



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS -BOTÂNICA
TROPICAL**

CYNTIA STELLA PORFÍRIO DIAS

**ESTRUTURA E HISTOQUÍMICA DE *Cephalostemon gracilis* (RAPATEACEAE):
UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Belém - Pará

2016

CYNTIA STELLA PORFÍRIO DIAS

**ESTRUTURA E HISTOQUÍMICA DE *Cephalostemon gracilis* (RAPATEACEAE):
UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr.^a Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias

Co-Orientador: Dr. Pedro Lage Viana

Belém – Pará

2016

Dias, Cyntia Stella Porfírio

Estrutura e histoquímica de *Cephalostemon gracilis* (Rapateaceae): uma espécie endêmica da Amazônia brasileira / Cyntia Stella Porfírio Dias. – Belém, PA, 2016.

46 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica Tropical) – Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, 2016.

Orientadora: Ana Cristina de Andrade Aguiar Dias.

1. Anatomia vegetal 2. Poales 3. Tricomas 4. Mucilagem I.
Dias, Ana Cristina de Andrade, (orient.) II. Título

CDD – 584.9098115


CYNTIA STELLA PORFÍRIO DIAS

**ESTRUTURA E HISTOQUÍMICA DE *Cephalostemon gracilis* (RAPATEACEAE): UMA
ESPÉCIE ENDÊMICA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**


Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.


Aprovada em: 31/08/2016

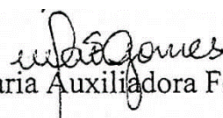
BANCA EXAMINADORA


Dr. Pedro Lage Viana

Co-Orientador
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI


Dra. Fernanda Ilkiu Borges de Souza
1º Examinador(a)
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL


Dra. Ana Carla Feio dos Santos
2º Examinador(a)
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI


Dra. Maria Auxiliadora Feio Gomes
3º Examinador(a)
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas com área de Concentração em Botânica Tropical (POSBOT) da Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi, pela infraestrutura oferecida. Ao corpo docente e colaboradores, e aos secretários Anderson Alves e Larissa Menezes, por toda ajuda prestada ao longo do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

À Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Aguiar-Dias, pela sua confiança em mim na realização desse estudo, pelos seus ensinamentos, pela sua paciência, por ser um exemplo de profissional, que ama o que faz, e principalmente por me ensinar a ser cientista. Agradeço de coração toda a sua dedicação, mesmo de longe, para que eu não desistisse dessa etapa.

Ao Dr. Pedro Viana, pela co-orientação, ensinamentos, amizade e ajuda em todos os momentos que mais precisei.

À Dr.^a Alba Lins, por toda ajuda, conselhos, carinho e ensinamentos repassados.

À Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora, pelos ensinamentos durante o estágio docência na Universidade Federal Rural da Amazônia.

Às Doutoradas Fernanda Ilkiu Borges de Souza, Ana Carla Feio dos Santos, Maria Auxiliadora Feio Gomes e Alba Lúcia Ferreira de Almeida Lins por aceitarem o convite em compor a banca e pelas futuras contribuições.

Aos Doutores Rolf Junior Ferreira Silva e Ana Carla Feio dos Santos por todo conhecimento compartilhado, quando mais precisei.

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVEG) do Museu Paraense Emílio Goeldi, em especial Valéria, Breno e Edilson, por todo companheirismo e amizade.

A minha turma da POSBOT 2014, pelos momentos vividos durante o curso, em especial ao meu grupo Divaceae: Clebiana, Flávio, Paula e Talita obrigada por serem os amigos que contamos quando mais precisamos. E ao João Silveira, pela amizade e ajuda nesse tempo.

Aos meus pais, Rosália e Nilson, por sempre me incentivarem nos estudos e por serem quem são. E as minhas famílias Porfírio e Dias por sempre me apoiarem de toda forma.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente fizeram parte da minha caminhada e torceram durante esses anos de estudo.

Dedico ao homem mais honrado que já conheci na vida,
Raimundo Porfírio (*in memoriam*), grande incentivador de
meus estudos.

"Viver no mundo sem tomar consciência do significado do mundo é como vagar por uma imensa biblioteca sem tocar os livros" (Os Ensinamentos Secretos de Todos os Tempos).

RESUMO

Cephalostemon gracilis (Poepp. & Endl.) R.H.Schomb., é endêmica da Amazônia Brasileira, encontrada em restingas, em áreas de brejo herbáceo e formação arbustiva aberta. A espécie possui folhas longas e amplas, brácteas longas, escapo glabro, inflorescência subglobosa, espiguetas, bractéolas com pelos em seu interior e sépalas lanceoladas. Além destas características, é também visível uma abundante secreção hialina em suas inflorescências e axilas foliares. Com o intuito de compreender a estrutura e a relação com o ambiente da espécie foi realizado um estudo anatômico e histoquímico. Para a análise estrutural foram estudadas partes vegetativas (raiz, bainha e lâmina foliares) e reprodutivas (escapo, brácteas e bractéolas), sendo utilizadas as técnicas usuais para análise em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Anatomicamente, a espécie apresentou epiderme unisseriada com presença de corpos silicosos na bainha e lâmina foliares, estômatos tetracíticos na bainha foliar, lâmina foliar, escapo, bráctea e bractéola, tricomas secretores de mucilagem na bainha foliar, bráctea e bractéola, aerênquimas e idioblastos nos parênquimas de todas as regiões, fibras subepidérmicas, e feixes colaterais. Além de diagnosticar a ocorrência inédita de tricomas mucilaginosos nas brácteas (face adaxial) e bractéolas (em ambas as faces), produzindo mucilagem em abundância, ausência de hipoderme, além da nervura central em forma de V. Essa diagnose auxilia no entendimento da relação entre planta-ambiente, e caracteriza a espécie comparando-a com outros gêneros de Rapateoideae (Rapateaceae).

Palavras-chave: anatomia, Poales, tricomas, mucilagem.

ABSTRACT

Cephalostemon gracilis (Poepp. &Endl.) R.H.Schomb. is an endemic species from Amazon region, usually found in restinga, herbaceous swamp areas and open shrubland formation. The species is morphologically featured by long and broad leaves, long bracts, glabrous scape, capituliform inflorescences, spikelets, bracteoles with hair inside and lanceolate sepals. In addition to these features, it is also visible abundant hyaline secretion in its inflorescences and leaf axils. In order to understand the structure and dynamics of the species, it was performed an anatomical and histochemical study. For structural analysis, it was studied vegetative (root, leaf sheath and leaf blade) and reproductive parts (scape, bracts and bracteoles), using the usual techniques of plant anatomy and photomicrographs with micrometric scales designed in the same optical conditions. Anatomically, the species has uniseriate epidermis with presence of silica bodies in the leaf sheath and leaf blade, tetracytical stomata in the leaf sheath, leaf blade, scape, bract and bracteole, mucilage secretory trichomes in the leaf sheath, bract and bracteole, aerenchyma and idioblasts in the parenchyma of all parts, subepidermal fibers, and collateral bundles. It was possible to diagnose specific characters and unprecedented occurrence of mucilaginous trichomes on the faces of the bract (adaxial) and bracteole (on both sides), producing mucilage in abundance, no hypodermis, and the midrib V-shaped. This diagnosis helps to understand the relationship between plant and environment, and features the species comparing it to other genera of Rapateoideae (Rapateaceae).

Key words: Anatomy, Poales, trichomes, mucilage

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO	11
1.1	Revisão de literatura	13
	REFERÊNCIAS	15
2	ESTRUTURA E HISTOQUÍMICA DE <i>CEPHALOSTEMON GRACILIS</i> (RAPATEACEAE): UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA ...	18
2.1	Introdução	21
2.2	Material e métodos	22
2.3	Resultados	24
2.4	Discussão	36
2.5	Conclusão	42
2.6	Agradecimentos	42
	REFERÊNCIAS	43

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Rapateaceae apresentam uma distribuição neotropical, ocorrendo principalmente no Escudo das Guianas, em áreas de Tepuis (montanhas tabulares de até 3.000 m de altitude), e na Bacia Amazônica (Ribeiro *et al.*, 1999; Givnish *et al.*, 2000; Berry, 2004). Apenas um gênero, *Maschalocephalus* Gilg & K. Schum., é encontrado na África Ocidental (Givnish *et al.*, 2000; Monteiro, 2011). No Brasil, a família encontra-se distribuída principalmente na região Amazônica, geralmente em *habitats* úmido, também podendo ocorrer em campos abertos, como nas serras da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais (Pirani e Giuletta, 1989; Crayn *et al.*, 2001). Ocorrem nas regiões Norte, Nordeste (BA, PI), Centro-oeste e Sudeste (MG), abrangendo, assim, quatro dos mais relevantes biomas brasileiros: Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Monteiro, 2016).

A família está incluída na ordem *Poales* e encontra-se dividida em três subfamílias: Rapateoideae, Monotremoideae e Saxofridericioideae; organizadas em cinco tribos: Rapateae Endl., Monotremeae Maguire, Saxofridericieae Maguire, Schoenocephalieae Maguire, e Stegolepideae Maguire; compreendendo 17 gêneros com aproximadamente 100 espécies (Givnish *et al.*, 2004). No Brasil, está representada por nove gêneros (*Cephalostemon* R.H.Schomb., *Duckea* Maguire, *Epidryos* Maguire, *Monotrema* Körn., *Rapatea* Aubl., *Saxofridericia* R.H.Schomb., *Schoenocephalium* Seub., *Spathanthus* Desv., *Stegolepis* Klotzsch ex Körn) com 38 espécies (Monteiro, 2016).

Seus representantes se distinguem por seu hábito típico, geralmente com folhas longas e vistosas e bainhas equitantes. As inflorescências são também características, envolvidas por brácteas e compostas de diversas flores que se abrem gradativamente ao longo de vários dias (Souza e Lorenzi, 2008). O tipo de inflorescência é a característica principal que diferencia os gêneros de Rapateaceae. As espécies, portanto, podem ser separadas pela venação, forma do pecíolo e presença ou ausência de espinhos (Ribeiro *et al.*, 1999).

Representantes de Rapateoideae, Monotremoideae e Saxofridericioideae apresentam seu centro de diversidade na Amazônia Brasileira, onde os gêneros *Duckea*, *Epidryos*, *Saxofridericia*, *Schoenocephalium*, *Spathanthus* e *Stegolepis* encontram-se apenas na Região Norte. Dentre os estados que compõem a região, destaca-se o Amazonas com a maior concentração desses táxons, seguido por Roraima, onde o gênero *Epidryos*

é endêmico. Ainda no bioma Amazônico, *Cephalostemon*, *Monotrema* e *Rapatea* são os gêneros que se distribuem no estado de Mato Grosso, na Região Centro-Oeste. Destaca-se então Rapateioideae, pela única subfamília que apresenta todos seus gêneros (*Cephalostemon*, *Duckea*, *Rapatea* e *Spathanthus*) ocorrentes no Brasil, o que a torna relevante para mais estudos, devido as importâncias biogeográficas e evolutivas do grupo.

A maioria dos estudos publicados a respeito da família é de cunho taxonômico e reportam chaves de identificação para espécies e dados de distribuição geográfica (Maguire, 1958, 1965; Stevenson *et al.*, 1998; Berry, 2004), bem como descrições de espécies na flora brasileira como: *Cephalostemon riedelianus* Körn., na Serra do Cipó (Pirani e Giulietti, 1989); espécies encontradas na Reserva Ducke (Forzza e Costa, 2005); e 5 novas ocorrências de Rapateaceae no país (Rodrigues e Flores, 2010). Merecem destaque também estudos de filogenia (Givnish *et al.* 2000, 2004), que apresentam análises cladísticas com base em sequências do gene *ndhF* codificado do cloroplasto em conjunto com análises morfológicas e biogeográficas.

Dentre as análises estruturais ressaltam-se trabalhos realizados sobre anatomia de órgãos vegetativos: descrição de raiz, caule e folhas (Carlquist 1966, 1969), caracterizando a família; folhas e escapo de seis espécies amazônicas (Ferrari *et al.*, 2014), caracterização de folhas e eixo da inflorescência da subfamília Rapateioideae (Daltin *et al.*, 2015); e órgãos reprodutivos: inflorescência de *C. riedelianus*, ocorrente na Serra do Cipó-MG (Rosa, 2006) e flor de 9 espécies, ocorrentes na Amazônia (Oriani e Scatena, 2013). Há também os estudos de embriologia descritos por Tiemann (1985) e Venturelli e Bouman (1988); além de morfologia polínica da família descrita por Carlquist (1961).

Grande parte dos trabalhos sobre anatomia de Rapateaceae foi realizada no século XXI, poucos os que descrevem órgãos vegetativos e reprodutivos em um mesmo estudo. Na maioria dessas análises foi encontrada a presença de exsudato em seus indivíduos apontando tricomas secretores unisseriados como a possível estrutura responsável por tal exsudação, descrita como mucilagem, esta secreção foi encontrada nas axilas das folhas em desenvolvimento e nas regiões basais das peças florais (Carlquist, 1966; Stenvenson *et al.*, 1998, Rosa, 2006; Oriani e Scatena, 2013; Ferrari *et al.*, 2014; Daltin *et al.*, 2015). Entretanto nenhum dos trabalhos identificou a composição química de tal secreção, bem como a sua funcionalidade e seu caráter evolutivo na família. Nota-se, portanto a escassez

de trabalhos envolvendo a caracterização estrutural, incluindo as estruturas secretoras, de Rapateaceae, além da ausência de informações sobre a potencialidade de tal secreção correlacionando as adaptações das espécies com o ambiente em que ocupam.

Em meio aos estudos de anatomia citados acima, a maioria traz espécies amazônicas e do Cerrado, as quais estão incluídas em subfamílias distintas. Rosa (2006) descreveu a anatomia floral de *C. riedelianus* Körn., endêmico do Cerrado brasileiro, Oriani e Scatena (2013) descreveram estruturalmente as flores de Monotremoideae, Rapateoideae e Saxofridericioideae da região amazônica e Mata Atlântica, Ferrari *et al.* (2014) estudou folhas e escapos dos representantes de Monotremoideae e Saxofridericioideae, da Amazônia brasileira, e Daltin *et al.* (2015) inventariou folhas e escapos de Rapateoideae do Cerrado e Amazônia. Estes trabalhos trouxeram algumas novidades para família quanto aos seus caracteres conservativos, bem como auxiliaram na taxonomia da mesma.

Porém, gêneros como *Cephalostemon*, que está incluído também em Rapateoideae, não apresentam um relevante número de espécies inventariadas. Até o presente momento, apenas um indivíduo do gênero foi descrito. Este fato é justificado principalmente pelo endemismo do grupo em Campos Rupestres e no Cerrado. Diante disso, nota-se a importância de caracterizações de espécies amazônicas para o gênero, já que a diversidade da família se encontra nesse bioma. Sendo assim, *Cephalostemon gracilis* (Poepp. & Endl.) R.H.Schomb., torna-se objeto de estudo interessante por ser endêmica na região amazônica em áreas de Restinga, além de possuir uma grande quantidade de exsudato na sua inflorescência, bem como na bainha foliar.

Então caracterizamos estruturalmente partes vegetativas (raiz, bainha e lâminas foliares) e reprodutivas (escapo, bráctea e bractéola) de *C. gracilis*, com ênfase nas estruturas secretoras, para conhecermos suas funcionalidades principais a fim de compreender a sua relação dentro de Rapateaceae e, portanto, a ordem *Poales*. O que nos permitiu interpretar novos dados para família e fornecer novas bases de interpretação sobre seu valor adaptativo.

1.1 Revisão de literatura

O primeiro estudo anatômico em Rapateaceae foi realizado por Carlquist (1966), envolvendo a anatomia de raízes e caules da família, onde foram descritos caracteres para

as subfamílias Saxofridericioideae e Rapateoideae, designadas por Maguire (1958). Neste estudo, o autor descreveu diagnoses para cada subfamília e suas respectivas tribos, além de elaborar chaves anatômicas úteis para a compreensão das relações filogenéticas da família. Além disso, o supracitado trabalho reunia dados para posterior lançamento de Metcalfe: Anatomia das Monocotiledôneas III. (Tomlinson e Metcalfe, 1969).

Carlquist (1969), no volume de Anatomia das Monocotiledôneas, reportou para Rapateaceae características estruturais como cordões fibrosos e células do parênquima não-fotossintéticas, células epidérmicas silicosas e fibras hipodérmicas. As folhas geralmente com estômatos paracíticos na superfície abaxial, clorênquima paliçádico e esponjoso (termo usado para o mesofilo dorsiventral pelos especialistas da família), idioblastos contendo taninos, células colapsadas não fotossintéticas, feixes vasculares colaterais com bainhas duplas, corpos de sílica presentes na epiderme foliar e no eixo da inflorescência; e tricomas unisseriados produtores de mucilagem aparecem na axila foliar e brácteas da inflorescência.

Após as análises de Carlquist (1966, 1969), a anatomia de Rapateaceae voltou a ser estudada 37 anos depois por Rosa (2006), que descreveu em sua tese a anatomia floral da espécie *Cephalostemon riedelianus* Körn, ocorrente nos campos da Serra do Cipó e Diamantina-MG, Brasil, neste trabalho a autora caracterizou anatomicamente a inflorescência e flor da espécie, este estudo estrutural foi inédito para as partes reprodutivas da família. Oriani e Scatena (2013) foram as próximas a estudar a anatomia floral da família, de espécies amazônicas e do cerrado brasileiro, baseando seus estudos na filogenia mais recente do grupo (Givnish *et al.*, 2004), e demonstraram uma uniformidade na família com caracteres conservativos nos representantes analisados, apresentando sempre tricomas secretores de mucilagem na base de todas as peças florais; sépalas, pétalas, anteras e estilete recobertos por cera de ornamentação estriada; pétalas com células epidérmicas curtas, de paredes sinuosas na face abaxial; anteras tetrasporangiadas, com células epidérmicas contendo compostos fenólicos; endotécio com espessamento em espiral; ovário tricarpelar, com septos incompletos; óvulos anátropos, bitegmentados; e vascularização semelhante. Estes resultados ajudaram a compreender e relacionar as análises filogenéticas da família.

Os tricomas secretores de mucilagem intraovarianos, foram reportados na família, assim como, para Poales pela primeira vez por Oriani e Scatena (2013), com um grande

valor adaptativo e taxonômico. Eles têm a funcionalidade de preencher os lóculos do ovário com mucilagem, criando assim um meio propício para o crescimento do tubo polínico do canal estilar até a micrópila (Rudall *et al.*, 1998). Essa substância presente nas peças florais de Rapateaceae pode ter papel de retenção de água, redução da transpiração, proteção contra radiação dispersando ou refletindo a luz incidente e proteção contra herbivoria (Trigo e Santos, 2000; Chapotin *et al.*, 2003). A presença de cera com ornamentação estriada em peças florais da família deve estar conectada a sua polinização, pois serve de atrativo visual aos polinizadores, tanto quanto as cores das flores (Oriani e Scatena, 2013).

Além destes trabalhos envolvendo partes reprodutivas, Ferrari *et al.*, (2014) e Daltin *et al.*, (2015) estudaram as folhas e escapos das subfamílias Monotremoideae, Rapateoideae e Saxofridericioideae, e reportaram as células de sílicas na epiderme, idioblastos fenólicos, fibras hipodérmicas, feixes colaterais com dupla bainha e tricomas mucilaginosos nas bainhas foliares, algumas das características já reportadas por Carlquist (1969), demonstrando que mesmo em subfamílias diferentes, e ambientes diferentes, seus representantes tem caracteres muito conservativos tanto para os grupos quanto para a família.

Eixos vegetativos e reprodutivos de Rapateoideae foram inventariados pelos últimos trabalhos anatômicos supracitados, entretanto para *Cephalostemon*, incluído na subfamília, apenas duas espécies foram estudadas: *C. riedelianus* Körn e *C. squarrosus* (Willd. ex Link) Körn, onde a inflorescência (Rosa, 2006), folha e escapo (Daltin *et al.*, 2015) foram analisadas para *C. riedelianus*; e as flores para *C. squarrosus* (Oriani e Scatena, 2013), sendo que esta última, foi sinonimizada para *Duckea squarrosa* (Willd. ex Link) Maguire. Ressalta-se assim, que até o presente momento, o gênero em questão teve apenas uma espécie estudada até os dias de hoje.

REFERENCIAS

BERRY, P.E. Rapateaceae. In: STEYERMARK J.A.; BERRY, P.E.; YATSKIEVYCH, K.; HOLST, B.K. (Ed.). **Flora of the Venezuelan Guayana. Vol 8: Poaceae-Rubiaceae.** Missouri Botanical Garden Press, St Louis, Missouri, 2004. p.413-472.

CARLQUIST, S. Anatomy of Rapateaceae - Roots and Stems. **Phytomorphology**, 16: 17–38. 1966.

CARLQUIST, S. Commelinales-Zingiberales: Rapateaceae. In: TOMLINSON, P.B; METCALFE, C.R. (Ed.). **Anatomy of the monocotyledons III**. Oxford University Press, London. 1969. p. 128-145.

CHAPOTIN, S.M.; HOLBROOK, N.M.; MORSE, S.R.; GUTIÉRREZ, M.V. Water relations of tropical dry forest flowers: pathways for water entry and the role of extracellular polysaccharides. **Plant, Cell and Environment** 26: 623-630. 2003.

CRAYN, D.M.; SMITH, J.A.C.; WINTER, K. Carbon-isotope ratios and photosynthetic pathways in the neotropical family Rapateaceae. **Plant Biology**, 3(5): 569-576. 2001.

DALTIN, A.L.; ORIANI, A.; SCATENA, V.L. Leaf and inflorescence axis anatomy of Brazilian species of Rapateioideae (Rapateaceae, Poales). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 87(1): 157-171. 2015.

FERRARI, R.C.; SCATENA, V.L.; ORIANI, A. Leaf and inflorescence peduncle anatomy: a contribution to the taxonomy of Rapateaceae. **Plant Systematics and Evolution**, 300: 1579-1590. 2014.

FORZZA, R. C. & COSTA, M. A. S. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rapateaceae. **Rodriguésia**, 177-181. 2005.

GIVNISH, T.J.; EVANS, T.M.; ZIHRA, M.L.; PATTERSON, T.B.; BERRY, P.E.; SYTSMA, K.J. Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from ndhF sequences and morphology. **Evolution**, 54: 1915–1937. 2000.

GIVNISH, T.J.; MILLAM, K.C.; EVANS, T.M.; HALL, J.C.; PIRES, J.C.; BERRY, P.E.; SYTSMA, K.J. Ancient Vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American–African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on ndhf sequence data. **International Journal of Plant Sciences**, 165(4 Suppl.): 35–54. 2004.

MAGUIRE, B. Rapateaceae. The botany of the Guayana Highland. Part III. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, 10: 19–49. 1958.

MAGUIRE, B. Rapateaceae. The botany of the Guayana Highland. Part VI. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, 12: 69–102. 1965.

MONTEIRO, R. F. 2011. Neotropical Rapateaceae. In: MILLIKEN, W.; KLITGARD, B.; BARACAT, A. (2009 onwards), **Neotropikey - Interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics**. <<http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Rapateaceae.htm>>. Acesso em 01 de agosto de 2016.

MONTEIRO, R.F. 2016. **Rapateaceae** in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB205>>. Acesso em 26 de julho de 2016.

ORIANI, A.; SCATENA, V.L. The taxonomic value of floral characters in Rapateaceae (Poales-Monocotyledons). **Plant systematics and evolution**, 299(2): 291-303. 2013.

PIRANI, J.R.; GIULIETTI, A.M. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Rapateaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, 11: 171-174. 1989.

RIBEIRO, J.E.L.S. *et al.* **Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 1999.

ROSA, M.M. **Anatomia floral de espécies de Eriocaulaceae e de *Cephalostemon riedelianus* Koern. (Rapateaceae)**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, São Paulo. 2006.

RUDALL, P. J.; PRYCHID, C. J.; JONES, C. Intra-ovarian trichomes, mucilage secretion and hollow styles in monocotyledons. In: OWENS SJ, RUDALL PJ (eds). **Reproductive biology**. Royal Botanic Garden, Kew. 1998. p. 219-230.

SOUZA, V.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. Nova Odessa, Plantarum. 2008.

STEVENSON, D.W.; COLELLA, M.; BOOM, B. Rapateaceae. In: Kubitzki, K. (Ed). **The families and genera of vascular plants-IV Monocotyledons**. Springer, Berlim, 1998. p.415-424.

TIEMANN, A. Untersuchungen zur Embryologie, Blütenmorphologie und Systematik der Rapateaceen und der Xyridaceen-Gattung *Abolboda* (Monocotyledoneae). **Dissertationes Botanicae** 82: 1–201. 1985.

TOMLINSON, P.B.; Metcalfe, C.R. (Ed) **Anatomy of the Monocotyledons: Commelinales-Zingiberales**. Clarendon Press. 1969.

TRIGO, J.R; SANTOS W. F. Insect mortality in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae) flowers. **Brazilian Journal of Biology** 60:537–538. 2000.

VENTURELLI, M.; BOUMAN, F. Development of ovule and seed in Rapateaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 97: 267–294. 1988.

**2 ESTRUTURA E HISTOQUÍMICA DE *Cephalostemon gracilis*
(RAPATEACEAE): UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA AMAZÔNIA
BRASILEIRA**

Cyntia Stella PORFIRIO^{1,2*}, Pedro Lage VIANA², Ana Cristina Andrade de AGUIAR-DIAS³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Botânica Tropical, Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi.

²Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica, Av. Perimetral 1901, 66077-830, Belém, PA, Brasil.

³Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, R. Augusto Corrêa 1, 66075-110, Belém, PA, Brasil.

*Autor Correspondente: cyntiaporfirio@gmail.com

Manuscrito a ser submetido para publicação na Revista Acta Amazonica

RESUMO

Cephalostemon gracilis (Poepp. & Endl.) R.H.Schomb., é endêmica da Amazônia Brasileira, encontrada em restingas, em áreas de brejo herbáceo e formação arbustiva aberta. A espécie possui folhas longas e amplas, brácteas longas, escapo glabro, inflorescência subglobosa, espiguetas, bractéolas com pelos em seu interior e sépalas lanceoladas. Além destas características, é também visível uma abundante secreção hialina em suas inflorescências e axilas foliares. Com o intuito de compreender a estrutura e a relação com o ambiente da espécie foi realizado um estudo anatômico e histoquímico. Para a análise estrutural foram estudadas partes vegetativas (raiz, bainha e lâmina foliares) e reprodutivas (escapo, brácteas e bractéolas), sendo utilizadas as técnicas usuais para análise em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Anatomicamente, a espécie apresentou epiderme unisseriada com presença de corpos silicosos na bainha e lâmina foliares, estômatos tetracíticos na bainha foliar, lâmina foliar, escapo, bráctea e bractéola, tricomas secretores de mucilagem na bainha foliar, bráctea e bractéola, aerênquimas e idioblastos nos parênquimas de todas as regiões, fibras subepidérmicas, e feixes colaterais. Além de diagnosticar a ocorrência inédita de tricomas mucilaginosos nas brácteas (face adaxial) e bractéolas (em ambas as faces), produzindo mucilagem em abundância, ausência de hipoderme, além da nervura central em forma de V. Essa diagnose auxilia no entendimento da relação entre planta-ambiente, e caracteriza a espécie comparando-a com outros gêneros de Rapateoideae (Rapateaceae).

Palavras-chave: anatomia, *Poales*, tricomas, mucilagem.

ABSTRACT

Cephalostemon gracilis (Poepp. &Endl.) R.H.Schomb. is an endemic species from Amazon region, usually found in restinga, herbaceous swamp areas and open shrubland formation. The species is morphologically featured by long and broad leaves, long bracts, glabrous scape, capituliform inflorescences, spikelets, bracteoles with hair inside and lanceolate sepals. In addition to these features, it is also visible abundant hyaline secretion in its inflorescences and leaf axils. In order to understand the structure and dynamics of the species, it was performed an anatomical and histochemical study. For structural analysis, it was studied vegetative (root, leaf sheath and leaf blade) and reproductive parts (scape, bracts and bracteoles), using the usual techniques of plant anatomy and photomicrographs with micrometric scales designed in the same optical conditions. Anatomically, the species has uniseriate epidermis with presence of silica bodies in the leaf sheath and leaf blade, tetracytical stomata in the leaf sheath, leaf blade, scape, bract and bracteole, mucilage secretory trichomes in the leaf sheath, bract and bracteole, aerenchyma and idioblasts in the parenchyma of all parts, subepidermal fibers, and collateral bundles. It was possible to diagnose specific characters and unprecedented occurrence of mucilaginous trichomes on the faces of the bract (adaxial) and bracteole (on both sides), producing mucilage in abundance, no hypodermis, and the midrib V-shaped. This diagnosis helps to understand the relationship between plant and environment, and features the species comparing it to other genera of Rapateoideae (Rapateaceae).

Key words: Anatomy, Poales, trichomes, mucilage

2.1 Introdução

Rapateaceae Dumort. compreende 17 gêneros e 95 espécies (The Plant List, 2016) distribuídas principalmente nos neotrópicos. No Brasil está representada por nove gêneros e ca. de 38 espécies, em que Rapateoideae (tribo Rapateae) possui todos os gêneros no País (Monteiro, 2016); *Cephalostemon* R.H.Schomb. com 5 espécies, tem a região Amazônica como centro de diversidade ocorrendo em habitats úmidos, encharcados, geralmente próximos a igarapés, além de ocorrerem em campos abertos, como nas serras da Cadeia do Espinhaço ou em restingas e campinaranas (Pirani e Giulietti, 1989; Ribeiro *et al.*, 1999; Crayn *et al.*, 2001; Santos e Bastos, 2014).

Estudos de anatomia floral (Oriani e Scatena, 2013) e de folhas e escapos (Daltin *et al.*, 2015) de *Cephalostemon* têm demonstrado características anatômicas uniformes, principalmente em relação às células epidérmicas com corpos silicosos, fibras hipodérmicas, idioblastos com tanino, feixes colaterais e tricomas secretores de mucilagem nas flores e bainhas foliares. Tais estudos revelam particularidades para cada espécie, apresentando valor taxonômico em nível genérico e específico, úteis para diferenciar a tribo de outras de Rapateaceae.

Ressalta-se que *Cephalostemon* não apresenta estudos estruturais para espécies amazônicas, *Cephalostemon riedelianus* Körn, endêmica do Cerrado brasileiro, possui estudos anatômicos das flores (Rosa, 2006; Oriani e Scatena, 2013), e das folhas e escapo (Daltin *et al.*, 2015). Apenas duas espécies de *Cephalostemon* são endêmicas da região Amazônica: *Cephalostemon gracilis* (Poepp. & Endl.) R.H.Schomb., e *Cephalostemon affinis* Körn., ocorrentes em áreas de Campinarana (Maguire, 1958; Monteiro, 2016). Entretanto, uma recente revisão taxonômica da família para o estado do Pará propôs a sinonimização de *Cephalostemon affinis* em *C. gracilis*, considerando a sobreposição de

caracteres morfológicos considerados distintivos, presentes nas folhas e bractéolas, nos materiais tipo de ambos os nomes (Praia, 2016).

Como grande parte das espécies de Rapateaceae, *C. gracilis* apresenta um exsudato hialino abundante em suas bainhas foliares e inflorescência. Contudo, a natureza química desta secreção, assim como detalhes sobre os sítios de síntese e/ou acumulação são superficialmente conhecidos ou ausentes para os indivíduos da família, tanto pela falta de análises histoquímicas, quanto estudos ontogenéticos ou ainda que estudem a planta inteira.

Dentro deste cenário de endemismo, mudanças na circunscrição da espécie (sinonimização) e ainda o desconhecimento de diversos aspectos e características estruturais e histoquímicas, o presente trabalho se insere com o objetivo de auxiliar nestas questões adicionando informações, a partir da caracterização anatômica das folhas e inflorescências de *Cephalostemon gracilis* com foco na secreção, topologia e função das estruturas secretoras.

2.2 Material e métodos

Foram coletadas amostras de 10 indivíduos da espécie *C. gracilis* em área de restinga, no município de Marapanim, Pará, nos meses de fevereiro, abril e dezembro de 2015 e fevereiro e abril de 2016. Para as análises anatômicas, partes vegetativas (raiz, bainha foliar, lâmina foliar) e reprodutivas (escapo floral, brácteas e bractéolas das inflorescências) foram fixadas por 24h em FAA (ácido acético glacial, formaldeído, etanol 50%, 1:1:18, v/v; Johansen 1940); e por 48h em formalina neutra tamponada (FNT; Lillie, 1965) e sulfato ferroso em formalina (SFF; Johansen, 1940).

Parte das amostras foi desidratada em série de álcool butílico terciário e incluídas em parafina histológica (*Paraplast*® Sigma-Aldrich, Alemanha). Posteriormente foram realizados cortes transversais e longitudinais (10-12 µm) em micrótomo rotativo (Leica RM 2245, Nussloch, Alemanha) e corados em safranina e azul de Astra (Gerlach, 1969). As lâminas permanentes foram montadas em resina sintética (*Permount*®, New Jersey, USA).

Outra parte das amostras foram desidratadas em série etílica (Johansen, 1940) e incluídas em historesina (historesin *Leica*®; Gerrits & Smid, 1983), também cortadas em micrótomo rotativo (7 µm) e coradas em azul de toluidina (O'Brien e McCully 1965).

Foram realizados cortes a mão livre com auxílio de navalhas descartáveis para fazer os testes histoquímicos, utilizamos reagentes para substâncias lipofílicas como: preto de Sudão B para lipídios totais (Pearse, 1985); e para substâncias hidrofílicas: PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent) para polissacarídeos totais (Feder e O'Brien, 1968), vermelho de rutênio para mucilagem (Gregory e Baas, 1989), lugol para amido (Johansen, 1940), reagentes de Wagner (Furr e Mahlberg, 1981) para alcaloides, vanilina clorídrica para taninos (Mace e Howell, 1974), cloreto férrico para compostos fenólicos totais (Johansen, 1940), ácido tânico e cloreto férrico para mucilagens (Pizzolato, 1977), e Xylidine Ponceau para proteínas totais (Costerlazzo; Vidal, 1991).

No controle dos testes para substâncias lipofílicas, as amostras foram estocadas por 24 horas em solução extratora (metanol/clorofórmio/água/HCl; High, 1985). Tais amostras foram fixadas em FNT e submetidas ao teste preto de Sudão B. O controle dos testes para substâncias hidrofílicas foi realizado de acordo com as técnicas já descritas para cada teste.

Para verificar a ocorrência de glicose na secreção, foi utilizado Glicofita Plus (Accu-chek® active Glucotrend® - F. Hoffmann La Roche Ltd.©), em campo.

As fotomicrografias foram obtidas através de microscópio Axiolab (Zeiss modelo 426126, Jena, Alemanha), com câmera digital acoplada (Cannon modelo A65015). E câmera fotográfica digital (Motic 2.500, Motic Group Co., LTD., Hong Kong, China) acoplada ao microscópio óptico (Motic BA 310, Motic Group Co., LTD., Hong Kong, China), com auxílio do programa Motic plus 2.0.

Para observação ao microscópio eletrônico de varredura as amostras foram fixadas em Glutaraldeído 2% (Karnovsky, 1965, modificado), desidratadas em série etílica, submetidas à secagem ao ponto crítico e metalizadas com ouro (Robards, 1978). As eletromicrografias foram obtidas em microscópio (Leo Electron Microscopy Ltd, 1450 VP, Cambridge, Inglaterra). Para análise em EDS (Espectrômetro de raios-X por Dispersão de Energia - Energy-Disperse X-Ray Spectroscopy) as amostras foram fervidas em clorofórmio para posterior desidratação, ponto crítico e metalização.

2.3 Resultados

Os resultados encontrados foram descritos de acordo com os tecidos presentes (epiderme, mesofilo, córtex, e sistema vascular) nas regiões estudadas: raiz (região?), folha (bainha foliar e lâmina foliar) e inflorescência (escapo, brácteas e bractéolas).

Quanto à morfologia, os indivíduos encontravam-se em áreas de restinga (Fig. 1A) com hábito herbáceo (Fig. 1B, 2a). **Raiz** fasciculada, cilíndrica (Fig. 2a). **Folhas** rosuladas, coriáceas (Fig. 1B, 2a), margens membranáceas, lâminas foliares sésseis (raro pseudopeciouladas), lineares, achatadas, planas, glabras, com a face abaxial da nervura central evidente, margens inermes, ápices agudos, pecíolos ausentes; bainhas lanceoladas,

marcescentes (Fig. 2b), presença de indumento na face adaxial (Fig. 2c), secreção hialina abundante (Fig. 1C); (Fig. 2a). **Inflorescências** capituliformes (Fig. 1B-detelhe), subglobosas; escapos pentagonais estrelados, glabros; espatas/brácteas sagitiformes, ápice agudo, glabras, planas, persistentes, livres, presença de indumento na base na face adaxial (Fig. 2d), secreção hialina abundante; espiguetas ca. 15 por inflorescência (Fig. 2e), sésseis, densamente agrupadas; bractéolas 47–56 por espiguetas, formato concavas-convexas, heterogêneas, basais acuminadas, apicais longo-aristadas, imbricadas, presença de indumento em ambas as faces (Fig. 2f,g), secreção hialina abundante.

Em vista frontal, ambas as faces da epiderme de todas as regiões possuem células com paredes engrossadas e sinuosas (Fig. 3A-B). Estômatos tetracíticos (Fig. 3B) estão presentes na bainha foliar, lâmina foliar, escapo, bráctea e bractéola, ausentes apenas na raiz. Corpos silicosos foram detectados ao longo das nervuras da bainha foliar e lâmina foliar distribuídos aleatoriamente (Fig. 3A).



Figura 1. *Cephalostemon gracilis* em ambiente natural. A. Habitat. B. Hábito, inflorescência em detalhe. C. Secreção produzida, notar detalhe do teste negativo da glicofita. Ampliar a foto da glicofita, cortar mais a parte da foto com sua mão e braço.

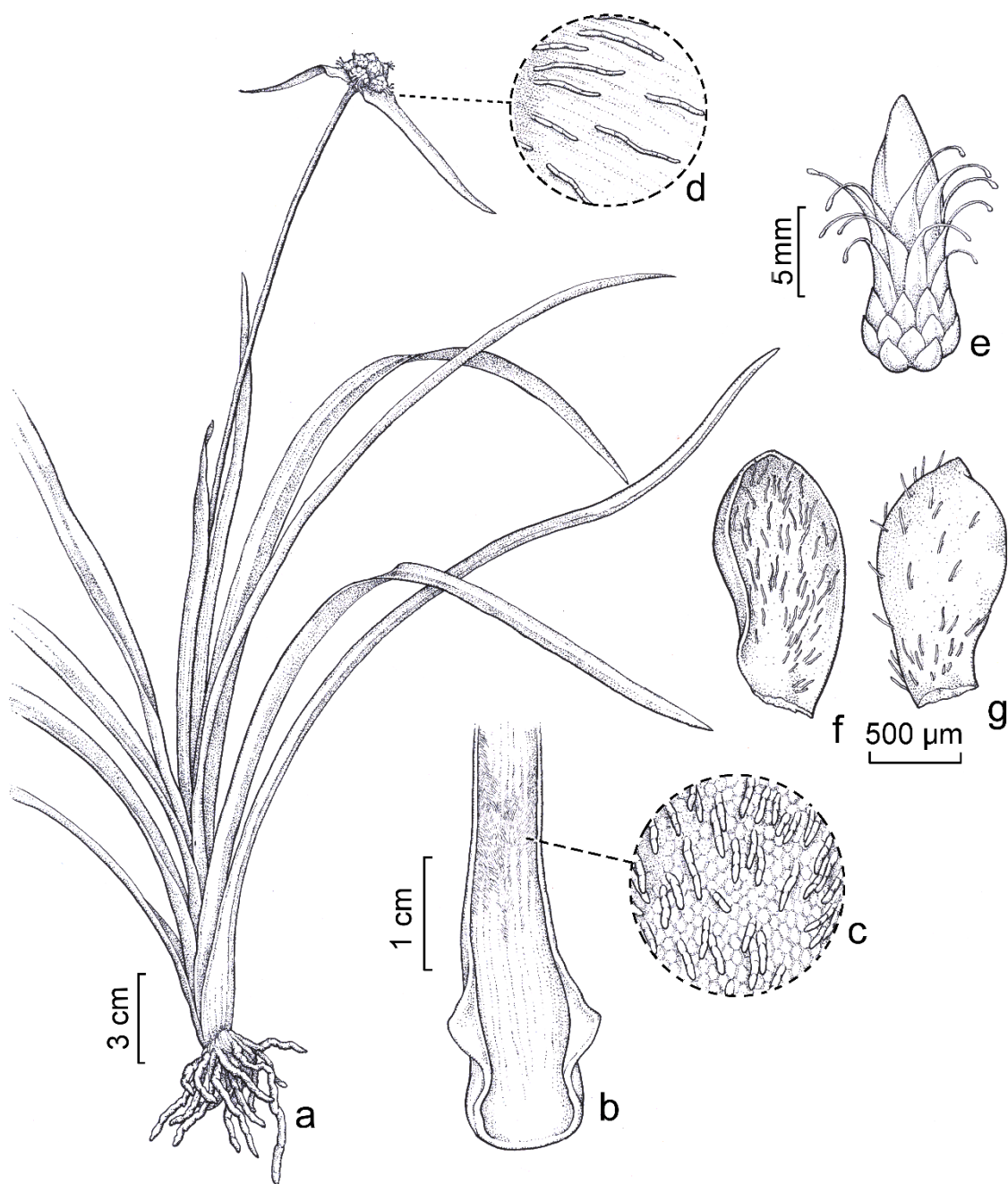


Figura 2. *Cephalostemon gracilis* (Poepp. & Endl.) R.H. Schomb. Hábito. b. Bainha foliar. c. Tricomas na face adaxial da Bainha foliar. d. Tricomas na face adaxial da Bráctea. e. Espiguetas com bractéolas. f. Tricomas na face adaxial da bractéola. g. Tricomas na face abaxial da Bractéola semente. (A. E. S. Rocha & S. V. Costa-Neto 1505 - MG). Ilustrador: João Silveira.

Em seção transversal, a epiderme é unisseriada e uniestratificada, com células arredondadas a alongadas de paredes finas e sinuosas em ambas as faces (Fig. 3C-I). Apenas na raiz encontra-se esclerificada (Fig. 3I), em todas as demais partes estudadas apresenta cutícula delgada (Fig. 3C-H). Estômatos estão presentes em quase todas as partes analisadas, exceto na raiz (Fig. 3C-H). Na base da bainha foliar estão presentes apenas na face abaxial (Fig. 3C), na lâmina foliar é anfihipoestomática (Fig. 3D). No escapo estão presentes por toda a extensão da epiderme exceto nas suas margens (Fig. 3E), na bráctea se apresenta em ambas as faces (Fig. 3F) e na bractéola apenas na face abaxial (Fig. 3H). Na bainha foliar, bráctea e bractéola ocorrem tricomas secretores unisseriados e multicelulares em fase pré-secretora (Fig. 3J-L). As margens da bainha foliar (Fig. 4J) e da bractéola (Fig. 4K) são formadas por um prolongamento da epiderme, onde se encontram idioblastos distribuídos pela sua extensão.

O córtex da raiz é constituído por aerênquima, estes subjacentes a epiderme, e camadas de parênquima fundamental (Fig. 4A). Na bainha foliar o mesofilo é homogêneo com parênquima braciforme circundando o aerênquima (Fig. 4B); a lâmina foliar possui o mesofilo dorsiventral apresentando de 1-2 camadas de parênquima paliçádico e 4-10 camadas de parênquima esponjoso (Fig. 4D), ainda no mesofilo são vistos aerênquimas entre os feixes. O córtex do escapo é constituído de células parenquimáticas arredondadas (Fig. 4C), e aerênquima presente no centro da estrutura. Bráctea (Fig. 4E) e bractéola (Fig. 4F) possuem o mesofilo homogêneo com parênquima de preenchimento. Idioblastos distribuídos aleatoriamente estão presentes no córtex da raiz e escapo, e no mesofilo da bainha foliar, lâmina foliar, bráctea e bractéola (Fig. 4A, C, D-I). Fibras esclerenquimáticas subepidérmicas são observadas nas faces de quase todas as regiões estudadas, excluindo-se a raiz. Na lâmina foliar, essas fibras são mais evidentes e/ou

frequentes (veja o que se adequa melhor) na face abaxial da nervura central (Fig. 4H) e na margem com aspecto revoluto (Fig. 4I), no escapo são ressaltadas nas margens (Fig. 4C), e na bráctea destacam-se na margem de aspecto involuto (Fig. 4L).

A raiz é poliarca (Fig. 4A) e sua medula possui uma única camada de endoderme, subjacente a ela encontra-se o periciclo circundando os feixes, os metaxilemas estão no centro da medula e os protoxilemas delimitam os floemas primários (Fig. 4M). Os feixes vasculares estão distribuídos linearmente na bainha foliar, lâmina foliar, bráctea e bractéola, em tamanhos diferentes intercalando entre um feixe maior e menor sucessivamente, exceto na nervura central da lâmina foliar onde se apresenta um único feixe de tamanho relevante (Fig. 4N), o escapo é o único órgão em que seus feixes principais estão agrupados em um maior e dois menores de cada lado (Fig. 4O) e se localizam próximos as margens, outros feixes de calibres menores se encontram no parênquima cortical entre seus feixes principais (Fig. 4C). Bainha foliar, lâmina foliar, escapo, bráctea e bractéola possuem feixes colaterais (Fig. 4N). Em quase todos os órgãos (bainha foliar, lâmina foliar, escapo e bráctea), foram vistos uma dupla camada de células (parenquimática e esclerificada) circundando os vasos condutores, com fibras esclerenquimáticas extras vistas nos feixes principais do escapo (Fig. 4O).

Para efeito de comparação, estas características foram sumarizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características anatômicas das regiões analisadas em *Cephalostemon gracilis*. *Notas:* Rz (raiz); BF (bainha foliar); LF (lâmina foliar); Es (escapo); Bt (bráctea); Bl (bractéola); (1): presença; (0): ausência; (-) inaplicável.

Características	Regiões					
	Raiz	Bainha Foliar	Lâmina Foliar	Escapo	Bráctea	Bractéola
Estômatos	0	+	+	+	+	+
Estômatos em ambas as faces	-	-	+	+	+	-
Estômatos na face abaxial	-	+	-	-	-	+
Tricomas secretores	0	+	-	-	+	+
Tricomas secretores em ambas as faces	-	-	-	-	-	+
Tricomas secretores na face adaxial	-	+	-	-	+	-
Aerênquima	+	+	+	+	+	+
Mesofilo homogêneo	-	+	-	-	+	+
Mesofilo dorsiventral	-	-	+	-	-	-
Parênquima fundamental	+	-	-	+	-	-
Parênquima braciforme	-	+	-	-	-	-
Parênquima de preenchimento	-	-	-	-	+	+
Idioblastos	+	+	+	+	+	+
Fibras Esclerenquimáticas Subepidérmicas	-	+	+	+	+	+
Margem com Fibras Esclerenquimáticas Subepidérmicas	-	-	+	+	+	-
Margem formada por Extensões Epidérmicas	-	+	-	-	-	+
Feixe Colateral	-	+	+	+	+	+
Dupla Bainha do Feixe	-	+	+	+	+	-
Fibras Esclerenquimáticas extras no Feixe	-	-	-	+	-	-

Os testes histoquímicos indicaram presença de mucilagens e proteínas nos tricomas secretores da bainha foliar (Fig. 5B, E-H) e da bractéola (Fig. 5A). Além de idioblastos fenólicos no mesofilo da lâmina foliar (Fig. 4G), da bráctea (Fig. 5C) e da bractéola, e no córtex da raiz e do escapo. Amido foi detectado na bainha foliar, na bráctea e bractéola (Fig. 5D). Estes resultados foram sumarizados na tabela 2.

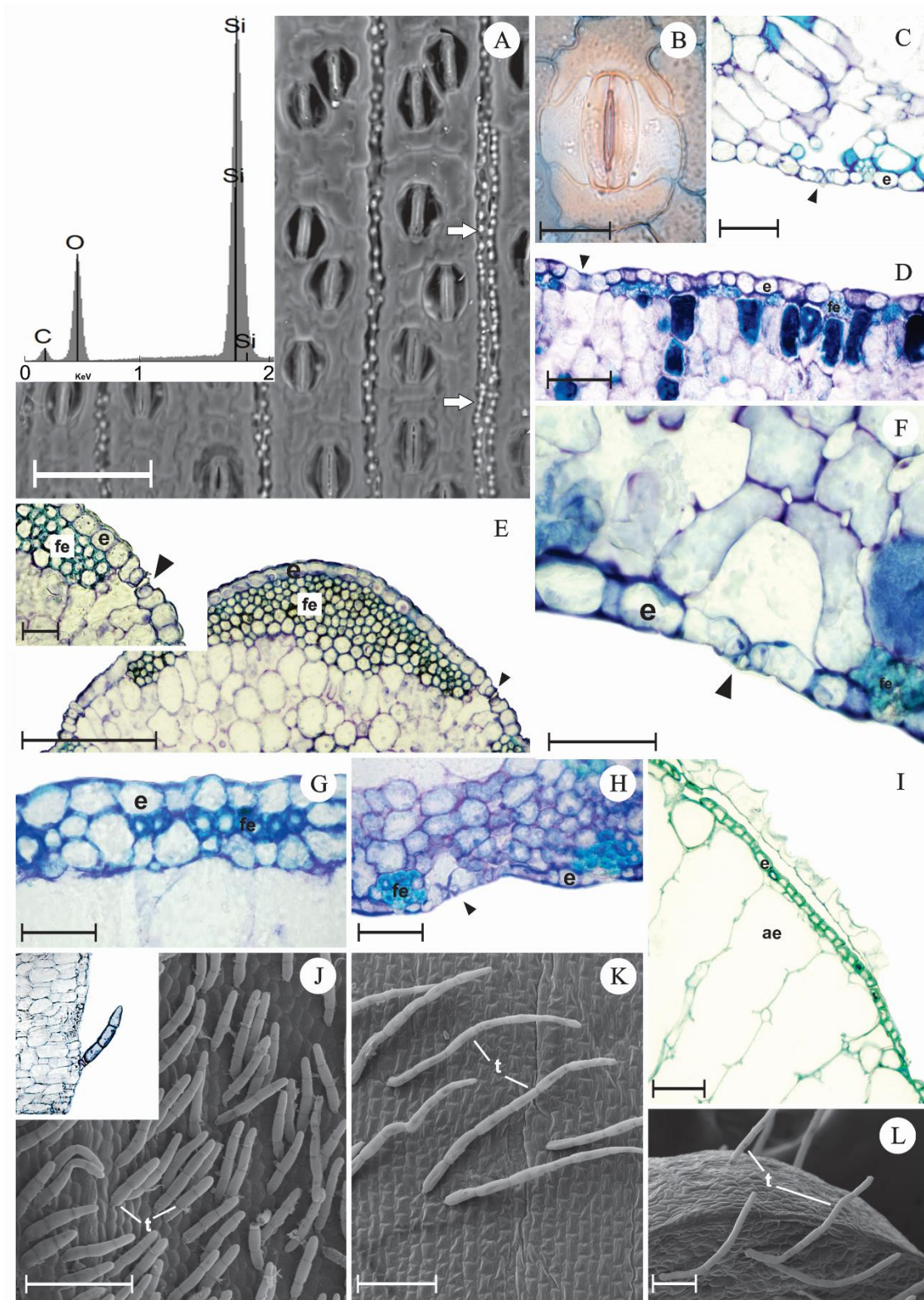


Figura 3. Epiderme de *Cephalostemon gracilis*. A. Vista frontal, notar corpos silicosos (setas) e análise de EDS em detalhe. B. Estômato tetracítico. C. Bainha foliar. D. Lâmina foliar. E. Escapo. F. Bráctea. G-H. Bractéola. I. Raiz. J-L. Tricomas secretores. J. Bainha Foliar. K. Bráctea. L. Bractéola. Ponta de seta indicam estômatos. (ae: aerênquima; e: epiderme; fe: fibras esclerenquimáticas; t: tricoma. Barras: 300µm (E); 200µm (J); 150µm (I); 140µm (K); 100µm (F); 80µm (A); 70µm (C, D, G, H, J – detalhe); 50µm (E – detalhe); 20µm (B).

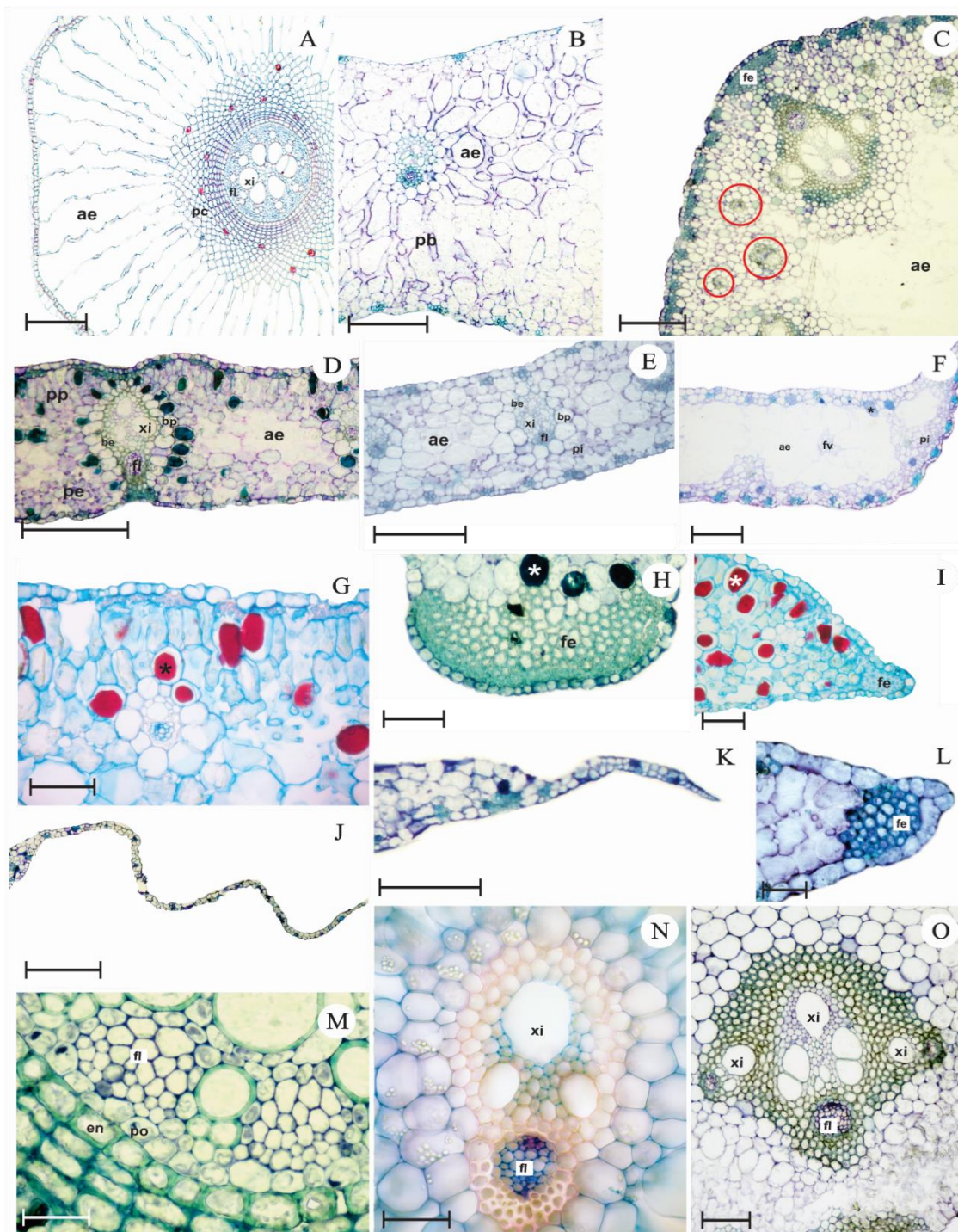


Figura 4. Parênquimas, margens e feixes vasculares de *Cephalostemon gracilis*. A. Raiz. B. Bainha foliar. C. Escapo. D. Lâmina foliar. E. Bráctea. F. Bractéola. G. Idioblastos na lâmina foliar. H. Fibras esclerenquimáticas na nervura central da lâmina. I. Margem da lâmina foliar. J. Margem da Bainha foliar. K. Margem da Bractéola. L. Margem da Bráctea. M. Raiz poliarca. N. Feixe colateral. O. Feixe central e agregados do escapo. Asterisco indica idioblastos e círculos os feixes menores. (ae: aerênquima; fe: fibras esclerenquimáticas; fv: feixe vascular; bp: bainha parenquimática; be: bainha esclerificada; pp: parênquima paliçádico; pe: parênquima esponjoso; pi: parênquima irregular; pb: parênquima braciforme; pc: parênquima cortical; em: endoderme; po: periciclo; xi: xilema; fl: floema). Barras: 400 μ m (C); 300 μ m (B, D, F, M); 150 μ m (E, J, N, O); 70 μ m (G, I); 25 μ m (K,L).

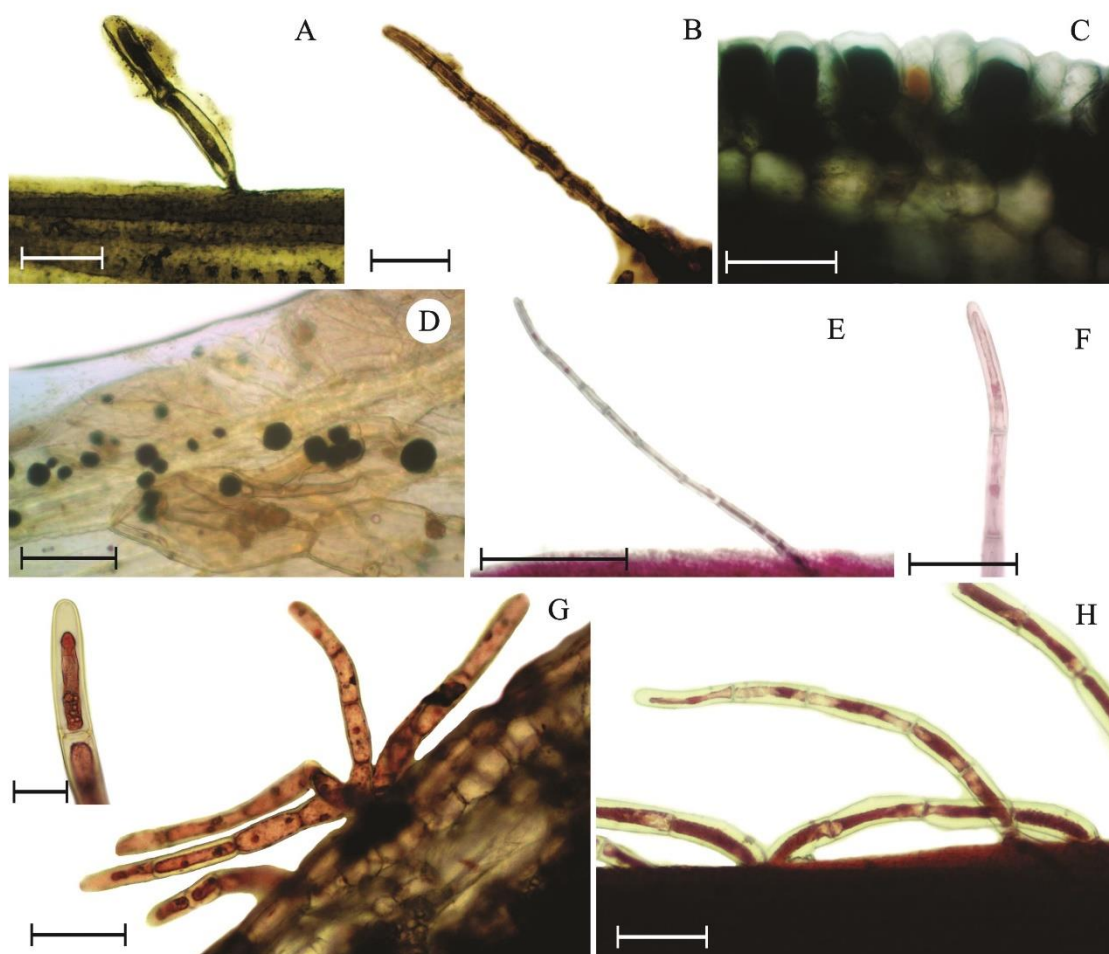


Figura 5. Estruturas secretoras de *Cephalostemon gracilis*. A-B: Bractéola e Bainha Interna de ácido tânico x cloreto férrico. C: Idioblastos da Bráctea de ácido tânico x cloreto férrico. D. Amido na Bráctea de lugol. E-F: Bainha Interna de vermelho de rutênio. G-H. Bainha Externa e Interna para o teste Xilidine de Ponceau, notar detalhe do tricoma com secreção. Barras: 150 μ m (A, B, E, G, H); 50 μ m (C, F, G -detalhe); 25 μ m (D).

Tabela 2. Resultados de testes histoquímicos aplicados NA secreção dos tricomas, idioblastos e amido presentes em *Cephalostemon gracilis*.

Testes	BaEx		BaIn		Brac		Bral		LaFo	
	Tr	Id	Tr	Id	Tr	Id	Tr	Id	Tr	Id
Carboidratos:										
Ácido Tânico x Cloreto Férrico	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Amido	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Vermelho de Rutênio	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Lipídios/Terpenóides:										
Sudão Preto B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Compostos fenólicos:										
Cloreto Férrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SFF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vanilina Clorídrica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcalóides:										
Reagente de Wagner	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteínas:										
Xilidina Ponceau	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-

Notas: (+): resultado positivo; (-): resultado negativo; BaEx: Bainha Externa; BaIn: Bainha Interna; Brac: Bráctea; Bral: Bractéola; LaFo: Lâmina Foliar.

2.4 Discussão

Ressalta-se que dentre estas características, a espécie compartilha similaridades como os corpos silicosos na epiderme, tricomas produtores de mucilagem nas axilas foliares e peças florais, e aerênquimas que são utilizadas para circunscrever Rapateaceae. Além disso, caracteres diagnósticos que definem a Tribo podem ser enfatizados aqui, como: folhas com cordões de fibras subepidérmicas em ambas as faces, parênquima braciforme ou regular no mesofilo, e escapos com fibras subepidérmicas e idioblastos fenólicos (Daltin *et al.* 2015). Contudo, apesar de possuir caracteres muito conservativos em relação ao grupo que está incluída, foi possível evidenciar o primeiro registro de tricomas mucilaginosos nas faces da bráctea (face adaxial) e bractéola (em ambas as faces), produzindo mucilagem em abundância, além da nervura central em forma de V.

A raiz da espécie estudada mostrou uma epiderme unisseriada, aerênquimas e idioblastos no parênquima cortical, única camada de endoderme e periciclo, e feixes poliarcos. Estas compartilham a descrição feita por Carlquist (1966), para a estrutura da raiz e caule na família.

C. gracilis é caracterizada por possuir estômatos tetracíticos em todas as partes aéreas analisadas. Nas primeiras análises anatômicas de Rapateaceae, Carlquist (1969) caracterizou a família com estômatos do tipo paracíticos presentes apenas na face abaxial das folhas, contudo Ferrari *et al.* (2014) descreveu estômatos do tipo tetracíticos em espécies das subfamílias Monotremoideae e Saxofridericioideae. Daltin *et al.* (2015) também descreve para tribo Rapateae (Rapateioideae), folhas com estômatos tetracíticos e em ambas as faces em alguns gêneros da tribo.

Corpos silicosos esféricos presentes na epiderme foram vistos neste estudo na bainha foliar e lâmina foliar de *Cephalostemon gracilis*, e já foram descritos em diversas regiões (caule, folhas, escapo, brácteas e flores) em outros representantes de Rapateaceae (Carlquist 1969; Stevenson *et al.* 1998; Oriani e Scatena 2013; Ferrari *et al.* 2014; Daltin *et al.* 2015). Estes corpos silicosos são compartilhados por outras famílias de *Poales*, além de outras monocotiledôneas, o que pode caracterizar uma sinapormofia do grupo. Sua função estaria diretamente ligada com a redução da transpiração e a sustentação das folhas, como observado para outras, além da proteção mecânica/barreira física contra a herbivoria (Prychid 2004).

Em relação aos tricomas glandulares foi possível verificar que se tratam de tricomas mucilaginosos. A ocorrência de tal estrutura não é um dado inédito para Rapateaceae (Carlquist 1969; Ferrari *et al.* 2014; Daltin *et al.* 2015), porém em *C. gracilis* os tricomas também ocorrem na base da bráctea (face adaxial) e por toda a extensão da bractéola (evidenciados em ambas as faces) sendo um novo registro relacionado à topologia destas estruturas. Até o presente momento, os tricomas mucilaginosos só eram descritos para a bainha foliar e flores (Oriani e Scatena 2013; Ferrari *et al.* 2014; Daltin *et al.* 2015). A presença da estrutura em seus representantes vem demonstrando-se como um caráter conservativo e pode representar uma apomorfia do grupo (Oriani e Scatena 2013; Ferrari *et al.* 2014; Daltin *et al.* 2015). Diante dos resultados encontrados até o momento, estes tricomas não serão considerados como coléteres. Apesar de Fahn (1979), caracterizar os coléteres como estruturas que produzem e secretam mucilagem ou a mistura de mucilagem com outras substâncias lipofílicas, mais testes serão necessários para que tal definição possa ser concluída. Ressalta-se que a posição das estruturas e a natureza do seu exsudato nos direcionam para uma possível definição. A ocorrência de

coléteres geralmente está na face adaxial dos órgãos vegetais, já que é a zona de contato das estruturas em desenvolvimento (Paiva 2009). Entretanto, neste estudo constatou-se a presença de tricomas mucilaginosos em ambas as faces da bractéola, devido a sua morfologia congesta, essa presença ajuda na lubrificação dos espaços, aumentando significativamente o volume de mucilagem produzida e conseqüentemente no sucesso reprodutivo da espécie como visto em Cardoso-Gustavson *et al.* (2014) em coléteres de Pleurothallidinae (Orchidaceae). É importante a observação de outros elementos para que estes tricomas possam ser denominados de coléteres ou não. Ressalta-se também que os tricomas são as únicas estruturas secretoras de mucilagem na espécie estudada, diferente do encontrado por Rosa (2006), na bractéola de *C. riedelianus* Körn onde a autora descreveu parênquima aquífero no mesofilo da estrutura como secretor de mucilagem, contudo testes específicos para o composto foram ausentes no trabalho.

A mucilagem secretada tem função de proteger partes jovens e peças florais da espécie, auxiliando no processo reprodutivo e evolutivo da família, principalmente contra o ressecamento e a luz solar, por ocorrer em ambiente de intensa radiação em elevadas altitudes (Givnish *et al.* 2000, 2004). Apesar da espécie estudada ocorrer em ambiente de restinga, suas características são compartilhadas entre outras espécies e gêneros, o que sustenta tal característica para a família. Em espécies de restinga esta secreção mucilaginosa auxilia na adaptação ao ambiente de alta radiação solar e luminosidade, temperatura elevada, de alta salinidade e solo de baixa retenção de água (Para Rocha *et al.* 2002). Além da mucilagem, foi possível verificar a presença de proteínas, as quais possivelmente estão associadas no mecanismo de defesa contra microorganismos, Klein *et al.* (2004).

Aerênquima foi observado em todos os órgãos de *C. gracilis*. A ocorrência destas lacunas de ar foi descrita no escapo de *C. riedelianus* Körn. (Daltin *et al.* 2015) e nas lâminas foliares, bainha foliar e escapo de espécies de *Monotrema* e *Saxofridericia aculeata* Körn. (Ferrari *et al.* 2014). Acredita-se que estes canais foram formados por um processo lisígeno de células jovens não fotossintetizantes que colapsaram ao alcançar a maturidade, restos de paredes celulares presentes nas lacunas reforçam essa hipótese (Silva e Scatena 2011). Estas possuem o papel de promover a aeração dos tecidos Cutter (2002). *C. gracilis* é encontrada em ambiente de alta temperatura e a intensa luminosidade, estes fatores podem estar relacionados à formação de lacunas de ar em órgãos vegetativos, principalmente raízes e rizomas, cujo córtex contém grande quantidade de lacunas, auxiliando na sobrevivência de plantas que ocorrem em solos alagados, (Luxmoore *et al.* 1972; Nielsen e Orcutt 1996).

A presença de fibras subepidérmicas no mesófilo, em ambas as faces das estruturas estudadas, foram associadas a ocorrência dos corpos silicosos em Rapateaceae (Carlquist 1969). O mesmo foi verificado para a tribo Saxofridericeae (Ferrari *et al.* 2014), e para a tribo Rapateae (Daltin *et al.* 2015), corroborando a hipótese de convergência adaptativa, levando em consideração a ocorrência das espécies em locais molhados e sombreados, mesmo estas pertencentes a subfamílias diferentes. Os autores supracitados reportam a presença de hipoderme nos escapos das espécies da família, apesar desse caráter conservativo para o grupo, o mesmo não ocorre em *C. gracilis*.

Cephalostemon gracilis possui idioblastos fenólicos distribuídos nos parênquimas de todas regiões estudadas. Esta distribuição em órgãos vegetativos e reprodutivos foi reportada por Carlquist (1966, 1969), Rosa (2006), Oriani e Scatena (2013), Ferrari *et al.* (2014), e Daltin *et al.* (2015) e demonstra uma característica de valor taxonômico

relevante para a família. Esses compostos são essenciais para o crescimento e reprodução das plantas, e se formam sob condições estressantes tais como infecções, ferimentos, radiação ultravioleta e outros (Naczki e Shahidi (2004), além de atuarem como atrações visuais de insetos nas peças florais (Haborne, 1993).

Carlquist (1969) reportou idioblastos com presença de taninos na lâmina foliar de representantes da família, característica ausente na espécie aqui estudada, já que o teste para tal substância teve resultado negativo. Acredita-se então que estes idioblastos sejam apenas fenólicos, como apontado nos testes.

O padrão do mesofilo da lâmina foliar de *C. gracilis* confirma o padrão descrito por Carlquist (1969), caracterizando a família com a presença de clorênquima paliçádico e esponjoso. A espécie aqui estudada apresentou dois tipos de mesofilo, homogêneo e dorsiventral, sendo o tipo X exclusivo da lâmina foliar, caráter já observado na família no gênero *Monotrema* (Ferrari *et al.* 2014). Contudo, Daltin *et al.* (2015) observaram para Tribo Rapateae, folhas com clorênquima homogêneo, e apesar da espécie aqui estudada pertencer a tribo, ela se diferencia dos demais por apresentar os dois tipos de mesofilo. Além disso, *C. gracilis* apresenta lâmina foliar anfihipoestomática, que já foi descrito para *C. riedelianus* (Daltin *et al.* 2015) e para o gênero *Monotrema* (Ferrari *et al.* 2014), como folhas anfiestomáticas.

Em *C. gracilis* apenas a bainha foliar possui parênquima braciiforme delimitando aerênquimas no mesofilo como já descrito por Daltin *et al.* (2015), contudo nas espécies estudadas pelas autoras o parênquima também delimita feixe de fibras dispersos pelo mesofilo, o que não ocorre na espécie aqui estudada.

C. gracilis apresentou característica que concordam com o padrão descrito para diferentes níveis taxonômicos, tais como: os feixes vasculares colaterais, característica

comum na família (Ferrari *et al.* 2014; Daltin *et al.* 2015) e nervura central com um único feixe central, comum em *Cephalostemon* e a nervura central em V, com grande quantidade de fibras esclerenquimáticas subepidérmicas na face abaxial, são diagnósticas à nível de espécie (Daltin *et al.* 2015).

As margens da lâmina foliar de *C. gracilis* com feixes esclerenquimáticos, já foram reportados para *Spathanthus bicolor* Ducke, *Cephalostemon riedelianus* Körn. e *Duckea squarrosa* (Willd. ex Link) Maguire, integrantes da tribo Rapateae (Daltin *et al.* 2015), bem como as extensões epidérmicas formando a estrutura da bainha foliar em diferentes subfamílias (Ferrari *et al.* 2014).

Daltin *et al.* (2015) descreveu caracteres para a subfamília Rapateoideae quanto aos seus escapos, e destes alguns são compartilhados com a espécie aqui estudada, como: única camada de epiderme com corpos silicosos, idioblastos fenólicos e feixes colaterais. Estas características também foram descritas por Carlquist (1969) para a família como um todo. O escapo, da espécie em questão, tem formato pentagonal estrelado, semelhante ao descrito em *Monotrema affine* Maguire e *M. bracteatum* Maguire (Ferrari *et al.* 2014). Estes gêneros pertencentes a subfamília Monotremoideae. Segundo as autoras, estas características semelhantes são resultado de convergência adaptativa, considerando a ocorrência em diferentes subfamílias de Rapateaceae.

Ao inventariar todo o eixo vegetativo de *Cephalostemon gracilis* foi possível compreender a dinâmica estrutural da mesma e sua relação com o ambiente que habita, como os corpos silicosos, os tricomas mucilaginosos e a presença de aerênquimas. Como em muitos representantes de Rapateaceae, a espécie possui características conservativas que estão presentes em todo o grupo e, em alguns casos, até em Poales, tais como: corpos silicosos e idioblastos fenólicos. Ressalta-se que, anatomicamente, a espécie pode ser

diferenciada das demais pela ausência de hipoderme e tricomas na face adaxial da bráctea e ambas as faces da bractéola, além da morfologia da nervura em V. A mucilagem presente em grande quantidade, tanto no eixo vegetativo quanto no reprodutivo pode representar um importante mecanismo de sobrevivência das plantas, nas diferentes fases do ciclo de vida, ao ambiente de restinga e merece uma maior investigação para que possamos compreender sua natureza e composição.

2.5 Conclusão

Elucidando as estruturas secretoras apresentamos algumas novidades tais como tricomas glandulares como únicas estruturas secretoras de mucilagem e sua localização nas bractéolas, o que sugere que estejam também associados a processos reprodutivos; mesofilo dorsiventral na lâmina foliar; ausência de hipoderme confirmando com futuros estudos ontogênicos. Acredita-se que estas estruturas colaborem no processo reprodutivo, evolutivo e adaptativo da espécie principalmente pelo ambiente em que se encontra. O estudo nos permitiu ampliar o conhecimento sobre o gênero *Cephalostemon*, já que a espécie amazônica estudada foi a única investigada anatomicamente.

2.6 Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida à primeira autora. À Xiloteca da Embrapa pela utilização do espaço para a confecção das fotomicrografias.

REFERÊNCIAS

- Berry, P.E. 2004. Rapateaceae. In: Steyermark J.A.; Berry, P.E.; Yatskievych, K.; Holst, B.K. (Ed.). *Flora of the Venezuelan Guayana*. Vol 8: Poaceae-Rubiaceae. Missouri Botanical Garden Press, St Louis, Missouri, p.413-472.
- Carlquist, S. 1966. Anatomy of Rapateaceae - Roots and Stems. *Phytomorphology*, 16: 17–38.
- Carlquist, S. 1969. Commelinales-Zingiberales: Rapateaceae. In: Tomlinson, P.B.; Metcalfe, C.R. (Ed.). *Anatomy of the monocotyledons III*. Oxford University Press, London., p. 128-145.
- Crayn, D.M.; Smith, J.A.C.; Winter, K. 2001. Carbon-isotope ratios and photosynthetic pathways in the neotropical family Rapateaceae. *Plant Biology*, 3(5): 569-576.
- Cutter, E.G. 2002. Anatomia vegetal, 2nd ed. Roca, São Paulo.
- Daltin, A.L.; Oriani, A.; Scatena, V.L. 2015. Leaf and inflorescence axis anatomy of Brazilian species of Rapateioideae (Rapateaceae, Poales). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(1): 157-171.
- Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. London, Academic Press, 302p.
- Ferrari, R.C.; Scatena, V.L.; Oriani, A. 2014. Leaf and inflorescence peduncle anatomy: a contribution to the taxonomy of Rapateaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 300: 1579-1590.
- Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44(2): 153-159.
- Gerlach, D. 1969. *Botanische Mikrotechnik, Eine Einführung*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 311p.
- Gerrits, P.O.; Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial section. *Journal of Microscopy*, 132: 81-85.
- Givnish, T.J.; Evans, T.M.; Zihra, M.L.; Patterson, T.B.; Berry, P.E.; Sytsma, K.J. (2000) Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndhF* sequences and morphology. *Evolution*, 54: 1915–1937.
- Givnish, T.J.; Millam, K.C.; Evans, T.M.; Hall, J.C.; Pires, J.C.; Berry, P.E.; Sytsma, K.J. 2004. Ancient Vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American–African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. *International Journal of Plant Sciences*, 165(4 Suppl.): 35–54.

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

Cardoso-Gustavson, P.; Campbell, L.M.; Mazzoni-Viveiros, S.C.; de Barros, F. 2014. Floral colleters in Pleurothallidinae (Epidendroideae: Orchidaceae). *American journal of botany*, 101(4): 587-597.

Harborne, J.B. 1993. Introduction to ecological biochemistry. 4 ed. Academic Press, London.

High, O.B. 1985. *Lipid histochemistry*. New York: Oxford University Press.

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

Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York, 1940, 523p.

Kaiser, E. 1880. Verfahren zur herstellung einer tadellosen glycerin-gelatine. *Botanisch Zentralb.* Stuttgart, 180: 25-26.

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

Klein, D.E.; Gomes, V.M.; Silva-Neto, S.J.; Cunha, M. 2004. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Annals of Botany*, 94: 733-740.

Lillie, R.D. 1965. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3 ed. New york: Mcgraw Hill.

Luxmoore, R.J.; Sojka, R.E.; Stolzy, L.H. 1972. Root porosity and growth responses of wheat to aeration and light intensity. *Soil and Science*, 113: 354-357.

Mace, M.E.; Howell, C.R. 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. *Phytopathology*, 64: 1297-1302.

Maguire, B. 1958. Rapateaceae. The botany of the Guayana Highland. Part III. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 10: 19-49.

Maguire, B. 1965. Rapateaceae. The botany of the Guayana Highland. Part VI. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 12: 69-102.

Monteiro, R.F. 2016. *Rapateaceae* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB205>). Acesso em 26/07/2016.

Nacz, M.; Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1): 95-111.

- Nielsen, E.T.; Orcutt, D.M. 1996. *Physiology of plants under stress abiotic factors*. United States of America, John Wiley & Sons, Inc.
- O'Brien, T.P.; McCully, M.E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *O. Protoplasma*, 9(2): 368-373.
- Oriani, A.; Scatena, V.L. 2013. The taxonomic value of floral characters in Rapateaceae (Poales-Monocotyledons). *Plant systematics and evolution*, 299(2): 291-303.
- Paiva, E.A.S. 2009. Occurrence, structure and functional aspects of the colletes of *Copaifera langsdorfii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Comptes Rendus Biologies*, 332: 1078 – 1084.
- Pearse, A.G.E. 1985. *Histochemistry theoretical and applies*. V. 2. Edinburgh: C. Livingstone.
- Pirani, J.R.; Giuliatti, A.M. 1989. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Rapateaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, 11: 171-174.
- Pizzolato, T.D. 1977. Staining of *Tilia* mucilages with Mayer's tannic acid-ferric chloride. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 104(3): 277-279.
- Praia, T.S. 2016. *Rapateaceae Dumort. no Estado do Pará, Brasil*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural da Amazônia/ Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará. 59p.
- Prychid, C.J.; Rudall, P.J.; Gregory, M. 2004. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *Botanical Review*, 69: 377–440.
- Ribeiro, J.E.L.S.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; et al. 1999. *Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas.
- Robards, A.W. 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: Hall, J.L. (Ed.). *Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells*. New York: Elsevier, p.343-403.
- Rocha, J.F.; Neves, L.J.; Pace, L.B. 2002. Estruturas secretoras em folhas de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda. *Revista Universidade Rural*, 22(1): 43-55.
- Rosa, M.M. 2006. *Anatomia floral de espécies de Eriocaulaceae e de Cephalostemon riedelianus Koern. (Rapateaceae)*. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, São Paulo. 80p.

Santos, J.U.M.; Bastos, M.N.C. (Org.). 2014. *Flores e frutos das Restingas do Estado do Pará*. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará.

Silva, I.V.D.; Scatena, V.L. 2011. Anatomy of the scapes of species of Bromeliaceae from the Amazon, Mato Grosso, Brazil. *Hoehnea*, 38(1): 51-59.

Steyermark, J.A. 1988. Flora of the Venezuelan Guayana-VI. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75: 1565-1570.

Stevenson, D.W.; Colella, M.; Boom, B. 1998. Rapateaceae. In: Kubitzki, K. (Ed). *The families and genera of vascular plants-IV Monocotyledons*. Springer, Berlin, p.415-424.

The Plant List, 2016. Version 1.1. (<http://www.theplantlist.org/>). Acesso em 27/07/2016.

Vidal, B.C. 1970. Dichroism in collagen bundles stained with xyloidine ponceau 2R. *Annales D'histochimie*, 15(4): 289-296.