcz.(Myrtaceae), with particular reference to schizogenous secretory cavities. Revista chilena de historia natural. 87, 27.

Ribeiro, J. C., Ferreira, M. J. P., Demarco, D., 2017. Colleters in Asclepiadoideae (Apocynaceae): Protection of meristems against desiccation and new functions assigned. International Journal of Plant Sciences. 178, 000-000.

Rodrigues, R. R., Torres, R. B., Matthes, L. A., Penha, A. S., 2004. Tree species sprouting from root buds in a semideciduous forest affected by fires. Brazilian Archives of Biology and Technology. 47, 127-133.

Sakai, W. S., 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. Stain technology. 48, 247-249.

Sales, D. S., Carmona, F., Azevedo, B. C., Taleb- Contini, S. H., Bartolomeu, A. C. D., Honorato, F. B., Pereira, A. M. S., 2014. *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. as an adjuvant treatment for type- 2 diabetes mellitus: A non- controlled, pilot study. Phytotherapy Research. 28, 1816-1821.

Santos, L. D. T., Thadeo, M., Iarema, L., Meira, R. M. S. A., Ferreira, F. A., 2008. Foliar anatomy and histochemistry in seven species of *Eucalyptus*. Revista Árvore. 32, 769-779.

Silva, A. T. D., Capelo, F.F.M., 2016. A família Myrtaceae na Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, São Paulo, Brasil. Rodriguésia. 67, 203-223.

Silva, C. J., Barbosa, L. C. D. A., Marques, A. E., Baracat-Pereira, M. C., Pinheiro, A. L., Meira, R. M., 2012. Anatomical characterisation of the foliar colleters in Myrtoideae (Myrtaceae). Australian Journal of Botany. 60, 707-717.

Silva, I. V., Noberto-Irmão, V., Larocca, D. G., Aparecida, A., Rossi, B., Dardengo, J. D. F. E., Floresta, M. T., 2013. Contribuição ao estudo farmacobotânico de *Myciaria trunciflora* Berg (MYRTACEAE). Enciclopédia Biosfera. 9, 2747.

Silva, M. D. S., Coutinho, Í. A. C., Araújo, M. N., Meira, R. M. S. A., 2017. Colleters in *Chamaecrista* (L.) Moench sect. *Chamaecrista* and sect. *Caliciopsis* (Leguminosae-Caesalpinioideae): anatomy and taxonomic implications. Acta Botanica Brasilica, (AHEAD), 0-0.

Silva, R. S., Chaves, L. J., Naves, R. V., 2001. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do Estado de Goiás, Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura. 23, 330-334.

Simon, M. F., Grether, R., Queiroz, L. P., Skema, C., Pennington, R. T., Hughes, C. E., 2009. Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106, 20359-20364.

Sobral, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., Lucas, E., 2015. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*. 66, 1085-1113.

Soffiatti, P., Angyalossy-Alfonso, V., 1999. Estudo anatômico comparativo do lenho e da casca de duas espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. 22, 175-184.

Souza LA. 2014. Estruturas secretoras em espécies de leguminosas da subtribo Cassiinae (Fabaceae, Caesalpinioideae, Cassieae). Universidade Federal de Minas Gerais. Tese.

Souza, T. M., Severi, J. A., Silva, V. Y. A., Santos, E., Pietro, R. C. L. R., 2007. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 28, 221-226.

Souza, V. C., Lorenzi, H., 2012. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum. ed. 3, 428-434.

Stefanello, M. É. A., Pascoal, A. C., Salvador, M. J., 2011. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. *Chemistry & biodiversity*. 8, 73-94.

Stevens, P. F., 2001. Angiosperm Phylogeny Website. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (Acesso em agosto de 2017).

Strasburger, E., 1899. Handbook of practical botany. Macmillan & Company.

Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., Murphy, A., 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. ed. 6. Artmed, Porto Alegre.

Takao, L. K., Imatomi, M., Gualtieri, S. C. J., 2015. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Brazilian Journal of Biology*. 75, 948-952.

The plant list, 2013. Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/> (acesso em janeiro de 2017).

Thomas, F.M., Molitor, F., Werner, W., 2014. Lignin and cellulose concentrations in roots of Douglas fir and European beech of different diameter classes and soil depths. *Trees*. 28, 309-315.

Vesk, P. A., Westoby, M., 2004. Sprouting ability across diverse disturbances and vegetation types worldwide. *Journal of Ecology*. 92, 310-320.

Vitarelli, N. C., Santos, M., 2009. Stipule and colleter anatomy of *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica*. 23, 923-928.

Wilson, P. G., O'brien, M. M., Gadek, P. A., Quinn, C. J., 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany*. 88, 2013-2025.

Yi, B., Hu, L., Mei, W., Zhou, K., Wang, H., Luo, Y., Dai, H., 2011. Antioxidant phenolic compounds of cassava (*Manihot esculenta*) from Hainan. *Molecules*. 16, 10157-10167.