UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

LUCIANE DA SILVA SANTOS

Morfoanatomia do sistema subterrâneo e de plântulas de Asteraceae ocorrentes no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná

LUCIANE DA SILVA SANTOS

Morfoanatomia do sistema subterrâneo e de plântulas de Asteraceae ocorrentes no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biologia das Interações Orgânicas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza **Co-orientadora**: Prof^a. Dra. Marta Regina Barrotto do Carmo

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Luzia e Mário pelo amor incondicional e apoio em todos os momentos da minha vida. Ao meu marido Renan pelo amor, compreensão e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a realização desse trabalho, em especial ao prof. Dr. Luiz Antonio de Souza, por ter aceito me orientar em um assunto tão complexo e do domínio de poucos na pesquisa científica brasileira, e por ser responsável pela minha formação científica em Anatomia Vegetal.

A Profa. Dra. Lindamir Pastorini, pela amizade, experiência compartilhada, sugestões, incentivo, disposição e auxiliar com espaço físico para germinação das espécies.

A Profa. Dra. Káthia Mathias Socorro Mourão, pela paciência, experiência compartilhada, sugestões, viagens de coleta de material botânico e convívio prático durante todos esses anos de pós-graduação.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada da Universidade Estadual de Maringá pela dedicação e paciência para nos ensinar cada vez mais.

Ao Nelson Kokubo, técnico de laboratório, pelo auxílio durante toda a parte prática, muito eficiente, pelos ensinamentos sobre reagentes, técnicas e manutenção do laboratório da anatomia vegetal.

Ao Intituto Ambiental do Paraná (IAP), por conceder as licenças para coleta de material nos parques.

Aos funcionários do Parque Estadual de Vila Velha (PEVV), que sempre gentilmente acompanharam e auxiliaram na coleta do material de estudo.

A todos do Herbário Universidade Estadual de Maringá (HUEM), pelo registro e envio das espécies analisadas ao especialista.

Ao Prof. Dr. Jimi N. Nakajima, pela paciência, dedicação e disposição nas identificações do material botânico.

A Capes pela concessão da bolsa de doutorado e ter possibilitado a realização do presente trabalho.

Ao meu marido Renan pelo apoio, incentivo, compreensão, paciência, companheirismo, amor e carinho.

Aos meus pais, Luzia M. da Silva Santos e Mário Simplício dos Santos por todo auxílio e incentivo para continuar os estudos.

A minha irmã de coração Suelen e a minha família "postiça" que mesmo à distância incentivam e participam de cada conquista.

A todos os colegas que conviveram no laboratório de Histoquímica (sala 110) da UEM durante a pós-graduação, 2011 até 2017 pelo companheirismo, paciência, auxílios práticos, descontração, incentivo, compartilhamento de técnicas e conhecimentos.

Obrigada!

Morfoanatomia do sistema subterrâneo e de plântulas de Asteraceae ocorrentes no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná

RESUMO

A vegetação Estepe Gramíneo-Lenhosa apresenta grande riqueza de espécies vegetais com homogeneidade fisionômica de plantas herbáceas e subarbustos. No Paraná, esta vegetação campestre se caracteriza por algumas peculiaridades, como a composição florística, natureza geopedológica, regime hídrico e ocorrência eventual de fogo. Estes fatores contribuem de alguma forma com a diferenciação de caracteres adaptativos, como a formação de sistemas subterrâneos bem desenvolvidos, que são essenciais para as plantas que estão sujeitas às condições ambientais adversas. A fase de plântula é crítica durante o desenvolvimento das espécies de uma determinada vegetação, estando sujeita à predação, competição inter e intraespecífica e influência de outros fatores bióticos ou abióticos. Espécies de Asteraceae são frequentes nos campos rupestres do sul do Brasil, que é ambiente ameaçado por ação antrópica e que exige estudos visando sua preservação. Assim, diante da importância das formações campestres e da alta representatividade de Asteraceae nesta vegetação, o presente trabalho objetiva o estudo dos sistemas subterrâneos e das plântulas de algumas espécies desta família. O primeiro estudo refere-se à ontogenia e morfoanatomia dos sistemas subterrâneos de Calea pohliana Sch.Bip. ex Baker, Chrysolaena cognata (Less) Dematt. e Verbesina sordescens DC., ocorrentes na vegetação dos campos gerais. O segundo trabalho trata da análise morfológica e anatômica de sete espécies de Asteraceae que ocorrem nos campos rupestres. Ambos os estudos visam indicar caracteres estruturais de espécies representativas dos campos rupestres, contribuindo com investigações botânicas e ecológicas que são indispensáveis para sua preservação. Os sistemas subterrâneos dos indivíduos adultos e cipselas para obtenção das plântulas foram coletados nos Campos Gerais de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Os sistemas subterrâneos foram analisados em plantas adultas e durante o desenvolvimento de plântulas. As plântulas foram obtidas de sementes germinadas em laboratório e desenvolvidas em casa de vegetação. O material botânico foi fixado e analisado estruturalmente, segundo técnicas usuais em morfoanatomia vegetal. Os sistemas subterrâneos pertencem aos tipos xilopódio e tubérculo. A tuberização, em geral, ocorre na região do colo/coleto e no hipocótilo. Os sistemas subterrâneos adultos possuem anatomia complexa, destacando-se o xilopódio de C. pohliana que apresenta câmbio bidirecional e variante cambial que origina somente células do xilema. Canais secretores e esclereídes podem ocorrer nos sistemas subterrâneos e compostos de inulina foram encontrados em V. sordesecens. Quanto às plântulas das sete espécies de Asteraceae, elas são fanerocotiledonares e epigeias, com raízes diarcas e zona de transição do tipo intermediário baixo e intermediário alto. Os tracos cotiledonares são trilacunares com dois feixes independentes e um feixe comum aos cotilédones. Cotilédones e eofilos são dorsiventrais. Os sistemas subterrâneos das Asteraceae analisadas aqui têm origem principalmente do hipocótilo, devido à ação de câmbio bidirecional e variante cambial, e as plântulas mostram uniformidado estrutura das folhas e da região de transição raiz/caule, quando comparadas com outras espé.... da família investigadas até o momento.

Palavras-chave: campo rupestre, folhas juvenis, hipocótilo, tubérculo, xilopódio, zona de transição raiz/caule.

Morfoanatomia do sistema subterrâneo e de plântulas de Asteraceae ocorrentes no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná

ABSTRACT

The grassland presents a great wealth of vegetal species with physiognomic homogeneity of herbaceous plants and sub-bushes. In Paraná, this vegetation is characterized by some peculiarities, such as floristic composition, geopedological nature, water regime and eventual occurrence of fire. These factors contribute in some way to the differentiation of adaptive traits, such as the formation of well-developed underground systems, which are essential for plants that are subject to adverse environmental conditions. The seedling phase is critical during the development of the species of a certain vegetation, being subject to the predation, inter and intraspecific competition and influence of other biotic or abiotic factors. Asteraceae species are frequent in the rocky fields of southern Brazil, which is an environment threatened by anthropic action and requires studies aimed at its preservation. Thus, given the importance of the field formations and the high representativeness of Asteraceae in this vegetation, the present work aims to study the subterranean systems and the seedlings of some species of this family. The first study refers to the ontogeny and morphoanatomy of the subterranean systems of Calea pohliana Sch.Bip. Ex Baker, Chrysolaena cognata (Less) Dematt. And Verbesina sordescens DC., occurring in the vegetation of the general fields. The second work deals with the morphological and anatomical analysis of seedlings of seven Asteraceae species that occur in rocky fields. Both studies aim to indicate structural characteristics of representative species of the rocky fields, contributing with botanical and ecological investigations that are indispensable for their preservation. The underground systems of the adult individuals and cypselae, to obtain the seedlings, were collected in the grasslands of Ponta Grossa, Paraná, Brazil. Underground systems were analyzed in plants and during seedling development. The seedlings were obtained from seeds germinated in laboratory and developed in greenhouse. The botanical material was fixed and analyzed structurally, according to the usual techniques in vegetal morphoanatomy. The underground systems belong to xylopodium and tuberculum types. The tuberization, in general, occurs in the transition region between the root/hypocotyl and troughout the hypocotyl. Underground systems have a complex anatomy, especially the xylopoium.of C. pohliana, that presents bidirectional cambium and cambial variant that originates only xylem cells. Secretory channels and sclereids can be observed in the underground systems and inulin compounds were found in V. sordesecens. As far as the seedlings of the seven Asteraceae species, they are phanerocotylar and epigeal, with diarc roots and transition zone of the low intermediate and high intermediate types. Cotyledonary traces are trilacunar with two independent bundles and a common bundle of the cotyledons. Cotyledons and eophylls are dorsiventral. The underground systems of the Asteraceae analyzed here originate mainly from the hypocotyl, due to action bidirectional cambium and cambial variant, and the seedlings show uniformity in the structure of the leaves and the root/stem transition region, when compared to other species of the family investigated until the moment.

Keywords: rock fild, young leaf, hypocotyl, tuber, xylopodium, transition root/stem.

SUMÁRIO

1.Introdução Geral	11
2.Referências Bibliográficas	14
3.Revisão de Literatura	18
3.1. Sistemas subterrâneos e estudos morfoanatômicos	18
3.2 Tipos de sistemas subterrâneos	19
3.2.1 Estrutura da raiz	19
3.2.2 Estruturas caulinares	20
3.3. Ontogênese de sistema subterrâneo	22
3.4. Plântulas	22
3.5. Propagação vegetativa versus reprodutiva em ambiente com distúrbio	23
4.Referências Bibliográficas	24
CAPÍTULO 1	27
Estrutura e origem do sistema subterrâneo em espécies de Astera	ceae da
vegetação estepe gramíneo-lenhosa	28
Abstract	29
Introdução	30
Material e métodos	31
Resultados	33
Discussão	40
Conclusão	42
Referências	43
ANEXO 1	45
CAPÍTULO 2	53
Morfologia e anatomia de plântulas de espécies de Asteraceae I	Bercht & J.
Presl. dos Campos Gerais brasileiros	54

Introdução	56
Material e métodos	57
Resultados	58
Discussão	65
Referências	69
ANEXO 2	71

Morfoanatomia do sistema subterrâneo e de plântulas de Asteraceae ocorrentes no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná
•

1. Introdução geral

A vegetação campestre ocupa aproximadamente 25% do território mundial (KUCERA, 1981) com savanas, estepes, pradarias e campos. Apesar das condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de florestas (RAMBO, 1942), o sul do Brasil apresenta áreas com vegetação campestre e foram incluídas pela classificação do IBGE 2004 e 2012 nos biomas Mata Atlântica e Pampa. Tais áreas são responsáveis por apresentarem diversidade de espécies (BOLDRINI, 1997), de órgãos subterrâneos e pela manutenção da fisionomia, que em parte é causada pela ação de distúrbios, como fogo e pastoreio. A presença dos órgãos subterrâneos pode indicar que estas áreas são relictos de épocas mais secas e que foram mantidas até os dias atuais (OVERBECK *et al.*, 2007; BELING *et al.*, 2009). A vegetação campestre é diferente do que ocorre no Cerrado, em que este está mais relacionado com período de seca onde perde biomassa (parte aérea) e rebrota novamente no início da estação chuvosa (FILGUERAS, 2002).

Os Campos Sulinos são resistentes ao fogo (OVERBECK *et al.*, 2005) e capaz de se regenerar rapidamente após distúrbios com a rebrota de gemas protegidas, presentes em órgãos subterrâneos (FIDELIS, 2008). Ressalta-se que a diminuição destes órgãos numa vegetação campestre, que sofreu algum distúrbio, pode não ocorrer a manutenção e, consequentemente, a perda da diversidade e fisionomia da área (FIDELIS *et al.*, 2009).

Os órgãos que permitem regeneração desempenham papel reprodutivo muito importante e apresentam diversos tipos de sistema subterrâneo que podem apresentar acúmulo de reservas (ALONSO; MACHADO, 2007) e estruturas secretoras, podem constituir estratégia adaptativa nos mecanismos de defesa contra herbivoria (APPEZZATO-DA-GLÓRIA *et al.*, 2008). Em estudos sobre estratégias de regeneração após queimadas, Fidelis (2008) relata que a maioria das espécies dos Campos Sulinos depende do rebrote, e apenas 10% apresentaram plântulas após o distúrbio, mostrando a importância do banco de gemas (meristemas aéreos ou subterrâneos) que formam os novos ramos.

Asteraceae apresenta maior número de espécies em toda a região sul (BOLDRINI *et al.*, 2009; CERVI *et al.*, 2007; MORO; CARMO, 2007; SILVA, 2016) que se caracteriza pela diversidade florística, variados hábitos e formas biológicas, destacando gêneros, como *Baccharis, Calea, Eupatorium, Senecio* e *Vernonia* (BOLDRINI *et al.*, 2009). A morfologia e anatomia do sistema subterrâneo e plântulas desta família têm sido analisadas devido à importância ecológica (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CURY 2011; JOAQUIM, 2014; SILVA

et al., 2014, SANTOS, 2016), taxonômica (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2008; CURY; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2009; OLIVEIRA, 2011; SILVA, 2013), e econômica (MACHADO, 2004).

A investigação pioneira sobre sistemas subterrâneos foi realizada por Lindeman, (1906), em plantas ocorrentes nos campos sulinos. A partir daí, inúmeras pesquisas sobre sistemas subterrâneos foram desenvolvidas com plantas do cerrado, destacando os trabalhos com a morfologia externa (RAWISTCHER *et al.*, 1943, RAWISTCHER; RACHID, 1946, RIZZINI; HERINGER 1961, 1962, 1966; RIZZINI, 1963). As análises anatômicas, ultraestruturais, histoquímicas, ontogênicas e das estruturas secretoras passaram a ser inclusas a partir do trabalho de Menezes *et al.* (1969,1979), destacando outras posteriormente, como Paviani (1972, 1977, 1978,1987), Appezzato-da-Glória e Estelita(1995, 2000), Appezzato-da-Glória (2000), Hayashi (1998), Hayashi *et al.* (2003), Hayashi e Appezzato-da-Glória (2005, 2007, 2009), Vilhalva e Appezzato-da-Glória (2006), Appezzato-da-Glória *et al.* (2008, 2011), Bombo (2014), Silva *et al.* (2014), Santos (2016), que continuaram com plantas presentes no Cerrado, enquanto que plantas presentes nos Campos Sulinos tiveram novos estudos recentemente como de Fidelis *et al.* 2009, 2014.

As pesquisas realizadas com plântulas e/ou desenvolvimento dos órgãos subterrâneos são escassas, (SAJO; MENEZES 1986; PUTZ, 2006, APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CURY 2011; BOMBO et al., 2014; GARCIA et al., 2015; SANTOS et al., 2016), tendo como fatores de dificuldade na obtenção de resultados, a baixa viabilidade das sementes (VELTEN; GARCIA, 2005, GODINHO, 2011), presença de apomixia em algumas espécies da família (WERPACHOWSKI et al., 2004) e distúrbios, como efeito do fogo que dificulta a reprodução sexuada reduzindo a reprodução por sementes e o desenvolvimento de plântulas (HOFFMANN, 1998,1999). Assim, em ambientes, como os Campos e Cerrados, a regeneração de indivíduos e surgimento de novos indivíduos através de órgãos subterrâneos e aéreos são extremamente importantes para manutenção da população e diversidade de espécies.

Os sistemas subterrâneos são estruturas complexas, possuem características morfoanatômicas diferentes e podem ter origem radicular, caulinar ou mista; porém, somente a morfologia externa pode ser insuficiente para identificar sua natureza estrutural, sendo fundamental a análise anatômica para sua classificação (HAYASHI, 2003). Diante da importância ecológica dos sistemas subterrâneos em ambientes sujeitos a distúrbios ambientais, como fogo e pastoreio, e do fato de que Asteraceae possui grande representatividade nos Campos Sulinos e mostram variações nas características morfo-anatômicas em resposta às condições ambientais que estão submetidas, foram selecionadas três espécies desta família ocorrentes em ambiente estepe-gramíneo-lenhosa, para realização de estudos sobre ontogênese, morfoanatomia e classificação dos sistemas subterrâneos. E também da importância da fase inicial de desenvolvimento de uma planta, que é considerada crítica no ciclo de vida dos vegetais, o presente trabalho contempla adicionalmente o estudo morfoanatômico de plântulas de sete espécies pertencentes aos campos gerais.

2. Referências Bibliográficas

ALONSO, A.A.; MACHADO, S.R. Morphological abd developmental investigations of the underground system of *Erythroxylum* species from Brazilian cerrado. **Australian Journal of Botany**. v. 55, p.749-758. 2007.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Raízes geminíferas: uma abordagem anatômica e ecológica. In: Cavalcanti, T. B. (ed), Tópicos Atuais de Botânica: palestras convidadas do 51° Congresso Nacional de Botânica. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil.**. 2000. 400p.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CURY, G.; Morpho-anatomical features of underground systems in six Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v.83, n.3, p.981-991. 2011.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CURY, G.; SOARES, M.K.M.; HAYASHI, A.H.; ROCHA, R. Underground systems of Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. **Journal of the Torrey Botanical Society**. v.135, p.103-113. 2008.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M.E.M. The developmental anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e de *M. velutina* (Mart. Ex Stadelm.) Woodson –Apocynaceae. **Revista Brasileira de Botânica** v.23, p. 27-35. 2000.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M.E.M. Caracteres anatômicos da propagação vegetativa de *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e de *M. velutina* (Mart. Ex Stadelm.) Woodson –Apocynaceae. **Anais do IX Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo**, Ilha Solteira. 1995. p.5-13.

BEHLING, H.; JESKE-PIERUSCHKA, J.; SCHÜLER, L.; PILLAR, V.P. Dinâmica dos campos no sul do Brasil durante o Quaternário Tardio. *In*: PILLAR, V.P.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JACQUES, A.V.A. (Eds.). **Campos Sulinos - conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: MMA. 2009.

BOLDRINI, I.I. (ed). Biodiversidade dos Campos do Planalto das Araucárias. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. 2009.

BOLDRINI I.I. Campos do Rio Grande do Sul: caracterização fisionômica e problemática ocupacional. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Biociências** v.56, n. 1, p.1-39. 1997.

BOMBO, A.; OLIVEIRA, A.S.S.; REHDER, V.L.G.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomy and essential oil composition of the underground systems of three species of *Aldama* La Llave (Asteraceae). **Journal of the Torrey Botanical Society**. v.141, n. 2, p.115-125. 2014.

CERVI, A.C.; LINSINGEN, L.V.; HATSCHBACH, G.; RIBAS, O.S. A vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, Município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. **Boletim Museu Botanico Municipal**, v.69, n. 1. p.1-52. 2007.

- FIDELIS, A. Fire in subtropical grasslands in Southern Brazil: effects onplant strategies and vegetation dynamics. Chair of Vegetation Ecology, Technische Universität München, Freising. 161.p. 2008.
- FIDELIS, A.; APPEZZATO-DA-GLORIA; PFADENHAUER, J. A importância da biomassa e das estruturas subterrâneas nos Campos Sulinos. In: PILLAR, V. D.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JAQUES, A.V.A. (Org). Brasília: Ministério do Meio Ambiente. Campos Sulinos conservação e uso sustentável da biodiversidade. 2009. p.88-100.
- FILGUEIRAS T.S. Herbaceous plant communities. In: P.S. Oliveira; J.R. Marquis (eds.). **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna** (eds. Oliveira P.; Marquis RJ). Columbia University Press New York, 2002. p.121-139.
- GARCIA, P.M.; HAYASHI, A.H.; SILVA, E.A.; FIGUEIREDO-RIBIRO, R.CL.; CARVALHO, M.A.M. Structural and metabolic changes in rhizophores of the Cerrado species Chrysolaena obovata (Less.) Dematt. As influenced by drought and re watering. **Frontiers in Plant Science.** v.6, n.721, p. 1-13. 2015.
- GODINHO, M.A.S.; MANTOVANI-ALVARENGA, E.; VIEIRA, M.F. Germinação e qualidade de sementes de *Adenostemma brasilianum* (pers.) Cass., Asteraceae nativa de subbosque de floresta atlântica. **Revista Árvore.** v.35, n.6, p.1197-1205. 2011.
- HAYASHI, A.H.; APPEZZATO-DA GLÓRIA, B. Resprouting from roots in four Brazilian tree species. **Revista de Biologia Tropical**. v.57, n.3, p.789-800. 2009.
- HAYASHI, A.H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomy of the underground system in *Vernonia grandiflora* Less.and *V. brevifolia* Less. (Asteraceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**.v.50, n. 6, p.979-988. 2007.
- HAYASHI, A.H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. The origin and anatomy of rhizophores in *Vernonia herbacea* and *V. plantensis* (Asteraceae) from Brazilian Cerrado. **Australian Journal of Botany**. v.53, p.273-279. 2005.
- HAYASHI, A.H. Morfo-anatomia de sistemas subterrâneos de espécies herbáceo-arbustivas e arbóreas, enfatizando a origem das gemas caulinares. 2003. 154p. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil. 2003.
- HAYASHI, A.H. Estudos anatômicos de raízes geminíferas de espécies arbóreas e arbustivas de um fragment florestal em Campinas (SP), Brasil. 1998. 63 p. Dissertação de Mestrado, Escola Superior Luiz de Queiroz, Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. 1998.
- HOFFMANN, W.A. Post-burn reproduction of woody plants in a neotropical savanna: therelative importance of sexual and vegetative reproduction. **Journal of Applied Ecology.** v.35, n.3, p.422-433. 1998.
- HOFFMANN, W.A. Fire and population dynamics of woody plants in a neotropical savanna: matrix model projections. **Ecology**, v.80, n.4, p.1354-1369. 1999.

- JOAQUIM, E.O. Inulin contents and tissue distribution in underground storage organs of Asteraceae species from the Brazilian rocky fields. **Botany**. v.92, n.11, p.827-836. 2014.
- KUCERA C.L. Grassland and fire. In: Mooney H.H., Bonnicksen N.L., Christensen N.L., Lotan J.E.& Reiner W.A. **Fire regimes and ecosystemproperties.** United States Forest Service, 1981. p. 90-111.
- LINDMAN, C.A.M. A vegetação do Rio Grande Sul (Brasil Austral). Trad. Alberto Loefgren. Tipografia "Livraria Universal", Porto Alegre. 1906. 356p.
- MACHADO, S. R.; OLIVEIRA, D.M.T.; DIP, M.R.; MENEZES, N.L. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica**. v.27, n.1, p.115-123. 2004.
- MENEZES, N.L.; MULLER, C.; SAJO, M.G. Um novo e peculiar tipo de sistema subterrâneo em espécies de Vernonia da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil) **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** v.7, p. 33-38. 1979.
- MORO, R. S.; CARMO, M. R. B. A vegetação campestre nos Campos Gerais. *In*: MELO, M. S.; MORO, R. S.; GUIMARÃES, G. B. (Eds.). **Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná.** Ponta Grossa: Ed. UEPG. 2007.
- OLIVEIRA, T. S. Anatomia, germinação de sementes e análise do óleo essencial de Viguiera arenaria Baker in Martius e Viguiera robusta Gardner in Hook (Asteraceae Heliantheae). Dissertação de Mestrado, Piracicaba. 2011. 95p. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba. São Paulo, Brasil. 2011.
- OVERBECK G.E.; MÜLLER S.C.; FIDELIS A.; PFADENHAUER J.; PILLAR V.D.; BLANCO C.; BOLDRINI I.I.; BOTH R.; FORNECK E.D. Brazil's neglected biome:the Southern Campos. **Perspectives in Plant Ecology and Systematics** v.9, p.101-116. 2007.
- OVERBECK G.E; MÜLLER S.C; PILLAR V.D.; PFADENHAUER J. Fine-scalepost-fire dynamics in southern Brazilian subtropical grassland. **Journal of Vegetation Science.** v.16. p.655-664. 2005.
- PAVIANI, T.I. Estudo morfológico e anatômico de *Brasilia sickii* G.M. Barroso: I. **Revista Brasileira de Biologia**. v.32. p.451-472. 1972.
- PAVIANI, T.I. Estudo morfológico e anatômico de *Brasilia sickii* G.M. Barroso: II. **Revista Brasileira de Biologia**. v.37. p.307-324. 1977.
- PAVIANI, T.I Anatomia vegetal e Cerrado. Ciência e Cultura. v.30, p.1076-1086. 1978.
- PAVIANI, T.I Anatomia do desenvolvimento do xilopódio de *Brasilia sickii* G.M. Barroso. Estágio inicial. **Ciência e Cultura**. v.39. p.399-405. 1987
- PUTZ, N. Seedling establishment, underground kinetics, and clonal reiteration: How do *Potentilla inclinata* and *Inula ensifolia* get their multifunctional subterranean systems? **Flora**. v. 201. p.298-306. 2006.

- RAWISTCHER, F.; Ferri, M.G.; Rachid, M. Profundidade dos Solos e Vegetação em Campos Cerrados do Brasil Meridional. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.15. p.267-294. 1943.
- RAWISTCHER, F.; Rachid, M. Troncos subterrâneos de plantas brasileiras. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.18. p.261-280. 1946.
- RAMBO B. **A fisionomia do Rio Grande do Sul.** 3.ed. Editora Unisinos, São Leopoldo, 473 p. 1942
- RIZZINI, C.T. O fator edáfico na formação do xilopódio de *Mimosa multipinna* Benth. Anais da **Academia Brasileira de Ciências**. v.35. p.75-77.1963.
- RIZZINI, C. T.; HERINGER, E. P. Underground organs of plants from some southern Brazilian savannas, with special reference to the xylopodium. **Phyton**. v.17. p.105-124.1961.
- SAJO, M.G.; MENEZES, N.L. Origem e crescimento do rizóforo em espécies de Vernonia Screb (Compositae) da Serra do Cipó, MG. **Revista de Biologia.** v.46. p.197-202. 1986.
- SANTOS, V.; SOUZA, V. P.; VILHALVA, D.A.A.; FERREIRA, F.P.S. PAULA, J. R. REZENDE, M.H. Morpho-anatomy and ontogeny of the underground system *of Chrysolaena simplex* (Less.) Dematt. (Asteraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** v. 88, n.1, p.1-11. 2016.
- SILVA, E. M.S.; HAYASHI, A.H.; APPEZZATO-DAGLÓRIA, B. Anatomy of vegetative organs in *Aldama tenuifolia* and *A. kunthiana* (Asteraceae: Heliantheae). **Brazilian Journal of Botany**. v.34, n.4, p.505-517. 2014.
- SILVA, A. R.; Andrade, A. L. P. A.; Velazco, S. E.; Galvão, F.; Carmo, M. R. B. Florística, fitossociologia em três diferentes fitofisionomias campestres no Sul do Brasil. **Hoehnea.** v.43, n.3, p.325-347. 2016.
- VELTEN, S. B.; GARCIA, Q. S. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Eremanthus* (Asteraceae), ocorrentes na Serra do Cipó, MG, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**. v.19, n.4, p753-761. 2005
- WERPACHOWSKI, J. S.; VARASSIN, I. G. GOLDENBERG, R. Ocorrência de apomixia e partenocarpia em algumas espécies subtropicais de Asteraceae. **Brazilian Journal of Botany**. v.27, n.3, p.607-613. 2004

3. Revisão de Literatura

3.1 Sistemas subterrâneos e estudos morfoanatômicos

Estudos sobre sistema subterrâneo no Brasil foram iniciados por volta de 1900 por Eugenio Warming e Carl Axel M. Lindman, que verificaram o importante papel destes órgãos na regeneração das partes aéreas das plantas. As observações eram baseadas na morfologia externa dos sistemas subterrâneos e grande parte dos estudos refere-se às plantas do Cerrado que sofrem com queimadas que prejudica a reprodução sexuada, mas favorece a reprodução vegetativa pelo sistema subterrâneo (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

Pesquisadores como Rawitscher et al. (1943) estudaram plantas com diferentes estratégias de exploração do solo pelas raízes e dividiram a vegetação em grupos ecológicos e tipos de sistemas subterrâneos diversificados que apresentavam caracteres bastante confusos, não permitindo uma definição terminológica. A partir destes estudos, observou-se a dificuldade da definição de algumas estruturas subterrâneas como, por exemplo, o xilopódio. Diante disso, uma segunda fase de estudos sobre os sistemas subterrâneos ocorre a partir da década de 1960, baseada na ontogênese e sua estrutura anatômica (APEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

Rizzini e Heringer (1961) observaram que o xilopódio pode se formar a partir da tuberização da parte superior da raiz primária quando sua germinação é hipógea. Por outro lado, os autores consideraram que quando a tuberização é iniciada pelo hipocótilo e, posteriormente, estendida à porção superior da raiz primária é característica de germinação epígea. Pode ocorrer também uma origem secundária de tuberização dos sistemas subterrâneos, pois as condições ambientais podem interferir e assim a parte aérea não atingir seu tamanho completo devido às perturbações, como queimadas e secas (APEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

Os estudos geralmente realizados sobre aspectos morfológicos dos sistemas subterrâneos limitavam muito sua correta classificação. Assim, Menezes et al. (1969), iniciaram estudos anatômicos destes sistemas no Brasil. Estes estudos sobre a ontogênese dos xilopódios, permitiram observar um padrão para formação inicial destas estruturas e sua complexidade (APEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015). Em continuidade aos estudos com sistema subterrâneo Menezes et al. (1979) descreveram a bipolarização da ramificação caulinar de estruturas subterrâneas similares a rizomas.

Atualmente, os estudos anatômicos de sistemas subterrâneos estão relacionados a raízes geminíferas em áreas florestais brasileiras, em que os trabalhos são voltados para a origem das gemas (adicionais ou reparativas) e a clonagem dos indivíduos numa mesma área. Entretanto, os estudos sobre os diferentes tipos subterrâneos mencionados anteriormente ainda continuam a serem estudados devido à escassez de informação e classificação correta destes sistemas, presentes principalmente em ambientes com distúrbios e alta taxa de rebrotamento (APEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

3.2 Tipos de sistemas subterrâneos

Para empregar a terminologia correta e separar os sistemas subterrâneos, é necessário analisar sua estrutura anatômica, ontogenia, formato, consistência e distribuição das raízes, folhas e gemas (HAYASHI, 2003). Conforme descrito por Appezzato-da-Glória (2015), a distinção entre estrutura radicular e caulinar está baseada em sua estrutura anatômica e pode ser conclusiva apenas quando observado o desenvolvimento do sistema desde sua germinação até desenvolvimento adulto, pois em alguns casos a tuberização e espessamento pode envolver mais de uma região da planta e também uma variação na atividade cambial. Assim, é extremamente importante conhecer diferenças anatômicas básicas entre raiz e caule.

Na estrutura primária de raiz, os cordões xilemáticos primários são alternos aos cordões de floema primários, e a diferenciação das células xilemáticas ocorre no sentido centrípeto, condição denominada exarca. No caule, ao contrário, o floema e xilema primários se dispõem em feixes vasculares, com xilema endarco, ou seja, a maturação das células xilemáticas é centrífuga, caracterizando o xilema como endarco (ESAU, 1974). Na estrutura secundária o crescimento em espessura envolve instalação de câmbio e felogênio na raiz e caule (ESAU, 1974). É comum no crescimento secundário destes órgãos que o câmbio vascular se torne cilindro completo e produza continuamente floema e xilema secundários, cada um com seus respectivos sistemas axial e radial (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

3.2.1 Estrutura da raiz

a) Raízes contráteis

São raízes que apresentam rugosidades na superfície externa e, anatomicamente, as áreas de contração se caracterizam por apresentar número de camadas de células do parênquima cortical e do periciclo reduzido, quando comparadas às áreas não contraídas.

b) Raízes gemíferas

São geralmente raízes longas, superficiais, paralelas ao solo e originadas na porção superior da raiz pivotante ou na região de transição entre caule e raiz. Anatomicamente, elas podem ser reconhecidas pela ausência de medula e xilema exarco. As gemas nestas raízes podem se formar a partir do periciclo, felogênio, córtex das raízes laterais, ápice radicular e calo radicular (BURROWS, 1990, BELL et al., 1996, HAYASHI, 1998; HAYASHI et al., 2003)

c) Raiz tuberosa

As raízes tuberosas, consideradas de reserva, são de fácil identificação devido à grande quantidade de tecido parenquimático muito vascularizado (Esau, 1978). Algumas raízes tuberosas foram identificadas a partir do desenvolvimento da planta, com início no eixo hipocótilo-radicular (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; ESTELITA, 2000).

3.2.2 Estruturas caulinares

a) Rizomas

Em geral, os rizomas são horizontais e podem ser carnosos, além de ter origem a partir da plúmula, onde o sistema de ramificação caulinar produz apenas folhas e escapo floral. O caule é espesso, rico em reservas, com nós e entrenós. As raízes, nestes caules, têm origem na região nodal e nos entrenós (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015)

b) Rizóforos

Os rizóforos são órgãos de reserva, com capacidade de propagação vegetativa e de regeneração após distúrbios ambientais. Eles são considerados como porção caulinar subterrânea das plantas com sistema de ramificação caulinar aéreo e subterrâneo. Podem ser originados pelo desenvolvimento da gema cotiledonar ou pelo intumescimento do hipocótilo, como observado comumente nos estudos com *Vernonia* (MENEZES et al., 1979; SAJO; MENEZES, 1986).

c) Tubérculos

Os tubérculos são considerados como estruturas dilatadas caulinares, cuja natureza anatômica é típica do hipocótilo, possuem gemas e reservas nutritivas, mas são desprovidos

de raízes adventícias. O que distingue um tubérculo de uma raiz tuberosa são as folhas ou presença das cicatrizes foliares, pois ambos têm desenvolvimento a partir do hipocótilo (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

d) Bulbos

Apesar de semelhantes morfologicamente aos tubérculos, estes são em geral globosos e com entrenós extremamente reduzidos com gemas apicais na parte superior, com estruturas foliares aclorofiladas e carnosas. Os bulbos ainda podem ser divididos em tunicados (com folhas laminadas), escamosos (escamas concêntricas) e sólidos (escamas imbricadas) (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

e) Xilopódios

São estruturas duras, lignificadas, lenhosas, com formato cilíndrico, tuberiforme, globosos ou de formato indefinido. Sua origem pode ter início no hipocótilo e porção superior da raiz primária. Sob o ponto de vista estrutural, eles não possuem tecido parenquimático típico de reserva, somente parênquima xilemático com grande potencial geminífero, que forma gemas de forma irregular por toda a superfície do órgão (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015). Eles sobrevivem às estações secas, rebrotando no início das estações chuvosas a partir de ramos persistentes; sua tuberização nas plântulas pode ser influenciada pela pelo tipo de plântula: nas plântulas epígeas iniciam pelo hipocótilo e, posteriormente, pela porção superior da raiz primária, enquanto nas plantas hipógeas podem se formar a partir da tuberização da porção superior da raiz primária (RIZZINI, 1965). Os xilopódios podem ainda ser identificados como rizoma ou "Woody root stock" e até sinônimo de "lignotubers" (FIDELIS, 2009).

f) "Lignotubers"

São caules relativamente dilatados em nível do solo ou no interior do solo quando plantas lenhosas, com acúmulo maior de água e amido que no restante do caule, predominância de parênquima de armazenamento celulósico, originados a partir da atividade de gemas acessórias presentes no nó cotiledonar e gemas de nós superiores do caule (epicórmicas). As gemas dormentes, presentes na "casca" podem se desenvolver em resposta a limitação do crescimento do caule aéreo (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015).

g) Sóboles

São ramos caulinares de crescimento horizontal formado sob a superfície do solo, sendo praticamente um tipo de rizoma (APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2015). Eles são encontrados em espécies de arbustos e árvores estudadas no Cerrado, que formam vários ramos aéreos interligados subterraneamente, que visualizados apenas pela parte aérea, parecendo formar uma população de vários indivíduos aglomerados (FIDELIS, 2009).

3.3 Ontogênese de sistemas subterrâneos

Devido à complexidade da estrutura dos órgãos subterrâneos, vários trabalhos ontogenéticos destes órgãos foram realizados com intuito de esclarecer a origem do sistema subterrâneo em determinadas espécies, como os trabalhos de Sajo e Menezes (1986); Machado et al. (2004); Hayashi e Appezzato-da-Glória (2005); Vilhalva e Appezzato-da-Glória (2006).

Embora para cada ser vivo haja um padrão de desenvolvimento estabelecido e comandado pelo seu patrimônio genético (genótipo), os fatores abióticos atuam sobre os genes, modificando a sua expressão em vários sentidos. Condições de clima e de solo são capazes de determinar ou modificar, mais ou menos visivelmente, a organização vegetal. (RIZZINI, 1997). Portanto, o acompanhamento do desenvolvimento da plântula das espécies presentes em ambientes que podem influenciar nas alterações da estrutura da planta, é possível entender como ocorrem algumas dessas adaptações.

3.4 Plântulas

No Brasil, ainda são poucos os estudos sobre morfologia de plântulas de espécies nativas, especialmente se levarmos em consideração a diversidade de nossa flora (SOUZA e OLIVEIRA, 2004). Quando existentes, os trabalhos consistem apenas de descrições morfológicas externas de uma determinada espécie, havendo grande lacuna quanto aos dados anatômicos, importantes como subsídios para trabalhos ecológicos, taxonômicos e filogenéticos (MUSSURY et al., 2006).

A fase de plântula é definida a partir da germinação, porém não existe um consenso para determinar o final desta fase (SOUZA, 2009). Para Hertel (1968) a fase de plântula ocorre desde a germinação até o abandono dos cotilédones; Vogel (1980) considera que arvoretas de 25 a 50cm de altura são plântulas; Parra (1984) afirma que o final da fase de

plântula ocorre quando surgem os primeiros nomofilos; Oliveira (1993) conceitua plântula como o estádio da planta desde a germinação até que apresente estruturas essenciais e características da espécie; Carmello-Guerreiro (1996) considera plântula a partir do desenvolvimentoo pós-seminal até o aparecimento e a completa expansão do primeiro eofilo; Garwood (1996) divide os estágios de desenvolvimento da plântula de acordo com a função das diversas partes dela que assumem durante a ontogenia. Por fim, a sugestão proposta por Souza (2003) é que plântula abrange a fase desde a germinação da semente ou diásporo até a completa expansão da primeira folha ou eofilo.

O estudo da plântula apresenta grande valor ecológico e fisiológico devido às características e mecanismos específicos que ela desenvolve para se estabelecer em um ambiente e dentro de determinada população. Assim, esse estudo pode servir para determinar se uma vegetação se encontra em estado sucessional ou em clímax de acordo com a diversidade de espécies e indivíduos (AMO-RODRIGUEZ, 1979). Permite, ainda, a observação do ciclo vegetativo das espécies (KUNIYOSHI, 1983) e das estruturas transitórias que desaparecem com a passagem para a fase adulta (RICARDI et al., 1977)

3.5 Propagação vegetativa versus reprodutiva em ambiente com distúrbios

A reprodução assexuada é freqüentemente documentada para Asteraceae que ocorre a partir de sistemas subterrâneos complexos e gemíferos (SAJO; MENEZES, 1986) quanto à reprodução apomítica (CAVALLI, 2003). Rizzini (1965), analisando a regeneração de plantas do Cerrado sujeitas a distúrbios como queimadas e também a ação antrópica, ressaltou o importante papel da formação de gemas nas raízes para a sobrevivência de 10 espécies presentes em regiões secas. Segundo o autor, as raízes gemíferas encontram-se protegidas no solo e o sistema subterrâneo mais amplo proporciona nutrição para o desenvolvimento das gemas, enquanto as sementes ficam expostas e podem não resistir à seca e queimadas.

4. Referências Bibliográficas

AMO-RODRIGUEZ, S. Clave para plántulas y estados juveniles de especies primarias de una Selva Alta Perennifolia en Veracruz, México. **Biotica** v.4. n.59, p.108, 1979.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Morfologia de sistemas subterrâneos de plantas. 3 ed. Belo Horizonte: 2015.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M.E.M. The developmental anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e de *M. velutina* (Mart. Ex Stadelm.) Woodson –Apocynaceae. **Revista Brasileira de Botânica.** v.23. p. 27-35. 2000.

BELL, A.D.; PLATE, J.S.; DIXON, K.W. Relations between fire response, morphology, root anatomy and starch distribution in south-west Australian Epacridaceae. **Annals of Botany**. v.77. p.357-364. 1996.

BURROWS, G.E. Anatomical aspects of root bud development in hoop pine (*Araucaria cunninghamii*). **Australian Journal of Botany**. v.38. p.73-78. 1990.

CARMELLO-GUERREIRO, S.M. Morfologia, anatomia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Schinus terebinthifoliu* Raddi, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Myracro druonurundeuva* Fr. Allem. E *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae). 1996. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 1996.

ESAU, K. Anatomia de plantas com sementes. São Paulo: Edgard Blücher, 1974.

FIDELIS, A.; APPEZZATO-DA-GLORIA; B.; PFADENHAUER, J.A importância da biomassa e das estruturas subterrâneas nos Campos Sulinos. In: PILLAR, V. D.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JAQUES, A.V.A. (Org). Brasília: Ministério do Meio Ambiente. **Campos Sulinos conservação e uso sustentável da biodiversidade**. 2009. p.88-100.

GARWOOD, N.C. Functional morphology of tropical tree seedlings. In: SWAINE, M.D (Ed.). **The ecology of tropical forest tree seedlings**. Paris: Unesco. v.1. p. 59-129. 1996.

HAYASHI, A.H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. The origin and anatomy of rhizophores in *Vernonia herbacea* and *V. plantensis* (Asteraceae) from Brazilian Cerrado. **Australian Journal of Botany**. v.53, p.273-279. 2005.

HAYASHI, A.H. Morfo-anatomia de sistemas subterrâneos de espécies herbáceo-arbustivas e arbóreas, enfatizando a origem das gemas caulinares. 2003. 154p. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil. 2003.

HAYASHI, A.H. Estudos anatômicos de raízes geminíferas de espécies arbóreas e arbustivas de um fragment florestal em Campinas (SP), Brasil. 1998. 63 p. Dissertação de Mestrado, Escola Superior Luiz de Queiroz, Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. 1998.

HERTEL, R.J.G. Estudos sobre a *Phoebe porosa* (Nees) Mez I. nomenclatura da imbuia e alguns dos problemas que encerra. **Dusenia**, v.8. p.165-194, 1968.

- KUNIYOSHI, Y.S. Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com Araucária. 1983. Dissertação (Mestrado em Silvicultura)—Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1983.
- MACHADO, S.R.; OLIVEIRA, D.M.T.; DIP, M.R.; MENEZES, N.L. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica**. v.27, n.1, p.115-123. 2004.
- MENEZES, N.L.; MULLER, C.; SAJO, M.G. Um novo e peculiar tipo de sistema subterrâneo em espécies de Vernonia da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil) **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** v.7, p. 33-38. 1979.
- MUSSURY, R. M.; SCALON, S.P.Q.; GOMES, A.A.; BARROS, S.S.U.D. Caracterização morfoanatômica de plântula de *Gomphrena elegans* Mart. (Amaranthaceae). **Acta Scientarium Biological Science**. v.28. n.2, p.87-93. 2006.
- OLIVEIRA, E. C. Morfologia de Plântulas. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Eds). **Sementes Florestais Tropicais**. ABRATES, Brasília, v.1. p.175-214. 1993.
- PARRA, P. Estudio de la morfologia de plantulas de *Calliandra gracilis, Mimosa albida, Mimosa carporume Mimods tenuiflora*. **Revista da Faculdadede Agronomia**, v.13. p.311-350. 1984.
- RAWISTCHER, F.; Ferri, M.G.; Rachid, M. Profundidade dos Solos e Vegetação em Campos Cerrados do Brasil Meridional. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.15. p.267-294. 1943.
- RICARDI, M.; TORRES, F.; HERNANDEZ, C.; QUINTEIRO, R. Morfologia de plántulas de árboles venezolanos. I. **Revista Florestal Venezolana.** v.27: p.15-56. 1977.
- RITTER, L.M.O. Composição florística e aspectos físicos do Cerrado nos Campos Gerais, **Paraná.** Ponta Grossa. Dissertação de Mestrado. 2008. Universidade Estadual de Ponta Grossa. 2008.
- RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**. 2ª Edição. Âmbito Cultural Edições Ltda, Rio de Janeiro. 1997.
- RIZZINI, C.T. Estudos experimentais sobre o xilopódio e outros órgãos tuberosos de plantas do cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** v.37. p.87-113.1965.
- RIZZINI, C.T.; HERINGER, E. P. Underground organs of plants from some southern Brazilian savannas, with special reference to the xylopodium. **Phyton**. v.17. p.105-124. 1961.
- SAJO, M.G.; MENEZES, N.L. Origem e crescimento do rizóforo em espécies de VernoniaScreb (Compositae) da Serra do Cipó MG. **Revista de Biologia** v.46. p.197-202. 1986.
- SOUZA, L. A. (Org.). **Sementes e plântulas germinação, estrutura e adaptação**. 1. ed. Ponta Grossa: TODAPALAVRA Editora, 2009. 280 p.

SOUZA, L.A. **Morfologia e anatomia vegetal (célula, tecidos, órgãos e plântula)**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa. 2003.

SOUZA, L.A.; OLIVEIRA, J.H.G. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia* avellaneade Lor. Ex Griseb et. *Chrysotricha* (Mart. Ex Dc.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum.** v.26. p.217-226. 2004.

VILHALVA, D.A.A.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Morfo-anatomia do sistema subterrâneo de *Calea verticillata* (Klatt) Pruski e *Isostigma megapotanicum* (Spreng.) Sherff-Asteraceae. **Revista Brasileira de Botânica**. v.29. p. 39-47. 2006.

VOGEL, E.F. **Seedlings of dicotyledons (structure, development, types)**. Wageningen: Pudoc/Centre for Agricultural Publishing and Documentation. 1980.

CAPÍTULO 1

Estrutura e origem do sistema subterrâneo em espécies de Asteraceae da vegetação estepe gramíneo-lenhosa

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica no periódico *International Journal of Plant Science*.*

^{*}Normas do periódico no Anexo 1

ESTRUTURA E ORIGEM DE SISTEMA SUBTERRÂNEO EM ESPÉCIES DE ASTERACEAE DA VEGETAÇÃO ESTEPE GRAMÍNEO-LENHOSA

Luciane da	Silva Santos ^{1*}	e Luiz Antonio	de Souza ²
Luciane da	on va bantos	C Luiz / mitomo	uc bouza

¹ Universidade Estadual de Maringá, Programa de Biologia Comparada, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.

² Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, CEP 87020-900, Maringá- PR, Brasil.

^{*}correspondência autor: luciane_mgabio@hotmail.com

RESUMO

A vegetação Estepe Gramíneo-Lenhosa nos campos gerais no Paraná apresenta plantas herbáceas e subarbustos, sendo caracterizada por algumas peculiaridades como a composição florística, natureza geopedológica, regime hídrico e ocorrência eventual de fogos. Esses fatores bióticos ou abióticos contribuem para diferenciação de caracteres adaptativos das diversas espécies e pode ocorrer à formação de sistemas subterrâneos bem desenvolvidos. As espécies de Asteraceae são bem representadas no sul do país e com grande frequência de sistemas subterrâneos. Diante disso o presente trabalho objetiva a análise ontogenética e morfoanatômica dos sistemas subterrâneos das asteráceas Calea pohliana, Chrysolaena cognata e Verbesina sordescens Os sistemas subterrâneos foram analisados em plantas adultas e durante o desenvolvimento de plântulas. As plântulas foram obtidas a partir da germinação das cipselas e desenvolvidas em casa de vegetação. O material botânico foi fixado e analisado estruturalmente, segundo técnicas usuais em morfoanatomia vegetal. Os sistemas subterrâneos são classificados como xilopódio e tubérculo, sendo que o xilopódio apresenta raiz tuberosa. A tuberização ocorre no hipocótilo e eventualmente possui na base da raiz. O xilopódio de C. pohliana apresenta diferenciação quanto ao desenvolvimento do câmbio, apresentando câmbio bidirecional e câmbios adicionais apenas com metaxilema, enquanto as outras espécies possuem apenas câmbio bidirecional. Os sistemas subterrâneos das Asteraceae analisadas aqui têm origem principalmente do hipocótilo, devido à ação de câmbio bidirecional e variante cambial.

Palavras-chave: Hipocótilo, raiz, sistema subterrâneo, xilopódio, zona de transição.

Introdução

A vegetação Estepe Gramíneo-Lenhosa que é considerada como uma das mais extensas do planeta com grande riqueza de plantas vasculares, mamíferos e aves (Bilenca e Miñarro, 2004), possui plantas em geral de hábito herbáceo e subarbustivo (Alonso, 1977). O Segundo Planalto do Paraná apresenta vegetação campestre, campos naturais (Maack, 1981; Leite e Klein, 1990) com alta homogeneidade fisionômica caracterizando-a também como Estepe Gramíneo-Lenhosa (Moro e Carmo, 2007). Porém, nesta vegetação que se estende pelo sul do Brasil ocorre Floresta Ombrófila Mista, formando um mosaico vegetacional (Oliveira, 2002). Esta vegetação do Sul do Brasil mostra peculiaridades quanto à florística, unidades geopedológicas, regime hídrico e clima que influenciam diretamente na distribuição e ocorrência das espécies (Kozera, 2012).

As características fisionômicas desta vegetação são semelhantes aos campos do Cerrado, com ocorrência de fogo por ação natural ou antrópica (Roderjan et al., 2002), insolação, ventos, profundidade de solo, condições de drenagem e xerófitas (Moro e Carmo, 2007), e que em geral podem apresentar espécies com órgãos subterrâneos de origem e estrutura diversas, além de ramos caulinares e raízes com capacidade de formar novos brotos (Appezzato-da-Glória et al., 2008).

Estudos com espécies do Cerrado apresentam, entre outras características, a capacidade de resistir ao fogo mediante desenvolvimento de sistema subterrâneo (Hayashi e Appezzato-da-Glória, 2005). No Cerrado, os órgãos subterrâneos estão em geral relacionados a período de seca que perdem biomassa aérea e rebrotam na estação chuvosa (Fidelis, 2002), ocorrendo o mesmo com espécies resistentes ao fogo (Rizzini e Heringer, 1961). Além disso, espécies de regiões áridas podem apresentar acúmulo de reserva em raízes, caules e folhas, como uma das várias estratégias adaptativas de plantas expostas a condições adversas (Kummerow, 1980; Figueiredo-Ribeiro et al., 1986). Além dos Cerrados, os campos rupestres e a caatinga também podem apresentar espécies com sistemas subterrâneos bem desenvolvidos (Menezes et al., 1979).

Apesar dos estudos sobre sistemas subterrâneos explorarem pouco sobre sua origem e natureza, Vilhalva e Appezzato-da-Glória (2006) registram que eles podem ter natureza radicular, caulinar ou mista, exigindo para sua definição observações morfológicas e análises anatômicas.

Nos campos do sul do Brasil, é frequente a ocorrência de espécies de Asteraceae (Cervi et al., 2007; Dalazoana et al., 2007; Kozera et al., 2009; Dalazoana e Moro, 2011). Alguns estudos têm mostrado a presença de sistemas subterrâneos nesta família, pertencentes

aos tipos xilopódios, rizóforos e raízes tuberosas (Menezes, Müller e Sajo, 1979; Hayashi e Appezzato-da-Glória,2005, 2007; Cury e Appezzato-da-Glória, 2009; Appezzato-da-Glória e Cury, 2011; Vilhalva et al.,2011).

Diante da importância das formações campestres, que têm nível de proteção inferior a 0,3% e considerada uma área mais ameaçada do Continente (Bilenca e Miñarro, 2004); dos sistemas subterrâneos de espécies destas formações, como estratégias de reprodução e sobrevivência; e da alta frequência de espécies de Asteraceae nestes campos, o presente trabalho tem por objetivo a análise ontogenética e morfoanatômica dos sistemas subterrâneos das asteráceas *Calea pohliana, Chrysolaena cognata* e *Verbesina sordescens* (Tabela 1).

Material e métodos

Material botânico, caracterização da área de coleta e análise estrutural das amostras

As três espécies selecionadas para estudo (Tabela 1) foram coletadas no Parque Estadual de Vila Velha, (25°12'34" e25°15'35"S e 49°58'04" e 50°03'37"W, Ponta Grossa, Paraná, Brasil, com altitude de 800 a 1.068 m. Este parque é considerado Unidade de Conservação, com 3.803 ha, que ocorre na região dos Campos Gerais do Paraná, com relictos e vegetação campestre, abrangendo também áreas de Floresta Ombrófila Mista (Silva et al., 2016). As áreas de campo seco deste parque são bem drenadas, associadas a solos de textura arenosa e média (Moro e Carmo, 2007) com queimadas esporádicas e acidentais (Silva et al., 2016).

A seleção das espécies foi baseada no levantamento realizado por Cervi et al. (2007) e o número indivíduos foi coletado de acordo com a disponibilidade do material botânico, disponibilidade reprodutiva de cada espécie e período de coleta, sem estação definida. O material botânico consistiu de fragmentos do sistema subterrâneo, cipselas para estudo de plântulas e planta inteira para a confecção das exsicatas.

Tabela 1. Relação das espécies estudadas, com local da coleta, fitofisionomia e registro de herbário.

Espécie	Tribo	Local de coleta	Voucher
		/Fitofisionomia	
Calea pohliana Sch.Bip. ex	Heliantheae	Parque Estadual Vila Velha	HUEM
Baker		- Campo Seco	24592
Chrysolaena cognate (Less.)	Vernonieae	Parque Estadual Vila Velha	HUEM
Dematt		- Campo Seco	24639
Verbesina sordescens DC.	Heliantheae	Parque Estadual Vila Velha	ı HUEM
		- Campo Seco	24553

As amostras foram fixadas em FAA 50 (Johansen, 1940) e em seguida estocadas em álcool etílico 70%. Os sistemas subterrâneos dosindivíduos adultos coletados para cada espécie foram secionados em vários níveis dos órgãos, sendo possível analisar região proximal e distal.

Os cortes transversais feitos à mão livre foram clarificados com hipoclorito de sódio a 20%, lavados com água destilada, corados com azul de Astra e safranina e montados em glicerina. As amostras para secionamento em micrótomo rotativo foram desidratadas através da série etílica e infiltradas em resina plástica (Leica Historesin) conforme orientações do fabricante. Os blocos obtidos foram secionados transversalmente a 7-10µm de espessura. Em seguida, o material foi corado com Azul de Toluidina tampão acetato pH 4.7 (O'Brien et al., 1964, modificado) e as lâminas permanentes montadas com resina sintética. Foi realizado teste para detecção dos cristais de inulina, em que as amostras foram submetidas ao timol 15% em solução alcoólica com ácido clorídrico (Johansen, 1940).

Fotomicrografias foram feitas em microscópio de luz Leica EZ4D com câmara digital e, posteriormente, elas foram processadas utilizando-se do software Leica Application Suite version 1.8.

Desenvolvimento do sistema subterrâneo

Para a análise da origem e desenvolvimento dos sistemas subterrâneos das três espécies investigadas, as cipselas coletadas foram colocadas para germinar em placas de Petri com diâmetro de 90 mm, forradas com papel filtro umedecido com água destilada e mantidas sob temperatura média de 21°C e fotoperíodo de 12h. Após a emergência dos cotilédones, as plântulas foram transferidas para placa de isopor contendo mistura de substrato e solo coletado do ambiente de ocorrência das espécies, sendo transferidas posteriormente para copos e sacos plásticos contendo o mesmo tipo de solo. O desenvolvimento das plantas ocorreu até 120 dias, quando o sistema subterrâneo era notável. Foram coletados vários exemplares, em diferentes fases de desenvolvimento, sendo em seguida fixados em FAA 50, e conservados em álcool 70%. Este material foi submetido aos mesmos procedimentos já relatados anteriormente para estudos morfológicos e anatômicos.

Resultados

Morfologia e origem dos sistemas subterrâneos

Calea pohliana, Chrysolaena cognata e Verbesina sordescens possuem sistemas subterrâneos que se enquadram como tipos morfológicos xilopódio típico, tubérculo geminífero, xilopódio com raízes tuberosas, respectivamente (Fig. 1a, c, e). Em *C. pohliana* e *V. sordescens* os ramos aéreos se originam do mesmo ponto do sistema subterrâneo (Fig. 1b, f), enquanto *C. cognata* apresenta, além de ramo aéreo, algumas gemas reparativas na parte superior do órgão subterrâneo (Fig. 1d).

O sistema subterrâneo das plantas adultas de *C. pohliana* tem orientação vertical, com formato tuberifome, mostrando na porção superior (região de diâmetro maior) muitos ramos aéreos caulinares e raiz tuberosa na parte inferior (região de diâmetro menor); possui, ainda, consistência seca, dura e lignificada, caracterizando o tipo xilopódio (Fig. 1a,b). *Chrysolaena cognata* consiste de sistema subterrâneo nos indivíduos adultos com orientação horizontal em relação ao solo, sem formato definido, com vários tubérculos de consistência tenra, agrupados, com gemas laterais, raízes na parte inferior e ramos aéreos na parte superior (Fig. 1c-d) e pode ser classificado como tubérculo. *Verbesina sordescens*, por sua vez, apresenta também orientação horizontal, como a primeira espécie, tem consistência rígida com raízes laterais tuberosas, caracterizando-se como xilopódio com raízes tuberosas, pois a parte central é mais dura e seca, com ramo aéreo na parte superior, e com raízes de consistência tenra localizadas na parte inferior se desenvolvendo horizontalmente (Fig. 1e-f).

O desenvolvimento morfológico do sistema subterrâneo de cada espécie foi acompanhado desde os estágios iniciais até a planta com 120 dias. As plântulas das três espécies são fanerocotiledonares e epigeias (Fig. 2a,b,c), com raiz primária e hipocótilo relativamente alongados (Fig. 2d,e). A tuberização do sistema subterrâneo de *C. pohliana* ocorre na base da raiz e prolonga-se por todo o hipocótilo, alcançando o nó cotiledonar (Fig. 2e), enquanto em *C. cognata* ela abrange a região do colo/coleto e todo o hipocótilo (Fig. 2f). A tuberização de *V. sordescens* é semelhante à de *C. pohliana*, envolvendo a base da raiz e o hipocótilo (Fig. 2g). Ressalta-se, assim, que nas três espécies o sistema subterrâneo é formado essencialmente pelo hipocótilo e colo/coleto, sendo que a raiz pode participar parcialmente de sua formação.

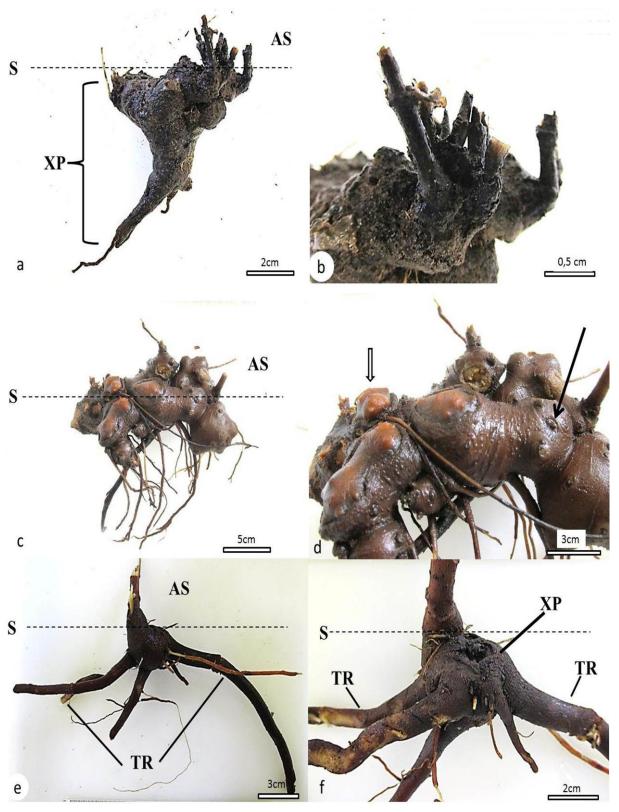


Fig. 1. Morfologia dos sistemas subterrâneos de (a) *Calea pohliana*,(c) *Chrysolaena cognata*, (e) *Verbesina sordecens*. (b) Detalhe da parte aérea com único ponto de ramificação caulinar. (d) Tubérculo com gemas reparativas (seta branca) e gemas caulinares (seta preta). (f) Xilopódio com raízes tuberosas. AS = Parte aérea, TR = Raiz tuberosa. XP= xilopódio S = nível do solo



Fig. 2. Desenvolvimento do sistema subterrâneo de espécies de **(a)** *Calea pohliana*, **(b)** *Chrysolaena cognata* e **(c)** *Verbesina sordenscens*. **(d)** Plântula de *C. pohliana*, com 10 dias. **(e)** *C. pohliana* com 35 dias, início da tuberização do hipocótilo (seta). **(f)** *C. cognata* com 40 dias mostrando início da tuberização da região do hipocótilo (seta). **(g)** *V. sordenscens* com 30 dias - tuberização base da raiz e hipocótilo (seta). Fc = fase cotiledonar, Fe = fase de eofilo, P1 = primeiro estágio de tuberização. P2 = segundo estágio de tuberização, P3 = terceiro estágio de tuberização. P4 = quarto estágio de tuberização.

Estrutura geral dos órgãos que originam os sistemas subterrâneos

Em *C. pohliana*, o crescimento secundário do sistema subterrâneo inicia-se por volta do 23º dia de desenvolvimento da planta (Fig. 3a). Em *C. cognata* a tuberização ocorre a partir do 35º dia, com início do desenvolvimento secundário na região da base da raiz estendendo-se até o nó cotiledonar (Fig. 3b), enquanto em *V. sordescens* o crescimento secundário ocorre por volta do 28º dia (Fig. 3c).

A análise anatômica das regiões morfológicas que originam o sistema subterrâneo das três espécies, em estágio inicial de desenvolvimento, revelou que a raiz é diarca, com xilema e floema primários alternos, a epiderme é irregular e mostra pelos unicelulares (Fig. 4a), enquanto a epiderme no hipocótilo é regular e cuticularizada. O córtex é parenquimático tanto na raiz como no hipocótilo, mas neste podem ocorrer cloroplastos nas células corticais. A endoderme com estrias de Caspary é bem evidente na raiz. O colo/coleto e o hipocótilo mostram estrutura de transição entre raiz e caule, que se caracteriza pela formação de medula parenquimática e afastamento dos elementos traqueais do xilema primário (Fig. 4b,c), dispondo-se em anel ao redor da medula. Na região superior do hipocótilo, nas proximidades do nó cotiledonar, organizam-se os traços cotiledonares e epicotiledonares (Fig. 4d). Fibras perivasculares foram observadas na face floemática (Fig. 4e, f). Cavidades e dutos secretores podem ocorrer no córtex ou na face externa floemática (Fig. 4c, f). O crescimento secundário destas regiões tuberiformes inicia-se com câmbio bidirecional de origem procambial e pericíclica.

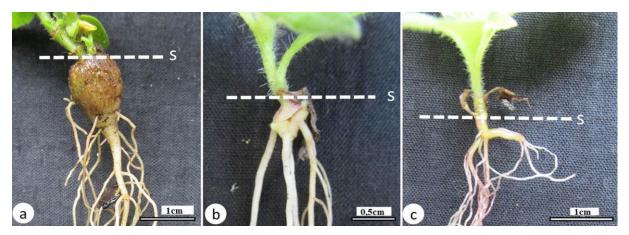


Fig. 3. Morfologia das plantas em crescimento secundário. (a) *Calea pohliana*. (b) *Chrysolaena cognata*. (c) *Verbesina sordescens*. S= região de nível do solo.

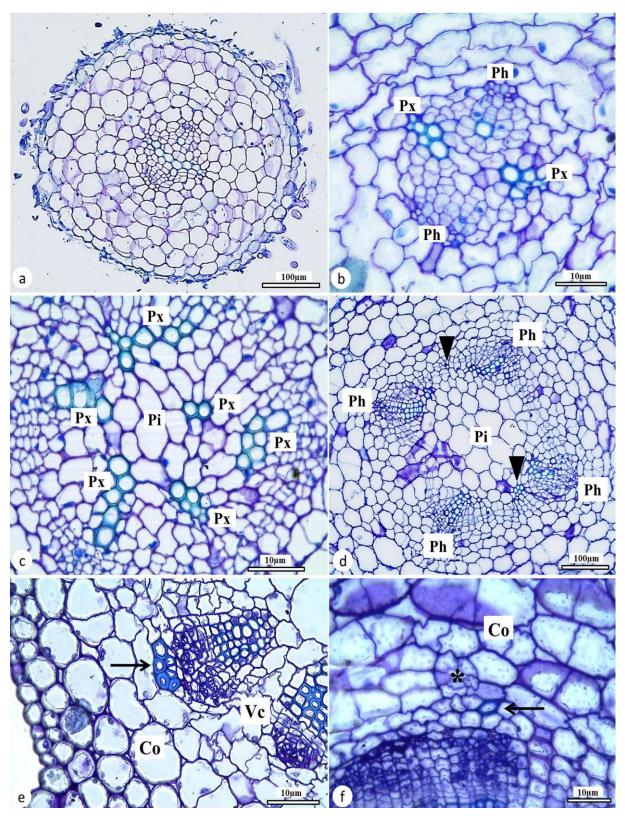


Fig. 4. Estrutura da raiz e hipocótilo de *Calea pohliana* (**a, b,c, d**), *Verbesina sordescens* (**e**), (**f**) em seções transversais. (**a**)raiz (**b**) base da raiz. (**c**) zona de transição raiz/caule. (**d**) hipocótilo região superior (**e**) detalhe do feixe vascular e córtex, hipocótilo. (**f**) detalhe da fibra no cilindro central. Co= córtex, Pi= medula, Ph= protofloema, Px= protoxilema, Vc= câmbio vascular. Ponta de seta= traços cotiledonares, seta preta= fibra perivascular, (*) asterisco= Canal secretor.

Estrutura dos órgãos adultos dos sistemas subterrâneos

As regiões do sistema subterrâneo das três espécies apresentam estruturas anatômicas complexas. Em *C. pohliana* o xilopódio estruturalmente possui poucas camadas da periderme em processo de descamação, córtex parenquimático bastante lignificado e com cavidades secretoras, o sistema axial do xilema secundário formado por faixas relativamente estreitas de esclerênquima, elementos traqueais e pouco parênquima axial e o sistema radial que consiste de faixas largas de tecido parenquimático; também ocorrem esclereídes e canais secretores em grande quantidade (Fig.5a, b). Ressalta-se ainda que estas faixas parenquimáticas não devem ser constituídas apenas de parênquima radial, mas deve ter células do parênquima axial. Com referência à atividade meristemática do câmbio, observam-se dois tipos cambiais, um bidirecional (Fig. 5a), que forma floema e xilema secundários, e câmbios adicionais que surgem no interior do xilema secundário, originando unidirecionalmente apenas células do xilema secundário (Fig. 5b). No floema secundário há sistema axial com esclerênquima, tubos crivados e parênquima, e faixas mais largas de parênquima onde ocorrem esclereídes, isolados ou agrupados, e canais secretores.

Em *C. cognata* a porção tuberizada consiste de periderme relativamente fina, pouco desenvolvida, córtex parenquimático amplo, com esclereídes isoladas ou agrupadas (Fig 5 c). Há apenas câmbio bidirecional que forma floema secundário mais reduzido quando comparado com xilema secundário, que mostra sistema axial com parênquima, tubos crivados e escassas células esclerenquimáticas. O sistema radial do floema secundário consiste de raios parenquimáticos com células, em geral, alongadas tangencialmente que mostram evidências de divisões anticlinais. Fibras perivasculares ocorrem na periferia do floema (Fig. 5d). O xilema secundário é composto de sistema axial formado por faixas estreitas consistindo de elementos traqueais, parênquima esclerificado e fibras. O parênquima radial do xilema secundário é mais largo que o sistema axial e consiste de células alongadas radialmente de paredes pouco espessas e delgadas. O órgão subterrâneo possui medula parenquimática reduzida (Fig. 5e).

A casca do xilopódio de *V. sordescens* consiste de periderme fina (Fig. 5f), parênquima com esclereides isoladas ou agrupadas e cavidades e canais secretores, floema primário e floema secundário. O floema secundário, originado por câmbio bidirecional, caracteriza-se por apresentar os sistemas axial e radial de larguras equivalentes e com poucas células esclerenquimáticas (Fig. 5f). Como nas espécies anteriores, o sistema axial do xilema secundário é mais estreito que o radial que mostra células parenquimáticas de formato e

tamanho variáveis e paredes delgadas (Fig. 5g). Neste parênquima do xilema secundário há reserva de cristais de inulina (Fig. 5h).

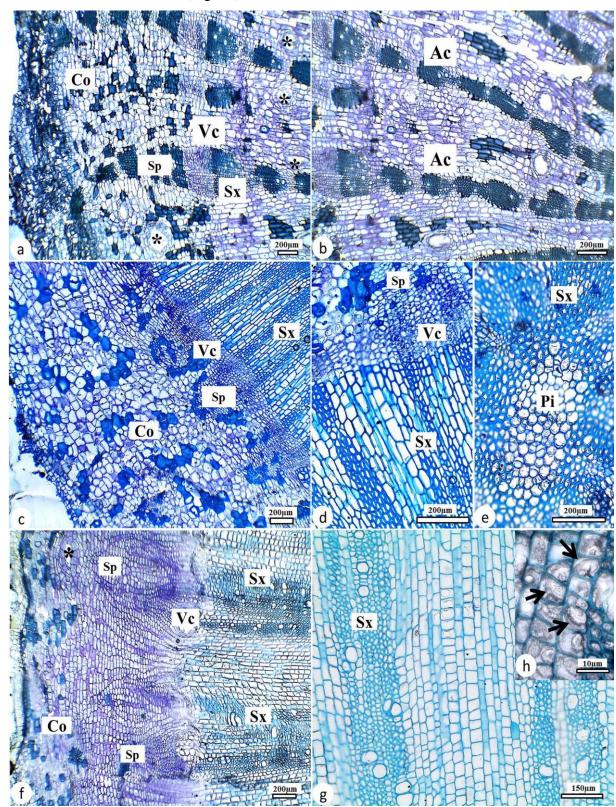


Fig. 5. Estrutura do sistema subterrâneo adulto em cortes transversais, de, *Calea pohliana* (a), (b) *Chrysolaena cognata* (c), (d), (e) e *Verbesina sordecens* (f), (g), (h). Ac= câmbios adicionais, Co= córtex, Pi= parênquima medular, Sp floema secundário, Sx= Xilema

secundário. Vc= câmbio vascular. (*) asterisco= canais e dutos secretores. Seta preta= cristais de inulina.

Discussão

Os xilopódios de C. pohliana e V. sordescens têm origem mista, ou seja, provêm do hipocótilo e da base da raiz. Nas primeiras descrições de xilopódio, realizadas por Lindman (1906) e ressaltadas por Rachid (1947), Rizzini e Heringer (1961) e Rizzini (1965), ele foi caracterizado estruturalmente como caule subterrâneo tuberoso e lignificado. Trabalhos posteriores como de Paviani (1987) e Hayashi e Appezzato-da- Glória (2007) registram estas mesmas características estruturais iniciais para xilopódio e indicam também sua capacidade geminífera e anatomia muito complexa por sua natureza caulinar, radicular ou mista. Diante da complexidade do xilopódio, Appezzato-da-Glória e Estelita (2000) e Milanez e Moraes-Dallaqua (2003) analisaram a ontogenia do xilopódio de espécies do Cerrado, observando que a estrutura predominante era caulinar, sendo originado essencialmente do hipocótilo e, menos frequentemente, do hipocótilo e região basal da raiz primária. Xilopódios também foram registrados em espécies de Vernonia Schrub. (V. grandiflora Less. e V. brevifolia Less), que foram considerados xilopódios com raízes tuberosas adventícias, com estrutura caulinar (região de auto-enxertia e de transição) e radicular (região subjacente às raízes tuberosas) na primeira espécie, e raiz tuberosa com estrutura radicular mesmo em região de auto-enxertia na outra espécie (Hayashi e Appezzato-da-Glória 2007). Xilopódios de origem mista (estrutura caulinar próximo da região das gemas e radicular próximo da raiz tuberosa) foram verificados em Apopyros warmingii (Baker) G.L.Nesom e Ichthyothere terminalis (Spreng.) S. F. Blake (Abdalla et al. 2016). No caso de C. pohliana e V. sordescens, os xilopódios têm estrutura e natureza de raiz (pequena parte) e da região de transição entre raiz e caule (maior parte).

Ainda com referência à formação do xilopódio, segundo Rizzini (1965), ela pode estar relacionada com o tipo de germinação. De acordo com o autor, nas plântulas hipogeias o hipocótilo reduzido pode não estar individualizado, originando-se o xilopódio da porção superior da raiz primária; no caso das plântulas epigeias, o xilopódio tem origem do hipocótilo e da raiz primária. No tocante às duas espécies aqui investigadas, as plântulas são epigeias, reforçando a tese do autor quanto à participação do hipocótilo e base da raiz na formação do xilopódio.

Sistemas subterrâneos classificados como tubérculos, verificados em *C. cognata*, parecem não ser comuns nas espécies de Asteraceae estudadas até o momento. Na planta adulta de *C. cognata*, coletada nos campos rupestres, o sistema subterrâneo consiste de vários

tubérculos fundidos, mas durante o desenvolvimento experimental de plantas jovens em viveiros não se conseguiu reproduzir este tipo de tubérculo. Isto sugere que no ambiente natural da espécie aqui investigada, a formação de tubérculos fundidos pode estar sujeita a algum fator ambiental inexistente no estudo experimental. Ressalta-se, aliás, que *C. cognata* ocorre nos campos rupestres que sofrem constantes períodos de seca e queimada.

A análise morfológica do tubérculo de *C. cognata* revelou sua origem hipocotiledonar alcançando a região do colo ou coleto. De acordo com Appezzato-da-Glória (2015), o termo tubérculo pode ser sinônimo de estrutura tuberificada, que pode ter origem radicular (tubérculo radicular) ou origem hipocotiledonar (tubérculo hipocotiledonar), embora na terminologia brasileira seja usual os termos raiz tuberosa para tubérculo radicular e tubérculo para órgãos tuberiformes de origem caulinar.

Os sistemas subterrâneos de *C. pohliana* e *C. cognata* aparentemente não apresentam substâncias de reserva, apesar da grande quantidade de parênquima principalmente no xilema secundário. Entretanto, Rawitscher e Rachid (1946) sugeriram que é possível que xilopódios de espécies de ambientes mais áridos possam armazenar água. No caso das duas espécies aqui analisadas pode-se supor que o xilema secundário exerça também esta função de reserva de água, em razão das plantas ocorrerem em local árido nos campos rupestres.

No parênquima xilemático do xilopódio de *V. sordescens* ocorrem cristais de inulina como substâncias de reserva. Inulina foi registrada em sistemas subterrâneos de outras espécies de Asteraceae do cerrado (Tertuliano e Figueiredo-Ribeiro 1993, Melo-de-Pina e Menezes 2003, Vilhalva e Appezzato-da-Glória 2006). Nestas outras espécies, os cristais de inulina foram registrados em parênquima de origem pericíclica (Vilhalva e Appezzato-da-Glória 2006), no parênquima vascular (Tertuliano e Figueiredo-Ribeiro 1993) ou no córtex interno e no cilindro vascular (Melo-de-Pina e Menezes 2003).

Os sistemas subterrâneos de *C. cognata* e *V. sordescens* se desenvolvem mediante ação meristemática de um câmbio bidirecional, enquanto o de *C. pohliana* provém do cambio biredirecional e de variantes cambiais adicionais que se desenvolvem no interior do xilema secundário. Metcalfe e Chalk (1957) registram variantes cambiais ("espessamento secundário anômalo") para outras espécies de Asteraceae, referindo-se, inclusive, a câmbio suplementar.

Conclusão

Os sistemas subterrâneos das três espécies aqui investigadas são classificados como xilopódios em *C. pohliana* e *V. sordescens*, e tubérculo em *C. cognata*. Nas três espécies os sistemas subterrâneos se originam principalmente do hipocótilo, envolvendo na sua formação parte reduzida da raiz primária nas duas primeiras espécies. A ação meristemática do câmbio bidirecional é responsável pela formação tuberiforme dos sistemas subterrâneos nas três espécies, mas em *C. pohliana* também é fundamental a atividade de variantes cambiais adicionais ou suplementares.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Pessoal de Nível Superior) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento parcial do trabalho. Agradecem, ainda, ao Dr. Jimi N. Nakajima pela identificação das espécies de Asteraceae e ao IAP (Instituto Ambiental do Paraná) pela autorização de coleta de material botânico nos Parques Estaduais do Paraná, Brasil.

Referências Bibliográficas

Abdalla FA, MG Moraes, MH Rezende, AH Hayashi, MAM Carvalho 2016 Morpho-anatomy and fructans in the underground system of *Apopyros warmingii* and *Ichthyothere trminalis* (Asteracae) from the cerrado rupestre. J. Torrey Bot. Soc. 143 1:69-86.

Alonso MTA 1977 Vegetação. In: *Geografia do* Brasil: região Sul. Rio de Janeiro: SERGRAF/Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. p. 81-110.

Appezzato-da-Gloria B 2015 Morfologia de sistemas subterrâneos de plantas = Morphology of underground systems Belo horizonte: 3i Editora, 160 p.

Appezzato-da-Gloria B, G Cury 2011 Morpho-anatomical features of underground systems in six Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. An. Acad. Bras. Ciênc. 83:1–11.

Appezzato-da-Gloria B, MEM Estelita 2000 The developmental anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* Vell.) Woodson and *M. vlutina* (Mart. Ex Stadelm.) Woodson (Apocynaceae). Rev. Bras. Bot. 23:27-35

Appezzato-da-Gloria B, AHH Hayashi, G Cury, MKM Soares, R Rocha 2008 Underground systems of Asteraceae species from the Brazilian Cerrado .J. Torrey Bot. Soc. 135:103–113.

Bilenca D, F Miñarro 2004 Identificación de áreas valiosas de pastizal (AVPs) en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur de Brasil. Buenos Aires: Fundación Vida Silvestre Argentina. 352 p.

Cervi AC, LV Linsingen, G Hatschbach, OS Ribas 2007 A vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, Município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Bol. Mus. Bot. Mun. Curitiba 69:1-52.

Cury G, B Appezzato-da-Glória 2009 Internal secretory spaces in thickened underground systems of Asteraceae species. Austral. J. Botany. 57:229-239.

Dalazoana K, MA Silva, RS Moro 2007 Comparação de três fisionomias de campo natural do Parque Estadual de Vila Velha, Ponta Grossa, PR. Rev. Bras. Bioc. 5:675-677.

Dalazoana K, RS Moro 2011 Riqueza específica em áreas de campo nativo impactadas por visitação turística e pastejo no Parque Nacional dos Campos Gerais, PR. Rev. Flor. 41:387-396.

Figueiredo-Ribeiro RCL, SMC Dietrich, EP Chu, MAM Carvalho, CCJ Vieira, TT Graziano 1986 Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. Rev. Bras. Botânica 9:159–166.

Hayashi AH, B Appezzato-da-Glória 2005 The origin and anatomy of rhizophores in *Vernonia herbacea* and *V. platensis* (Asteraceae) from the Brazilian Cerrado. Austral. J. Bot. 53:273–279.

Hayashi AH, B Appezzato-da-Glória 2007 Anatomy of the underground system in *Vernonia grandiflora* Less. and *V. brevifolia* Less. (Asteraceae). Braz. Arch. Biol. Tech. 50:979–988.

Johansen DA 1940 Plant microtechnique. New York, McGraw-Hill. Book Company Inc., 523 p.

Kozera C, IS Kuniyoshi, GF Curcio 2009 Composição florística de uma formação pioneira com Influência fluvial em Balsa Nova, PR, Brasil. Rev. Flor. 39:309-322.

Kozera, C 2012 Espécies vasculares de uma área de campos naturais do sul do Brasil em diferentes unidades pedológicas e regimes hídricos Rev. Bras. Bioc. 10 3:267-274

Kummerow J 1980 Adaptation of roots in water-stressed native vegetation. In: N C Turner and P J Kramer (eds.), Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress, p. 419-433, Wiely, New York.

Leite P; RM Klein, 1990 Vegetação. In: IBGE. Geografia do Brasil: região Sul. v2. Rio de Janeiro. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. p. 113-150.

Lindman, CAM 1906 A vegetação do Rio Grande do Sul (Brasil Austral) Trad. Alberto Loefgren. Tipografía "Livraria Universal", Porto Alegre. 365p.

Maack R 1981 *Geografia física do Estado do Paraná*. 2. ed. Rio de Janeiro: José Olympio/Curitiba: Secretaria da Cultura e do Esporte do Governo do Estado do PR. 450 p.

Melo-de-Pina GFA, NL Menezes 2003 Meristemic endodermis and secretory structures in adventious roots of Rictherago Kuntze (Mutisieae-Asteraceae). Rev. Bras. Bot. 26:1-10.

Menezes NL; C Müller, Sajo, MG 1979 Um novo e peculiar tipo de sistema subterrâneo em espécies de Vernonia da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil). Bol. Bot. Univ. São Paulo 7:33-38.

Metcalfe CR, L Chalk 1957 Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in taxonomy with notes on economics uses. Clarendon Press, Oxford. 1500p.

Milanez CRD, MA Moraes-Dallaqua 2003 Ontogênese do sistema subterrâneo de Pachyrhizus ahipa (Wedd.) Parodi (Fabaceae). Rev. Bras. Bot. 26:415-427.

Moro RS, MRB Carmo 2007 A vegetação campestre nos Campos Gerais. *In*: M.S. Melo R.S. Moro, G.B. Guimarães (eds.). Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, pp. 93-98.

O'Brien TP, N Feder, ME Mccully1965 Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma. 59:368-373

Oliveira MLAA 2002 Conservação "in situ" da diversidade biológica dos campos sulinos e da mata de araucária. In: ARAÚJO, E. L. *et al.* (Ed.). Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora do Brasil. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, Imprensa Universitária. p.106-108.

Paviani TI 1987 Anatomia do desenvolvimento do xilopódio de *Brasilia sickii* G.M. Barroso. Estágio inicial. Ciênc. Cult. 39:399-405.

Rachid M 1947 Transpiração e sistemas subterrâneos da vegetação de verão dos campos cerrados de Emas. Bol. Bot. Univ. São Paulo, 5:5-140.

Rizzini CT 1965 Estudos experimentais sobre xilopódio e outros órgãos tuberosos de plantas do Cerrado. An. Acad. Bras. Ciênc. 37:87-113.

Rizzini CT, EP Heringer 1961 Underground organs of plants from some southern Brazilian savannas, with special reference to the xylopodium. Phyton 17:105–124.

Roderjan CV, F Galvão, YS Kuniyoshi, G Hatschback 2002 As Unidades Fitogeográficas Do Estado Do Paraná, Brasil. Ciência e Ambiente. 24:75-42

Sajo MG, NL Menezes 1986 Origem e crescimento do rizóforo em espécies de VernoniaScreb. (Compositae), da Serra do Cipó, MG. Revista Brasileira Biologia 46:197–202.

Silva AR; ALPA Andrade, SE Velazc; F Galvão; MRB Carmo 2016 Florística, fitossociologia em três diferentes fitofisionomias campestres no Sul do Brasil. Hoehnea. 43: 325-347.

Tertuliano MF, RCL Fgueiredo-Ribeiro 1993 Distribuition of frutose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. New Phyt. 123:741-749.

Vilhalva DAA, B Appezzato-Da-Glória 2006 Morfoanatomia da raiz tuberosa de *Vernonia oxylepis* Sch. Bip. in Mart. ex Baker – Asteraceae. Act. Bot. Brasil. 20:591–598.

Vilhalva DAA, AL Cortelazzo, MAM Carvalho, RCL Figueiredo-Ribeiro 2011 Histochemistry and ultrastructure of *Campuloclinium chlorolepis* (Asteraceae) tuberous roots accumulating fructan: evidences of functions other than reserve carbohydrate. Aust. J. Bot. 59:46-52

ANEXO 1

INFORMATION FOR AUTHORS

Manuscript Submission

Authors are encouraged to submit manuscripts online via the *International Journal of Plant Sciences* Editorial Manager system at http://ijpss.edmgr.com. Detailed instructions are available below. If you do not have access to the Web, please send one hard copy of your manuscript and a CD-R containing all relevant electronic files to the editorial office. It is no longer necessary to submit a hard copy in addition to an electronic submission.

Statement of Policy

International Journal of Plant Sciences invites papers in all areas of the plant sciences, including genetics and genomics, developmental and cell biology, biochemistry and physiology, morphology and structure, systematics, plant-microbe interactions, paleobotany, evolution, and ecology. To be considered for publication, a manuscript must report unpublished original research not under consideration for publication elsewhere and is expected to present the results of a cohesive investigation. Manuscripts concerned with techniques or methods are acceptable only when accompanied by illustrative observations or quantitative data. The editors welcome manuscripts presenting evaluations and new perspectives on areas of current interest in plant biology. These manuscripts should follow the style of International Journal of Plant Sciences and are subject to both review and editing.

Open Access Policy

IJPS authors have the option to make their accepted paper freely available online immediately upon publication. The fee for Open Access is \$1,300 (discounted to \$400 if the author's institution subscribes to the journal). Contact ijps@press.uchicago.edu for more information. UK authors should note that this option cannot be used to comply with RCUK regulations for gold OA, as the University of Chicago Press requires permission for commercial reuse. UCP does comply with the RCUK regulations for green OA.

"Green" Open Access

The University of Chicago Press supports Green Open Access for all articles, as defined by the RCUK Open Access Policy, under the Press's <u>Guidelines for Journal Authors' Rights</u>.

Formatting Electronic Files

Please adhere to the requirements below when submitting a new or revised manuscript via Editorial Manager. The system relies on automated processing to create a PDF file from your submission. If you do not follow these instructions, your submission cannot be processed and will not be received by the journal office.

Acceptable Formats

- Microsoft Word (.doc)(any recent version)
- PDF (.pdf)
- LaTeX (.tex)
- WordPerfect (.wpd)
- Rich Text Format (.rtf)

File Contents

Word documents should be submitted as a single file. Authors should submit figures as separate files, in TIFF (.tif) or EPS (.eps) (not GIF [.gif] or JPEG [.jpg]) format.

If you submit a LaTeX file, all figures and tables should be external files that are referenced within the main "ms.tex" file by using appropriate commands. LaTeX is especially suited for articles containing extensive math; authors of math-intensive manuscripts can use the AASTeX manuscript package available at http://aastex.aas.org/.

Please note that authors of accepted manuscripts may be required to submit high-resolution hard copies of all figures during production, as not all digital art files are usable.

In addition to the main manuscript file, submit your cover letter *as a separate file* in the same format as your main file. If you used any revision or editorial tracking tools in your word-processing program, be sure the final version of your manuscript does not contain tracked changes.

File Compression and Archives

If you have more than two files to upload into the system (e.g., manuscript, figures, and cover letter), we recommend you combine these files into an archive, so you upload only a single file when submitting the manuscript. Applications for Mac OS (such as StuffIt) and Windows (such as WinZip) support the formats listed below.

The following archive formats may be used:

- Zip (e.g., "archive.zip")
- Unix gzipped tar files (e.g., "archive.tar.gz")

Revised and Final Versions of Manuscripts

If you are submitting a *revised* manuscript, please include your responses to the reviewers' comments as part of the cover letter file. When submitting a revised manuscript with figures, include all figures, even if they have not changed since the previous version. The *final* version of your manuscript must be submitted in Word (doc.), Rich Text (.rtf), or LaTeX (.tex) format, because your keystrokes will be used in publication; a PDF does not contain usable

character data and is thus not adequate. For both revised and final versions of manuscripts, please observe the same formatting instructions outlined above.

General Specifications

Manuscripts that do not follow *International Journal of Plant Sciences* style will be subject to further revision. Please consult the <u>List of Abbreviations and Symbols</u> that may be used without definition in *IJPS*. Manuscripts should be entirely double spaced and arranged in the following sequence:

Title Page

Include manuscript title, authors, affiliations, a shortened title that does not exceed 55 characters (including names of authors) for use as a running head, and four to six keywords.

Abstract

Authors, please note that the format of abstracts has changed.

IJPS requires an abstract in four sections (no citations, no more than 300 words), written in the following format:

- Premise of the Research (Why was the investigation done? Why is it important?)
- Methodology
- Pivotal Results
- Conclusions (What should the readers take from this investigation?)

Please note: In manuscripts where the methods are obvious from the title (e.g., "microscopical investigation of cell wall morphology"), the Methodology section may be omitted.

Text

All sections should be double spaced (i.e., 6 mm between lines). Do not use proportional spacing, right justification, or hyphenation at ends of lines. Page numbering should be applied to the manuscript file, but line numbering (to facilitate the review process) should not, as this is carried out automatically via the Editorial Manager system.

Introduction. The context for the investigation and the author's hypothesis.

Material and Methods. Sufficient information should be provided for replication of the results by a competent colleague.

Results. Provide important results first. Data should be presented in SI units in the form of tables and figures cited in numerical sequence. Include statistical analyses if necessary. *Literature citations and discussion are not allowed in the Results section*. Please note also that figures and tables should be referred to parenthetically; for example, avoid writing "Table 1 gives. . . " or "Figure 3 shows"

Discussion. This section includes important results of the investigation and the pertinent literature.

Acknowledgment(s).

Literature cited. Complete information must be provided, including publisher and location (city and state/country) for articles cited in the Introduction, Material and Methods, and Discussion.

Journal article

Platt-Aloia KM, WW Thomson, RE Young 1980 Ultrastructural changes in the walls of ripening avocados: transmission, scanning and freeze fracture microscopy. Bot Gaz 141:366-373.

Book

Berlyn GP, JP Miksche 1976 Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa State University Press, Ames.

Book chapter

Evert RF, RJ Mierzwa 1986 Pathway(s) of assimilate movement from mesophyll cells to sieve tubes in the *Beta vulgaris* leaf. Pages 419-432 *in* J Cronshaw, RT Giaguinta, WJ Lucas, eds. Plant biology. Vol 1. Phloem transport. Liss, New York.

Monograph

Fritts HC 1969 Bristlecone pine in the White Mountains of California. Papers of the Laboratory of Tree-Ring Research, no. 4. University of Arizona Press, Tucson.

Gentry HS 1972 The agave family in Sonora. USDA Handbook 399. Washington, DC.

Thesis

Anderson CD 1963 A study of the development of the maize mutant *Branched-Silkless* (bd). PhD diss. Purdue University, West Lafayette, IN.

Footnotes

Type footnotes double spaced on a separate page, and number them consecutively; one footnote should contain definitions of all abbreviations when abbreviations are numerous.

Tables

Type tables double spaced, each on a separate page, and number them consecutively in accordance with their appearance in the text. Related data or observations should be arranged in columns. Include table title, headings, body of data, and notes numbered consecutively and keyed to specific parts of the table. For further instructions on the preparation of tables, consult the <u>Guidelines for Tables</u>.

Figures

Figures should be designed to fit the size of an IJPS page (17.5 × 23 cm, 6.75 × 9 inches) or column width (8.25 cm, 3.25 inches). Letters and numerals must be large enough to accommodate reduction and be legible. Photographs should be carefully cropped and evenly arranged in a plate to maximize space use. Figures must be numbered consecutively according to their appearance in text. Plates should be numbered in the order that they are cited in the text, and individual figures making up the plate should be referred to alphabetically. Graphs and figures should be of professional quality and should not include typed entries. For further instructions on the preparation of figures, consult the Guidelines for Artwork.

Figure legends

Typed double spaced on a separate page; self-explanatory without reference to the text.

Miscellaneous

There is no fee for submitting a manuscript to *IJPS*. There are no page charges for publishing a manuscript in *IJPS*. Authors of especially long or heavily illustrated manuscripts may be asked to make a contribution toward the cost of publishing theory manuscripts; however, the contribution can be waived at the editors' discretion.

All manuscripts are reviewed by expert ad hoc reviewers. Manuscripts that are accepted pending revision are accompanied by a separate checklist that explains the needed revisions; manuscripts should be revised within 8 weeks.

Color reproduction Questions on procedures and costs should be directed to the *IJPS* editorial office.

Cover photos are chosen by the editors from the contents of the issue; authors are invited to submit a figure or diagram for consideration when the manuscript is submitted.

Online-Only Content

Material that is not integral to the body of the article and that substantially lengthens the print version of the article (e.g., genetic and character matrices, extended cladograms, extended tables) should be desgignated as appendixes (table A1, etc.) and thus appear in the electronic edition of *IJPS* only. Exception: If voucher material is presented in your manuscript, this should be listed in the first appendix (appendix A1), and this will appear in the print version of *IJPS*. To prepare your accession data, provide an appendix title and a sentence-style row of headings for the data. For each taxon sampled, include specimen voucher information and/or gene accession numbers, separated by commas. To save space, the taxa should be run together in a paragraph.

Online Submission Instructions

Please have the following items readily available before beginning the online submission process:

- Manuscript in an acceptable format as described above
- Cover letter as a separate file
- Information from title page (to be typed into the peer review database): title, short title, list of authors and affiliations, and contact information for the corresponding author
- Abstract of the manuscript (to be copied and pasted into a field in Editorial Manager)
 Go to the *IJPS* Editorial Manager system at http://ijpss.edmgr.com to submit your manuscript. If you do not have access to the Web, please send one hard copy of your manuscript and a CD-R containing all relevant electronic files to the editorial office. It is no longer necessary to submit a hard copy in addition to an electronic submission.

CAPÍTULO 2

Morfologia e anatomia de plântulas de espécies de Asteraceae Bercht & J. Presl. dos Campos Gerais brasileiros

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica no periódico *Botanical Studies.**

^{*} Normas do periódico no Anexo 2

Morfologia e anatomia de plântulas de espécies de Asteraceae Bercht & J. Presl. dos Campos Gerais brasileiros

1	Luciane	da	Silva	Santos 13	^k ⊿ I mia	z Antonio	de So	11792
ı	Luciane	α	Silva	Samos	етли	z Antonio	ae 50	บบรล

¹ Universidade Estadual de Maringá, Programa de Biologia Comparada, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.

² Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, CEP 87020-900, Maringá- PR, Brasil.

^{*}autor correspondência: luciane_mgabio@hotmail.com

RESUMO

Plântulas de *Calea pohliana* Sch. Bip. ex Baker, *Chrysolaena cognata* (Less.) Dematt., *Lessingianthus grandiflora* (Less.), *Mikania cordifolia* (L.f.) Willd, *Symphyopapus casarettoi* B. L., *Verbesina sordescens* DC. e *Vernonanthura crassa* (Vell.) H. Rob., ocorrentes nos campos gerais brasileiros, foram analisadas estruturalmente. As plântulas foram obtidas em casa de vegetação e investigadas segundo técnicas usuais em anatomia vegetal. As plântulas são fanerocotiledonares e epigeias. Elas têm raiz diarca, região de transição raiz/caule geralmente do tipo intermediário-baixo e nó cotiledonar trilacunar com três traços foliares. Os cotilédones foliáceos são dorsiventrais, mas com parênquima paliçádico atípico. Os eofilos têm mesofilo dorsiventral. Os caracteres estruturais das plântulas aqui investigadas foram comparados com as plântulas de outras espécies de Asteraceae já estudadas observando semelhanças nos caracteres morfo-anatômicos, principalmente o nível de transição da vascularização.

Palavras-chave: raiz, região de transição raiz caule, hipocótilo, epicótilo, cotilédones, eofilos.

Introdução

As formações campestres ocupam uma das maiores áreas do planeta, com cobertura estimada em 39 milhões de km², que oferecem importante contribuição à manutenção de composição de gases na atmosfera pela absorção de dióxido de carbono, no controle da erosão dos solos, como fonte de material genético para uma grande quantidade de espécies vegetais e animais que constituem base da alimentação mundial (Bilenca e Miñarro 2004; Cervi et al. 2007). Apesar de toda a importância destas formações campestres, elas apresentam nível de proteção inferior a 0,3% (Bilenca e Miñarro 2004).

Numa formação vegetal, a fase inicial do desenvolvimento de uma planta pode ser decisiva para o estabelecimento de uma determinada espécie (Amo-Rodrigues e Gomez-Pompa 1976), o que exige estudos intensivos sobre plântulas, principalmente de vegetações ameaçadas de destruição. Investigações de plântulas são importantes, ainda, em vários outros estudos de vegetação, como na identificação de plantas nativas ainda na fase juvenil (Gogosz et al., 2010), facilitando o reconhecimento de espécies em matas (Souza e Oliveira, 2004), na indicação do estado sucessional de uma vegetação (Amo 1979), na investigação ecofisiológica do estabelecimento de plantas numa vegetação (Kuniyoshi, 1983) e no reconhecimento de estruturas de transição da planta que desaparecem na passagem para fase adulta (Ricardi et al. 1977).

Nos campos rupestres, as espécies de Asteraceae são bem representadas, destacandose a investigação de Cervi et al. (2007) que registrou mais de 200 espécies nos campos gerais do Paraná. Diante desta representatividade significativa da família, Asteraceae foi selecionada para estudo de plântulas. Apesar da importância desta família em diferentes tipos de vegetação, são poucas as investigações referentes à estrutura de plântulas, destacando-se os trabalhos de Santos et al. (2014) e Kellerman et al. (2016). Nestes trabalhos os autores registraram, entre outros caracteres, que a região de transição raiz/caule das plântulas de Asteraceae é notavelmente diferente, quando comparada com espécies de outras famílias, caracterizando-se pela formação de traços foliares duplos independentes e traço foliar simples comum.

O presente trabalho objetiva a análise morfoanatômica de sete espécies de Asteraceae, oriundas dos campos gerais brasileiros, com a finalidade de: a) caracterizar a estrutura das plântulas dessas espécies, contribuindo com outros estudos botânicos e ecológicos da família; b) auxiliar no reconhecimento das espécies no campo; e c) comparar caracteres estruturais das

plântulas, especialmente a vascularização da raiz, hipocótilo e nó cotiledonar, das espécies aqui investigadas com aquelas analisadas por Santos et al. (2014) e Kellerman et al. (2016).

Material e Métodos

A seleção das sete espécies baseou-se no levantamento florístico realizado por Cervi et al. (2007). As espécies selecionadas e seus respectivos registros no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM) foram *Calea pohliana* Sch. Bip. ex Baker (HUEM 24578), *Chrysolaena cognata* (Less.) Dematt. (HUEM 24576), *Lessingianthus grandiflorus* (Less.) H. Rob. (HUEM 24579), *Mikania cordifolia* (L.f.) Willd (HUEM 29934), *Symphyopapus casarettoi* B.L.Rob (HUEM 24626), *Verbesina sordescens* DC. (HUEM 24566) e *Vernonanthura crassa* (Vell.) H. Rob. (HUEM 24552). Foram coletados ramos reprodutivos e cipselas maduras destas espécies no Parque Estadual de Vila Velha, (25°12'34" e 25°15'35"S e 49°58'04" e 50°03'37"W, Ponta Grossa-Paraná, Brasil, altitude de 800 a 1.068 m), que é uma Unidade de Conservação de 3.803ha, região dos Campos Gerais do Paraná, com relictos e vegetação campestre, abrangendo também áreas de Floresta Ombrófila Mista (Silva et al., 2016). Os ramos serviram para confecção das exsicatas e as cipselas foram armazenadas em sacos de papel, mantidas em temperatura ambiente (25°) até serem colocadas para germinação.

Para obtenção das plântulas, foram utilizadas em média 50 cipselas, previamente desinfestadas em hipoclorito de sódio a 10% e colocadas para germinar em placas de Petri com diâmetro 90 mm, forradas com papel filtro umedecido com água destilada e mantidas sob temperatura média de 21°C e fotoperíodo de 12h. Após a emergência dos cotilédones, as plântulas foram transferidas para placa de isopor contendo mistura de substrato, posteriormente transferidas novamente para copos plásticos contendo o mesmo tipo de solo. As plântulas desenvolvidas no solo foram acompanhadas até a fase cotiledonar e expansão primeiro eofilo. Para a descrição das plântulas foram adotadas as terminologias de Vogel (1980) e Garwood (1996). As fases morfológicas de desenvolvimento das plântulas foram ilustradas mediante fotografias digitais obtidas em câmera digital e por captação de imagem em microscópio estereoscópico Leica ICC50 com câmera digital.

Plântulas obtidas de diferentes fases de desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 e conservadas em álcool 70%. Foram analisados a raiz, colo, hipocótilo, cotilédones, epicótilo e eofilos mediante emblocamento em em historresina Leica conforme orientação do fabricante. Foram realizados cortes transversais, com seções de 10µm de espessura, em micrótomo rotativo manual, sendo coradas em azul de toluidina (O'Brien et al. 1964, modificado) e

montadas em resina sintética. As fotomicrografias foram obtidas por captura de imagem em microscópio Leica ICC50 e preparadas com as respectivas escalas.

Resultados

Morfologia – As plântulas das espécies estudadas são fanerocotiledonares e epigeias (Fig.1a.) A germinação ocorre com protrusão da raiz primária (Fig. 1a) por volta do terceiro dia após as sementes serem colocadas para germinar em ambiente com condições controladas.

A raiz é axial, com poucas ramificações em *V. sordecens*, com colo ou coleto distinguível pela coloração, em *V. crassa* e *M. cordifolia* apresentam coroa de pelos e leve anelamento (Fig. 1b). O hipocótilo é ereto, relativamente curto, cilíndrico e verde, exceto para *C. cognata* que é longo e arroxeado (Fig. 1b). Os dois cotilédones, expandidos aproximadamente entre cinco e dez dias, são opostos, verdes e foliáceos (Fig. 1b-c), com pecíolo curto em *V. crassa* e *C. cognata*, e longo nas demais espécies. O formato do limbo cotiledonar é variável entre espécies, arredondado, ovado, raramente elíptico, sendo a base cotiledonar cuneada ou truncada, e o ápice arredondado ou truncado (Fig. 1c-e). A margem é inteira e lisa para todas as espécies.

Quanto aos eofilos, que se tornam expandidos entre 15 a 25 dias, são simples, opostos, verdes, com pecíolos curtos, exceto em *C. cognata* com pecíolo relativamente longo, com tricomas em *C. cognata* e *V. sordecens*, enquanto as demais espécies são glabras. O limbo foliar apresenta formato elíptico, lanceolada ou ovada, semelhante para *C. cognata*, *L. grandiflorus* e *V. sordecens* o ápice é agudo e base cuneada (Fig. 1c-d), enquanto *C. pohliana* e *V. crassa* apresentaram ápice arredondado ou retuso (Fig. 1e). A margem é inteira e lisa, exceto para *C. cognata*, *M. cordifolia* e *V. sordecens* que é denteada (Fig. 1d).

O epicótilo é curto, exceto em *M. cordifolia* que é relativamente longo (Fig. 1g), verde, tricomatoso em *C. cognata* e *M. cordifolia* e cilíndrico para todas as espécies.

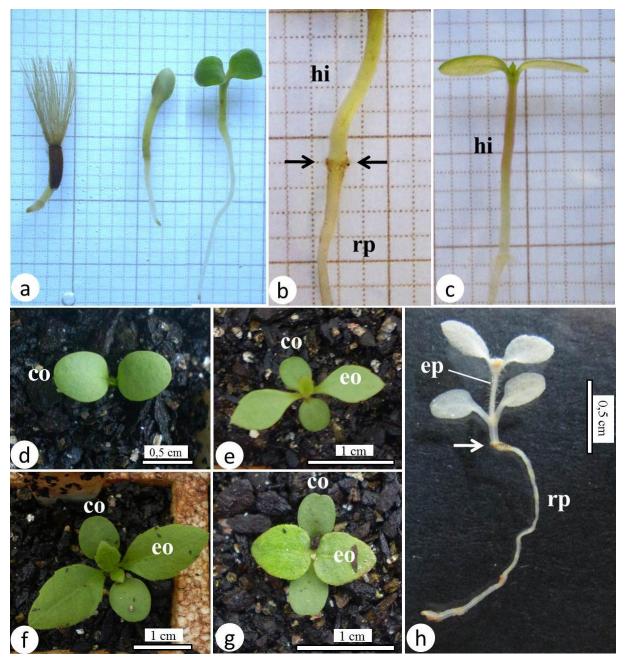


Fig. 1 Morfologia e desenvolvimento de (a, b, g) Vernonanthura crassa. (c, e) Chrysolaena cognata. (d, f) Verbesina sordescens. (h) Mikania cordifolia. (a) Protrusão e fase cotiledonar. (b) Região de colo/coleto com coroa de pelos. (c) Detalhe do hipocótilo em fase cotiledonar. (d) Plântula aproximadamente sete dias com cotilédones foliáceos. (e, f, g) Plântulas 20 dias com cotilédones eofilos aproximadamente e expandidos. (h) 25 aproximadamente dias diafanizada, epicótilo longo. co=cotilédone; eo=eofilo; ep=epicótilo; hi=hipocótilo; rp=raiz primária; Setas branca/preta =região do colo/coleto.

Anatomia – As raízes das sete espécies estudadas são diarcas (Fig. 2a). A epiderme é unisseriada e apresenta pelos unicelulares (Fig. 2b). O córtex possui exoderme uniestratificada, com poucas camadas de parênquima cortical e endoderme com estria de Caspary. No cilindro central o periciclo é unisseriado, com xilema e floema alternos (Fig. 2b-c).

A região do colo/coleto apresenta pouca diferença estrutural em comparação com a raiz, mas em *C. pohliana* e *C. cognata* podem ocorrer formação de medula (Fig. 2c) e início de desenvolvimento do câmbio vascular (Fig. 2c). O hipocótilo consiste de epiderme unisseriada, glabra ou com tricomas pluricelulares glandulares e tectores, apresentando estômatos em todas as espécies (Fig. 2d). No córtex hipocotiledonar o parênquima é clorofilado, principalmente próximo ao nó cotiledonar e raramente apresenta colênquima.

A vascularização do hipocótilo merece destaque por ser de transição entre raiz e caule e mostra diferença entre as espécies aqui analisadas. Em *C. pohliana*, *C. cognata*, *S. casarettoi*, *V. sordescens* e *V. crassa* a zona de transição raiz/caule inicia-se na base da raiz e/ou colo/coleto com o afastamento dos elementos traqueais metaxilemáticos centrais e formação de medula parenquimática; nesta região há dois cordões floemáticos (Fig. 2d). Na base do hipocótilo estes cordões floemáticos se subdividem formando quatro cordões (Fig. 2d-e), que permanecem assim até proximidades do nó cotiledonar. Neste nível, os elementos traqueais afastados e os quatro cordões floemáticos se organizam nos traços cotiledonares (Fig. 2e). Estes traços são de dois tipos, os duplos que têm percurso independente na vascularização dos cotilédones, e os simples que são comuns a ambos os cotilédones e têm origem na ramificação de dois feixes localizados entre os duplos (Fig. 2e-f) Assim, cada cotilédone recebe um traço duplo independente e dois traços simples comuns a ambas as folhas cotiledonares. Desta forma, o nó cotiledonar pode ser classificado como trilacunar com três traços foliares.

A zona de transição de *L. grandiflorus* e *M. cordifolia* é semelhante às outras cinco espécies, mas a quantidade de metaxilema em *L. grandiflorus* é visivelmente maior quando comparada com as outras espécies investigadas (Fig. 3a) e o afastamento dos elementos metaxilemáticos, a formação da medula e a divisão dos cordões floemáticos ocorrem somente na região superior do hipocótilo próximo ao nó cotiledonar (Fig. 3a-d). Ao longo do hipocótilo foram observados canais secretores na face externa floemática para *C. pohliana*, *M. cordifolia*, *S casarettoi* e *V. sordescens* (Fig. 3e-f), que mostram continuidade com os traços cotiledonares ou com o epicótilo de *C. pohliana* (Fig. 3f). Ressalta-se que a quantidade de metaxilema

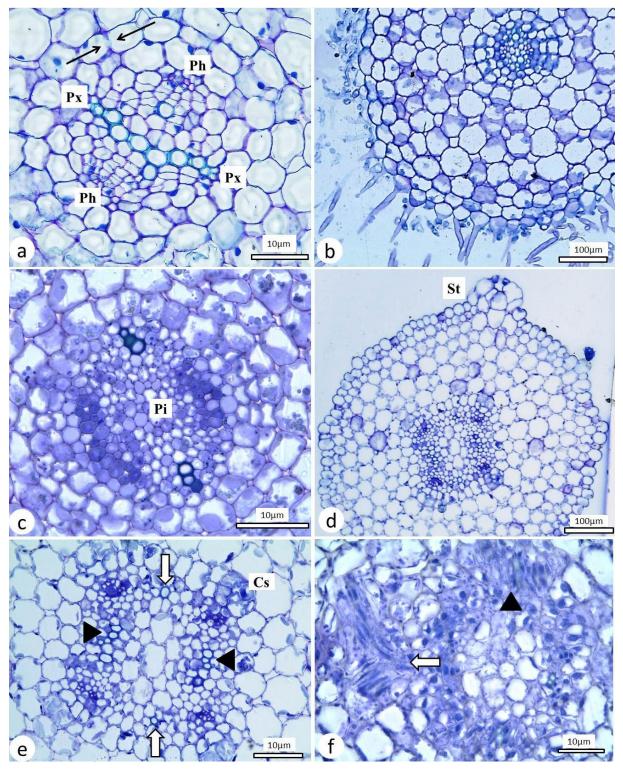


Fig. 2. Zona de transição raiz/hipocótilo, em seções transversais, de plântulas de (a) *Calea pohliana*. (b, c) Colo/coleto *Vernonanthura crassa*. (d, e) *Verbesina sordescens*. (f) *Symphyopappus casarettoi*. (a) Detalhe cilindro vascular da raiz primária; (b) Aspecto geral da raiz primária com pelos unicelulares. (d, e) Hipocótilo; (f) Nó cotiledonar. Ph= floema primário; Pi=medula; Px=xilema primário; St=estômato; Ponta seta preta=traços

cotiledonares duplos; Setas brancas=traços cotiledonares simples; Setas pretas=estrias de Caspary.

Os traços epicotiledonares também são formados no nó cotiledonar e se localizam entre os traços dos cotilédones. A estrutura do epicótilo não está completamente diferenciada nas plântulas coletadas e analisadas, mas é possível observar que ele tem natureza caulinar, com epiderme unisseriada, com tricomas pluricelulares tectores e glandulares, córtex colenquimático e parenquimático, cilindro central com vários feixes colaterais distribuídos ao redor da medula parenquimática (Fig. 3f). Algumas espécies como *C. pohliana*, *C. cognata*, *L. grandiflorus* e *V. sordecens* podem apresentar crescimento secundário devido ao rápido desenvolvimento da plântula.

Os cotilédones são anfistomáticos e apresentam epiderme unisseriada (Fig. 4a), com tricomas tectores e glandulares pluricelulares (Fig. 4b,c) para *C. pohliana*, *C. cognata*, *L. grandiflorus*, *V. sordecens* e *V. crassa*, mas são glabros para as outras duas espécies. O mesofilo é heterogêneo assimétrico, dorsiventrais em todas as espécies (Fig. 4a-c), com parênquima paliçádico atípico, caracterizado por mostrar células pouco alongadas radialmente e frequentemente afuniladas ou lobadas em *C. cognata*, *M. cordifolia* e *S. casarettoi* (Fig. 4d). Canais secretores ocorrem na face externa do xilema de *C. pohliana*, *S. casarettoi* e *V. sordescens* (Fig. 4e). As nervuras consistem de feixes vasculares colaterais, observando-se saliência plano-convexa da nervura principal, exceto para *L. grandiflorus* que é desprovida de saliência e *S. casarettoi* que tem a superfície convexa nas duas faces (Fig. 4 f) e as de menor calibre imersas no mesofilo.

Os eofilos diferem pouco dos cotilédones, apresentando epiderme unisseriada, anfistomática, com tricomas pluricelulares tectores e glandulares (fig. 4g). O mesofilo é heterogêneo e assimétrico, apresenta parênquima paliçádico típico para a maioria e atípico em *L. grandiflorus* com células pouco alongadas radialmente e lobadas (Fig. 4h). Estruturas secretoras internas foram observadas na nervura central para *C. pohliana*, com canais secretores na face externa no xilema (Fig. 4i), e drusas no parênquima paliçádico de *M. cordifolia* (Fig. 4j). As nervuras também possuem feixes vasculares colaterais e superfície plano-convexa para todas as espécies.

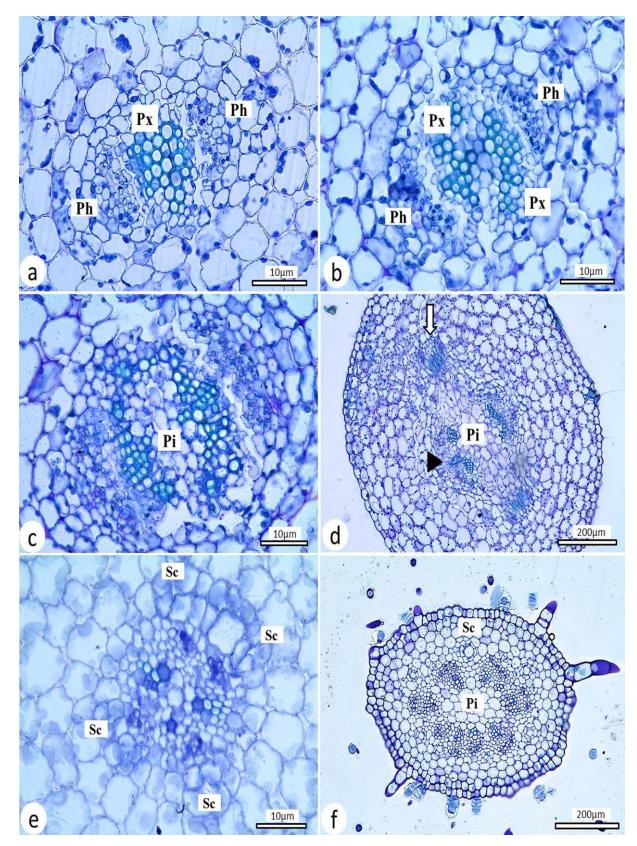


Fig. 3 Zona de transição raiz-hipocótilo em seções transversais das plântulas de (**a**, **b**, **c**, **d**) *Lessingianthus grandiflorus*. (**e**) *Verbesina sordescens*. (**f**) *Calea pohliana*. (**a**) Raiz primária com metaxilema central. (**b**) Hipocótilo com formação de medula. (**c**, **d**) Nó cotiledonar afastamento traços cotiledonares e direcionamento aos pecíolos dos cotilédones. Ph= floema;

Pi= medula; Px= xilema primário Sc= canal secretor. Ponta seta preta= traços cotiledonares duplos. Setas brancas= traços cotiledonares simples.

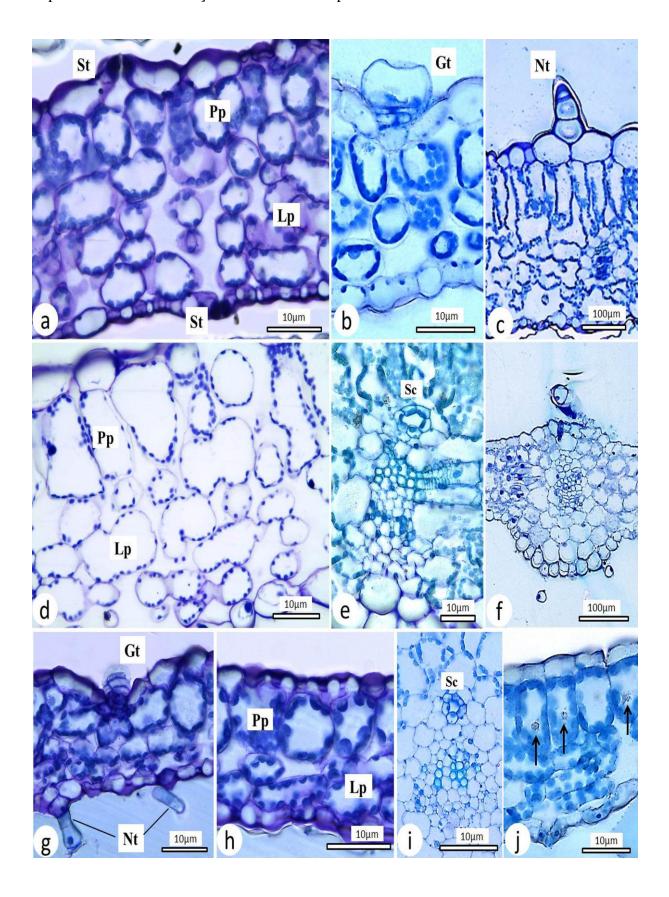


Fig. 4 Estrutura do limbo do cotilédone (**a-f**) e eofilo (**g-j**) em seções transversais de (**a, g, h**) *Lessingianthus grandiflorus.* (**b**) *Vernonanthura crassa.* (**c, e, i**) *Calea pohliana*. (**d**) *Chrysolaena cognata.* (**f**) *Symphyopappus casarettoi.* (**j**) *Mikania cordifolia.* Gt= tricoma glandular; Lp= parênquima lacunoso; Nt= tricoma não glandular; Pp= parênquima paliçádico; Sc= Canais secretores; St= estômatos. Setas= drusas.

Discussão

As plântulas das sete espécies aqui investigadas caracterizam-se por apresentar cotilédones foliáceos fotossintéticos, por serem fanerocotiledonares e epigeias. Estes caracteres enquadram as plântulas destas espécies no tipo Macaranga de Vogel (1980). Ressalta-se, entretanto, que os eofilos têm, em geral, filotaxia alterna helicoidal, raramente oposta como a maioria das plântulas tipo Macaranga. Noutra classificação de plântulas, a de Garwood (1996), as sete espécies são do tipo PEF ("Phanerocotylar, Epigeal, Foliaceus").

Os cotilédones das sete espécies são foliáceos e fotossintéticos. Vogel (1980) considera estes tipos de cotilédones como paracotilédones, restringindo o termo cotilédone para aquele que é de reserva ou haustorial. Para o autor, os paracotilédones duram e persistem até mesmo após o desenvolvimento do eofilos e eles são típicos de plântulas com quantidade escassa de endosperma, que necessitam de alta atividade fotossintética durante seu desenvolvimento. No presente trabalho preferiu-se adotar o termo cotilédone para as sete espécies, que é termo já consagrado na literatura de morfologia vegetal.

As raízes diarcas, observadas nas espécies aqui estudadas, são comuns em plântulas (Eames, 1961; Duke, 1969) e ocorrem também em plântulas de outras espécies de Asteraceae (Santos et al., 2014, Kellerman et al., 2016). Metcalfe e Chalk (1957), entretanto, registram os tipos triarco e tetrarco para raízes primárias de plantas adultas desta família, mas é importante considerar que o desenvolvimento de plântulas (pode ser estendido para plantas adultas) em diferentes condições ambientais pode alterar a estrutura da raiz. Gutemberg (1968) reforça esta observação, registrando que raízes de idades e de origens ambientais diversas podem apresentar aspectos estruturais variados.

A zona de transição raiz/caule de *C. pohliana, C. cognata, S. casarettoi, V. sordescens* e *V. crassa* é do tipo intermediário-baixo, segundo a classificação de Compton (1912). Neste tipo a transição inicia-se ainda na base da raiz, abaixo do coleto, e é completada nas proximidades do nó cotiledonar. Por outro lado, as plântulas de *L. grandiflorus* e *M. cordifolia* podem ser consideradas como do tipo alto de Compton (1912), em que a transição começa na região superior do hipocótilo. O tipo intermediário-baixo é mais comum nas

plântulas de Asteraceae já investigadas, pois Santos et al. (2014) analisaram 10 espécies da família constatando que nove possuem este tipo de transição. O tipo alto, por sua vez, é incomum em Asteraceae, sendo verificado apenas em *Crepis japonica* (L.) Benth (Santos et al. 2014) e *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex Malme (Kellermann et al., 2016).

Os nós cotiledonares das sete espécies são trilacunares, com um traço duplo e dois simples, semelhante ao descrito para outras espécies de Asteraceae (Santos et al. 2014; Kellermann et al. 2016). Este tipo de nó é diferente da maioria das angiospermas estudadas, as quais têm dois traços foliares independentes com apenas uma lacuna foliar (Bailey 1956; Souza 2009).

Folhas de Asteraceae têm, em geral, mesofilo dorsiventral (Metcalf e Chalk, 1957), o que também foi verificado nos cotilédones foliáceos e eofilos das sete espécies aqui analisadas. Entretanto, nos cotilédones das sete espécies e no eofilo de *L. grandiflorus* o parênquima paliçádico é atípico, com células pouco alongadas e lobadas, que pode ser atribuído, provavelmente, a fase inicial e efêmera de desenvolvimento das plantas. Canais e tricomas secretores foram encontrados nas folhas das espécies aqui estudadas, que podem revelar, num estudo mais minucioso, caracteres que podem ser úteis na separação de espécies ou tribos. Solereder (1908), Metcalfe e Chalk (1957) e Castro et al. (2007) ressaltam, aliás, o valor taxonômico na família destes caracteres observados em folhas adultas.

A tabela 1 sumariza caracteres estruturais das plântulas das sete espécies investigadas no presente trabalho e aquelas analisadas por Santos et al. (2014) e Kellermann et al. (2016). É significante a uniformidade na vascularização das plântulas das espécies, em que quase todas as espécies mostram raízes diarcas, zona de transição raiz/caule do tipo intermediáriobaixo e nó trilacunar com três traços foliares. No tocante à estrutura dos cotilédones e eofilos todas as espécies são consideradas dorsiventrais sendo apenas algumas espécies com parênquima atípico.

Conclusão

As plântulas de Asteraceae são identificadas morfológica e anatomicamente na fase inicial de desenvolvimento através dos caracteres estruturais. E a vascularização das sete espécies com tipo intermediário-baixo e três lacunas, podem indicar um padrão para a família quando comparado com as espécies analisadas por Santos et al. (2014) e Kellermann et al (2016).

Tab. 1 Espécies de Asteraceae coletadas no Paraná, Brasil e caracteres estruturais das plântulas. (*) Santos et al. 2014; (**) Kellerman et al. 2016, (----) Não Informado.

Espécies	Tribo	Habito	Voucher	Caracteres				
				Raiz	Nível de transição	Cotilédone	Eofilo	
Subfamília Asteroideae								
Conyza bonariensis (L.) Cronquist	Astereae	Herbácea	HUEM 18586*	Diarca	Intermediário alto	Dorsiventral atípico	Dorsiventral atípico	
Mikania cordifolia DC.		Liana	HUEM 29934	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral atípico	Dorsiventral atípico	
Praxelis clematidea R.M. King & H. Rob.	Eupatorieae	Herbácea	HUEM 21181*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral atípico	Dorsiventral	
Symphyopappus casarettoi B. L. Rob		Arbustivo	HUEM 24626	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral atípico	Dorsiventral	
Porophylum ruderale (Jacq.) Cass.a	Helenieae	Sub- arbustivo	HUEM 20831*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Calea pohliana Sch. Bip. ex Baker	Neurolaeneae	Herbácea	HUEM 24578	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Cosmos sulphureus Cav. ^a		Arbustivo	HUEM 19032*	Tetrarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Eclipta alba (L.) Hassk		Herbácea	HUEM 18588*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral atípico	Dorsiventral atípico	
Galinsoga quadriradiata Ruiz & Pav.	Heliantheae	Herbácea	HUEM 19033*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral atípico	Dorsiventral atípico	
Tridax procumbens L.		Herbácea	HUEM 18585*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Verbesina sordecens DC.		Arbustivo	HUEM 24651	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Subfamília Cichoroideae								
Crepis japonica (L.) Benth	Cichoroideae	Herbácea	HUEM 18589*	Diarca	Alto	Dorsiventral atípico	Dorsiventral atípico	
Sonchus oleraceus L.	Cicioroldeac	Herbácea	18578*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Chrysolaena cognata (Less.) Dematt.		Arbustivo	HUEM 24576	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral atípico	Dorsiventral	
Elephantopus mollis Kunth		Herbácea	HUEM 18590*	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	
Lessingianthus grandiflorus (Less.) H. Rob.	Vernonieae	Arbustivo	HUEM 24587	Diarca	Intermediário alto	Dorsiventral atípico	Dorsiventral atípico	
Piptocarpha angustifolia Dusén ex Malme		Arbórero	**	Diarca	Alto	Dorsiventral	Dorsiventral	
Vernonanthura crassa (Vell.) H. Rob.		Arbustivo	HUEM 24552	Diarca	Intermediário baixo	Dorsiventral	Dorsiventral	

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) pelo apoio financeiro à execução do presente trabalho (bolsa de doutorado ao primeiro autor e bolsa de produtividade em pesquisa ao segundo autor). Agradecem também ao IAP (Instituto Ambiental Paranaense) e Parque Estadual Vila Velha pelo apoio logístico na coleta do material botânico de pesquisa e ao Jimi N. Nakajima pela identificação das espécies.

Referências

Amo, RS (1979). Clave para plántulas y estados juveniles de especies primarias de una selva alta perennifolia en Veracruz, Mexico. Biotica 42: 59-108.

Bilenca D, F. Miñarro (2004) *Identificación de áreas valiosas de pastizal (AVPs) en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur de Brasil.* Buenos Aires: Fundación Vida Silvestre Argentina. 352 p.

Castro EM, JEBP Pinto, AM Soares, HC Melo, SKV Bertacucci, CV Vieira, ECL Junior. (2007) Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. Rev. Bras. Pl. Med. 9:8-16.

Cervi AC, Linsingen LV, G Hatschbach, OS Ribas. (2007) A vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. Bol. Mus. Bot. Mun. 69:1-52.

Compton, RH (1912) Investigation of the seedling structure in Leguminosae. The J. Linn. Society 41:1-122.

Duke JA. (1965) Keys for the identification of seedlings of some prominent woody species in eight forest types in Purto Rico. An. Miss. Bot. Garden, 52:314-350.

Eames, AJ (1961) Morphology of angiosperms. New York: McGraw-Hill.

Garwood, NC (1996) Functional Morphology of Tropical Tree Seedlings.. In: Swaine, M. D. (Ed.). The Ecology of Tropical Forest Seedling. Paris, The Parthenon Publishing Group. Pp. 59-129

Gogosz AM, NL Cosmo, CB Bona, LA Souza (2010) Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). Acta Bot. Bras. 24: 613-623.

Kellermann B, C Bona, LA Souza (2016) Morfoanatomia da plântula e comparação da folha nas fases juvenis e adulta de *Piptocarpha angustifolia* (Asteraceae). Rodrig. 3: 627-638.

Kuniyoshi, YS (1983) Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta de araucária. Curitiba, UFPR.

Metcalfe CR, L Chalk (1957) Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in taxonomy with notes on economics uses. Clarendon Press, Oxford. 1500p.

O'Brien TP, N Feder, ME Mccully (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 368-373.

Ricardi M, F Torres, C Hernandez, R Quinteiro (1977) Morfologia de plántulas de árboles venezolanos Rev Flor. Venezolana 27: 15-56.

Santos LS, HS Dariva, RH Muller, OJG Almeida, LA Souza (2014) Seedling structure in Asteraceae weedy species: considerations on the vasculature system. Braz. J. Botany 37: 631-635.

Solereder H (1908) Systematic anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press, Oxford. 1182p.

Souza LA (2009) Anatomia da plântula e do tirodendro. *In*: Souza, L.A. (org.). Sementes e plântulas - germinação, estrutura e adaptação. Todapalavra Editora, Ponta Grossa. 191-252.

Souza LA, JHG Oliveira (2004) Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb e T.chrysotricha (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). Acta Sci. Biol. 26: 217-226.

Vogel, EF (1980) Seedlings of dicotyledons. Wagening, Pudoc.

ANEXO 2

Original Articles

Preparing your manuscript

Title page

The title page should:

- present a title that includes, if appropriate, the study design
- list the full names, institutional addresses and email addresses for all authors
- o if a collaboration group should be listed as an author, please list the Group name as an author. If you would like the names of the individual members of the Group to be searchable through their individual PubMed records, please include this information in the "Acknowledgements" section in accordance with the instructions below
- indicate the corresponding author

Abstract

The abstract should not exceed 350 words. Please minimize the use of abbreviations and do not cite references in the abstract. The abstract must include the following separate sections:

- **Background**: the context and purpose of the study
- **Results**: the main findings
- **Conclusions**: a brief summary and potential implications

Keywords

Three to ten keywords representing the main content of the article.

Background

The Background section should explain the background to the study, its aims, a summary of the existing literature and why this study was necessary.

Results

This should include the findings of the study including, if appropriate, results of statistical analysis which must be included either in the text or as tables and figures.

Discussion

For research articles this section should discuss the implications of the findings in context of existing research and highlight limitations of the study. For study protocols and methodology manuscripts this section should include a discussion of any practical or operational issues involved in performing the study and any issues not covered in other sections.

Conclusions

This should state clearly the main conclusions and provide an explanation of the importance and relevance of the study to the field.

Methods (can also be placed after Background)

The methods section should include:

- the aim, design and setting of the study
- the characteristics of participants or description of materials
- a clear description of all processes, interventions and comparisons. Generic names should generally be used. When proprietary brands are used in research, include the brand names in parentheses
- the type of statistical analysis used, including a power calculation if appropriate

Declarations

List of abbreviations

If abbreviations are used in the text they should be defined in the text at first use, and a list of abbreviations should be provided.

Ethics approval and consent to participate

Manuscripts reporting studies involving human participants, human data or human tissue must:

- include a statement on ethics approval and consent (even where the need for approval was waived)
- include the name of the ethics committee that approved the study and the committee's reference number if appropriate

Studies involving animals must include a statement on ethics approval.

See our editorial policies for more information.

If your manuscript does not report on or involve the use of any animal or human data or tissue, this section is not applicable to your submission. Please state "Not applicable" in this section.

Consent for publication

If your manuscript contains any individual person's data in any form, consent to publish must be obtained from that person, or in the case of children, their parent or legal guardian. All presentations of case reports must have consent to publish.

If your manuscript does not contain any individual persons data, please state "Not applicable" in this section.

Availability of data and materials

For all journals, SpringerOpen strongly encourages all datasets on which the conclusions of the manuscript rely to be either deposited in publicly available repositories (where available and appropriate) or presented in the main paper or additional supporting files, in machine-readable format (such as spreadsheets rather than PDFs) whenever possible. Please see the <u>list</u> of recommended repositories in our editorial policies.

For some journals, deposition of the data on which the conclusions of the manuscript rely is an absolute requirement. Please check the Criteria section for this article type (located at the top of this page) for journal specific policies.

For all journals, authors must include an "Availability of data and materials" section in their article detailing where the data supporting their findings can be found. If you do not wish to share your data, please state that data will not be shared, and state the reason.

For instructions on how to cite your data and format this section see preparation/style and formatting.

Competing interests

All financial and non-financial competing interests must be declared in this section. See our <u>editorial policies</u> for a full explanation of competing interests. If you are unsure whether you or any of your co-authors have a competing interest please contact the editorial office.

Funding

All sources of funding for the research reported should be declared. The role of the funding body in the design of the study and collection, analysis, and interpretation of data and in writing the manuscript should be declared.

Authors' contributions

The individual contributions of authors to the manuscript should be specified in this section.

Acknowledgements

Please acknowledge anyone who contributed towards the article who does not meet the criteria for authorship including anyone who provided professional writing services or materials.

Authors should obtain permission to acknowledge from all those mentioned in the Acknowledgements section.

See our <u>editorial policies</u> for a full explanation of acknowledgements and authorship criteria.

Group authorship: if you would like the names of the individual members of a collaboration Group to be searchable through their individual PubMed records, please ensure that the title of the collaboration Group is included on the title page and in the submission system and also

include collaborating author names as the last paragraph of the "Acknowledgements" section. Please add authors in the format First Name, Middle initial(s) (optional), Last Name. You can add institution or country information for each author if you wish, but this should be consistent across all authors.

Please note that individual names may not be present in the PubMed record at the time a published article is initially included in PubMed as it takes PubMed additional time to code this information.

Authors' information

You may choose to use this section to include any relevant information about the author(s) that may aid the reader's interpretation of the article, and understand the standpoint of the author(s). This may include details about the authors' qualifications, current positions they hold at institutions or societies, or any other relevant background information. Please refer to authors using their initials. Note this section should not be used to describe any competing interests.

Endnotes

Endnotes should be designated within the text using a superscript lowercase letter and all notes (along with their corresponding letter) should be included in the Endnotes section. Please format this section in a paragraph rather than a list.

How to format your references

Examples of the Basic Springer reference style are shown below. Please ensure that the reference style is followed precisely; if the references are not in the correct style, they may need to be retyped and carefully proofread.

Web links and URLs: All web links and URLs, including links to the authors' own websites, should be given a reference number and included in the reference list rather than within the text of the manuscript. They should be provided in full, including both the title of the site and the URL, as well as the date the site was accessed, in the following format: The Mouse Tumor Biology Database. http://tumor.informatics.jax.org/mtbwi/index.do. Accessed 20 May 2013. If an author or group of authors can clearly be associated with a web link, such as for weblogs, then they should be included in the reference.

Authors may wish to make use of reference management software to ensure that reference lists are correctly formatted. An example of such software is Papers, which is part of Springer Science+Business Media.

Example reference style:

Article within a journal

Smith J, Jones M Jr, Houghton L (1999) Future of health insurance. N Engl J Med 965:325-329.

Article by DOI (with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med 78:74-80. doi:10.1007/s001090000086.

Article by DOI (before issue publication and with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med. doi:10.1007/s001090000086.

Article in electronic journal by DOI (no paginated version)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. Dig J Mol Med. doi:10.1007/s801090000086.

Journal issue with issue editor

Smith J (ed) (1998) Rodent genes. Mod Genomics J 14(6):126-233.

Journal issue with no issue editor

Mod Genomics J (1998) Rodent genes. Mod Genomics J 14(6):126-233.

Book chapter, or an article within a book

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York.

Complete book, authored

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London.

Complete book, edited

Smith J, Brown B (eds) (2001) The demise of modern genomics. Blackwell, London.

Complete book, also showing a translated edition [Either edition may be listed first.]

Adorno TW (1966) Negative Dialektik. Suhrkamp, Frankfurt. English edition: Adorno TW (1973) Negative Dialectics (trans: Ashton EB). Routledge, London.

Chapter in a book in a series without volume titles

Schmidt H (1989) Testing results. In: Hutzinger O (ed) Handbook of environmental chemistry, vol 2E. Springer, Heidelberg, p 111.

Chapter in a book in a series with volume titles

Smith SE (1976) Neuromuscular blocking drugs in man. In: Zaimis E (ed) Neuromuscular junction. Handbook of experimental pharmacology, vol 42. Springer, Heidelberg, pp 593-660. *OnlineFirst chapter in a series (without a volume designation but with a DOI)*

Saito, Yukio, and Hyuga, Hiroyuki. (2007) Rate equation approaches to amplification of enantiomeric excess and chiral symmetry breaking. Topics in Current Chemistry. doi:10.1007/128_2006_108.

Proceedings as a book (in a series and subseries)

Zowghi D (1996) A framework for reasoning about requirements in evolution. In: Foo N, Goebel R (eds) PRICAI'96: topics in artificial intelligence. 4th Pacific Rim conference on artificial intelligence, Cairns, August 1996. Lecture notes in computer science (Lecture notes in artificial intelligence), vol 1114. Springer, Heidelberg, p 157.

Article within conference proceedings with an editor (without a publisher)

Aaron M (1999) The future of genomics. In: Williams H (ed) Proceedings of the genomic researchers, Boston, 1999.

Article within conference proceedings without an editor (without a publisher)

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from Streptomyces fradiae. In: Abstracts of the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms, University of Wisconsin, Madison, 4-9 June 1978.

Article presented at a conference

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from Streptomyces fradiae. Paper presented at the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms, University of Wisconsin, Madison, 4-9 June 1978.

Patent

Norman LO (1998) Lightning rods. US Patent 4,379,752, 9 Sept 1998.

Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California.

Book with institutional author

International Anatomical Nomenclature Committee (1966) Nomina anatomica. Excerpta Medica, Amsterdam.

In press article

Major M (2007) Recent developments. In: Jones W (ed) Surgery today. Springer, Dordrecht (in press).

Online document

Doe J (1999) Title of subordinate document. In: The dictionary of substances and their effects. Royal Society of Chemistry. Available via DIALOG. http://www.rsc.org/dose/title of subordinate document. Accessed 15 Jan 1999.

Online database

Healthwise Knowledgebase (1998) US Pharmacopeia, Rockville. http://www.healthwise.org. Accessed 21 Sept 1998.

Supplementary material/private homepage

Doe J (2000) Title of supplementary material. http://www.privatehomepage.com. Accessed 22 Feb 2000.

University site

Doe J (1999) Title of preprint. http://www.uni-heidelberg.de/mydata.html. Accessed 25 Dec 1999.

FTP site

Doe J (1999) Trivial HTTP, RFC2169. ftp://ftp.isi.edu/in-notes/rfc2169.txt. Accessed 12 Nov 1999.

Organization site

ISSN International Centre (2006) The ISSN register. http://www.issn.org. Accessed 20 Feb 2007.

General formatting information

Manuscripts must be written in concise English. For help on scientific writing, or preparing your manuscript in English, please see Springer's <u>Author Academy</u>.

Quick points:

- Use double line spacing
- Include line and page numbering
- Use SI units: Please ensure that all special characters used are embedded in the text, otherwise they will be lost during conversion to PDF
- Do not use page breaks in your manuscript

File formats

The following word processor file formats are acceptable for the main manuscript document:

- Microsoft word (DOC, DOCX)
- Rich text format (RTF)
- TeX/LaTeX (use BioMed Central's TeX template)

Please note: editable files are required for processing in production. If your manuscript contains any non-editable files (such as PDFs) you will be required to re-submit an editable file if your manuscript is accepted.

Note that figures must be submitted as separate image files, not as part of the submitted manuscript file. For more information, see <u>Preparing figures</u> below.

Additional information for TeX/LaTeX users

Please use a recommended TeX template and BibTeX stylefile if you use TeX format. When submitting TeX submissions, please submit your TeX file as the main manuscript file and your bib/bbl file as a dependent file. Please also convert your TeX file into a PDF and submit this PDF as an additional file with the name 'Reference PDF'. This PDF will be used by our production team as a reference point to check the layout of the article as the author intended. Please also note that all figures must be coded at the end of the TeX file and not inline.

All relevant editable source files must be uploaded during the submission process. Failing to submit these source files will cause unnecessary delays in the production process.

TeX templates:

- <u>BioMedCentral article</u> (ZIP format) preferred template
- Springer article svjour3 (ZIP format) preferred template
- <u>birkjour</u> (Birkhäuser, ZIP format)
- <u>article</u> (part of the <u>standard TeX distribution</u>)
- amsart (part of the standard TeX distribution)

Style and language

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

- Visiting the <u>English language tutorial</u> which covers the common mistakes when writing in English.
- Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.
- Using a professional language editing service where editors will improve the English to
 ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such
 services are provided by our affiliates <u>Nature Research Editing Service</u> and <u>American Journal</u>
 <u>Experts</u>.

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in *Botanical Studies* and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

Data and materials

For all journals, BioMed Central strongly encourages all datasets on which the conclusions of the manuscript rely to be either deposited in publicly available repositories (where available and appropriate) or presented in the main paper or additional supporting files, in machine-readable format (such as spread sheets rather than PDFs) whenever possible. Please see the list of recommended repositories in our editorial policies.

For some journals, deposition of the data on which the conclusions of the manuscript rely is an absolute requirement. Please check the Instructions for Authors for the relevant journal and article type for journal specific policies.

For all manuscripts, information about data availability should be detailed in an 'Availability of data and materials' section. For more information on the content of this section, please see the Declarations section of the relevant journal's Instruction for Authors. For more information on BioMed Central's policies on data availability, please see our editorial policies.

Formatting the 'Availability of data and materials' section of your manuscript

The following format for the 'Availability of data and materials section of your manuscript should be used:

"The dataset(s) supporting the conclusions of this article is(are) available in the [repository name] repository, [unique persistent identifier and hyperlink to dataset(s) in http:// format]."

The following format is required when data are included as additional files:

"The dataset(s) supporting the conclusions of this article is(are) included within the article (and its additional file(s))."

For databases, this section should state the web/ftp address at which the database is available and any restrictions to its use by non-academics.

For software, this section should include:

- Project name: e.g. My bioinformatics project
- Project home page: e.g. http://sourceforge.net/projects/mged
- Archived version: DOI or unique identifier of archived software or code in repository (e.g. enodo)
- Operating system(s): e.g. Platform independent
- Programming language: e.g. Java
- Other requirements: e.g. Java 1.3.1 or higher, Tomcat 4.0 or higher
- License: e.g. GNU GPL, FreeBSD etc.

Any restrictions to use by non-academics: e.g. licence needed
 Information on available repositories for other types of scientific data, including clinical data, can be found in our editorial policies.

References

See our editorial policies for author guidance on good citation practice.

What should be cited?

Only articles, clinical trial registration records and abstracts that have been published or are in press, or are available through public e-print/preprint servers, may be cited.

Unpublished abstracts, unpublished data and personal communications should not be included in the reference list, but may be included in the text and referred to as "unpublished observations" or "personal communications" giving the names of the involved researchers. Obtaining permission to quote personal communications and unpublished data from the cited colleagues is the responsibility of the author. Footnotes are not allowed, but endnotes are permitted. Journal abbreviations follow Index Medicus/MEDLINE.

Any in press articles cited within the references and necessary for the reviewers' assessment of the manuscript should be made available if requested by the editorial office.

Preparing figures

When preparing figures, please follow the formatting instructions below.

- Figures should be provided as separate files, not embedded in the main manuscript file.
- Figure titles (max 15 words) and legends (max 300 words) should be provided in the main manuscript, not in the graphic file.
- Each figure of a manuscript should be submitted as a single file that fits on a single page in portrait format.
- Tables should NOT be submitted as figures but should be included in the main manuscript file.
- Multi-panel figures (those with parts a, b, c, d etc.) should be submitted as a single composite file that contains all parts of the figure.
- Figures should be numbered in the order they are first mentioned in the text, and uploaded in this order.
- Figures should be uploaded in the correct orientation.
- Figure keys should be incorporated into the graphic, not into the legend of the figure.
- Each figure should be closely cropped to minimize the amount of white space surrounding the illustration. Cropping figures improves accuracy when placing the figure in combination with

- other elements when the accepted manuscript is prepared for publication on our site. For more information on individual figure file formats, see our detailed instructions.
- Individual figure files should not exceed 10 MB. If a suitable format is chosen, this file size is adequate for extremely high quality figures.
- Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures (or tables) that have previously been published elsewhere. In order for all figures to be open access, authors must have permission from the rights holder if they wish to include images that have been published elsewhere in non open access journals. Permission should be indicated in the figure legend, and the original source included in the reference list.

Figure file types

We accept the following file formats for figures:

- EPS (suitable for diagrams and/or images)
- PDF (suitable for diagrams and/or images)
- Microsoft Word (suitable for diagrams and/or images, figures must be a single page)
- PowerPoint (suitable for diagrams and/or images, figures must be a single page)
- TIFF (suitable for images)
- JPEG (suitable for photographic images, less suitable for graphical images)
- PNG (suitable for images)
- BMP (suitable for images)
- CDX (ChemDraw suitable for molecular structures)

Figure size and resolution

Figures are resized during publication of the final full text and PDF versions to conform to the BioMed Central standard dimensions, which are detailed below.

Figures on the web:

- width of 600 pixels (standard), 1200 pixels (high resolution). Figures in the final PDF version:
- width of 85 mm for half page width figure
- width of 170 mm for full page width figure
- maximum height of 225 mm for figure and legend
- image resolution of approximately 300 dpi (dots per inch) at the final size

Figures should be designed such that all information, including text, is legible at these dimensions. All lines should be wider than 0.25 pt when constrained to standard figure widths. All fonts must be embedded.

Figure file compression

Vector figures should if possible be submitted as PDF files, which are usually more compact than EPS files.

- TIFF files should be saved with LZW compression, which is lossless (decreases file size without decreasing quality) in order to minimize upload time.
- JPEG files should be saved at maximum quality.
- Conversion of images between file types (especially lossy formats such as JPEG) should be kept to a minimum to avoid degradation of quality.

If you have any questions or are experiencing a problem with figures, please contact the customer service team at info@springeropen.com.

Preparing tables

When preparing tables, please follow the formatting instructions below.

- Tables should be numbered and cited in the text in sequence using Arabic numerals (i.e. Table 1, Table 2 etc.).
- Tables less than one A4 or Letter page in length can be placed in the appropriate location within the manuscript.
- Tables larger than one A4 or Letter page in length can be placed at the end of the document text file. Please cite and indicate where the table should appear at the relevant location in the text file so that the table can be added in the correct place during production.
- Larger datasets, or tables too wide for A4 or Letter landscape page can be uploaded as additional files. Please see [below] for more information.
- Tabular data provided as additional files can be uploaded as an Excel spreadsheet (.xls) or comma separated values (.csv). Please use the standard file extensions.
- Table titles (max 15 words) should be included above the table, and legends (max 300 words) should be included underneath the table.
- Tables should not be embedded as figures or spreadsheet files, but should be formatted using 'Table object' function in your word processing program.

- Color and shading may not be used. Parts of the table can be highlighted using superscript, numbering, lettering, symbols or bold text, the meaning of which should be explained in a table legend.
- Commas should not be used to indicate numerical values.

If you have any questions or are experiencing a problem with tables, please contact the customer service team at info@springeropen.com.

Preparing additional files

As the length and quantity of data is not restricted for many article types, authors can provide datasets, tables, movies, or other information as additional files.

All Additional files will be published along with the accepted article. Do not include files such as patient consent forms, certificates of language editing, or revised versions of the main manuscript document with tracked changes. Such files, if requested, should be sent by email to the journal's editorial email address, quoting the manuscript reference number.

Results that would otherwise be indicated as "data not shown" should be included as additional files. Since many web links and URLs rapidly become broken, SpringerOpen requires that supporting data are included as additional files, or deposited in a recognized repository. Please do not link to data on a personal/departmental website. Do not include any individual participant details. The maximum file size for additional files is 20 MB each, and files will be virus-scanned on submission. Each additional file should be cited in sequence within the main body of text.