

VIRGILIA APARECIDA PEGORINI ROCHA

**ASPECTOS BOTÂNICOS DE ESPÉCIES DE
Eumachia DC. COM OCORRÊNCIA NA
AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE**

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2019

	VIRGILIA APARECIDA PEGORINI RCHA	Diss. MESTRADO	PPGBioAgro 2019



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO
GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E
AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS
AMAZÔNICOS



VIRGILIA APARECIDA PEGORINI ROCHA

**ASPECTOS BOTÂNICOS DE ESPÉCIES DE
Eumachia DC. COM OCORRÊNCIA NA
AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Vieira da Silva

ALTA FLORESTA

2019

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

R672a ROCHA, Virgilia Aparecida Pegorini .
Aspectos Botânicos de Espécies de Eumachia Dc. Com Ocorrência na Amazônia Mato-Grossense / Virgilia Aparecida Pegorini Rocha - Alta Floresta, 2019.
83 f.; 30 cm.(ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso
(Dissertação/Mestrado) - Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Câmpus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2019.
Orientador: Ivone Vieira da Silva

1. Anatomia. 2. Eumachia. 3. Rubiaceae. 4. Amazônia. 5. Histoquímica. I. Virgilia Aparecida Pegorini Rocha. II. Aspectos Botânicos de Espécies de Eumachia Dc. Com Ocorrência na Amazônia Mato-Grossense : .

CDU 581.6

**ASPECTOS BOTÂNICOS DE ESPÉCIES DE
Eumachia DC. COM OCORRÊNCIA NA
AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE**

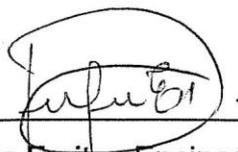
VIRGILIA APARECIDA PEGORINI ROCHA

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Aprovada em: 01/04/2019



Prof. Dra. Ivone Vieira da Silva
Orientadora – UNEMAT - PPGBioAgro



Prof. Dra. Juliana de Freitas Encinas Dardengo
UNEMAT - PPGBioAgro



Prof. Dra. Ana Kelly Koch
UFMT – Universidade Federal de Mato Grosso

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Vera, ao meu pai Flávio, minha irmã Camila e ao meu noivo Ivan que diariamente me incentivam, me apoiam e me fortalecem, mas especialmente nesses dois anos se mostraram pessoas realmente insubstituíveis. Dedico também a minha orientadora Dra. Ivone por acreditar no meu potencial e me encorajar a ir além.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por tantas bênçãos a mim concedidas. Talvez não seja possível expressar em palavras a minha eterna gratidão a todos os envolvidos na realização desse sonho, mas espero que todos sintam o meu carinho e respeito.

Gostaria de agradecer em especial uma pessoa que tornou esse trabalho menos árduo, que me auxiliou incansavelmente, assim como tem feito a anos, que não me deixa desanimar jamais! Pessoa a qual eu me espelho e tenho a honra de chamar de mãe (Vera Lúcia Pegorini Rocha), sem ela não sei se teria conseguido!

Agradeço também de maneira singular, ao meu pai (Florício Rocha Filho), que do início ao fim se fez presente para que o projeto fosse realizado com eficácia e esmero, dando o suporte necessário para que esses dois anos de mestrado não fossem tão difíceis. À minha irmã (Camila Pegorini Rocha), gratidão por sempre se fazer presente, mesmo quando quilômetros nos separam e estar sempre disposta a me ouvir.

Ao meu noivo, namorado e amigo (Ivan Moreno de Jesus Filho), sou eternamente grata, pelo apoio diário, pelo incentivo, e pelas idas a campo que foram essenciais para o resultado da dissertação.

À Dra. Ivone Vieira da Silva, sou grata por ser a melhor orientadora que eu poderia ter! Pessoa hiper alto astral e de coração gigante que me acolheu e confiou na minha capacidade de executar este trabalho fazendo com que eu me visse com outros olhos e exergasse novos horizontes.

A equipe do laboratório, pela convivência diária e pelos auxílios prestados, excepcionalmente ao Norberto Gomes Ribeiro Júnior que por várias vezes dispôs seu tempo a mim, mesmo com tantos afazeres e a Maísa, por me acompanhar em campo e estar sempre disposta a ajudar.

Gratidão a três grandes pessoas, Ana Kelly Koch, José Martins Fernandes e Reinaldo Antônio Pinto que contribuíram imensamente com os resultados dessa pesquisa.

À Universidade do Estado de Mato Grosso, instituição que tenho enorme respeito e que faz parte da minha vida e da minha família, ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, em especial ao Diego, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, a Fundação Ecológica Cristalino em especial Priscila e Lucas e ao Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM).

Agradeço a todos que compartilharam momentos comigo e compreenderam a minha ausência em algumas ocasiões, vocês fazem parte da minha história!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO GERAL	xi
GENERAL ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
3. CAPÍTULOS.....	17
3.1. MORFOANATOMIA COMPARADA DE TRÊS ESPÉCIES DE <i>Eumachia</i> DC. OCORRENTES NA AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE	17
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO.....	33
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
3.2. RESPOSTAS ANATÔMICAS DE <i>Eumachia kappleri</i> EM TRÊS ÁREAS DA AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE.....	40
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS	44
RESULTADOS	48
DISCUSSÃO.....	50
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
3.3 HISTOQUÍMICA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE TRÊS ESPÉCIES DE <i>Eumachia</i> DC. (<i>Rubiaceae</i>).....	58
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	60

INTRODUÇÃO.....	60
MATERIAL E MÉTODOS	62
RESULTADOS	65
DISCUSSÃO.....	71
CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	77

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Atributos anatômicos foliares, suas definições e transformações necessárias para teste estatístico.....47

TABELA 2. Matriz de correlação de Pearson entre os atributos anatômicos de amostras de *Eumachia kappleri* provenientes de três áreas de vegetação natural na Amazônia mato-grossense. Definição das siglas na tabela 1.....48

TABELA 3. Valores médios dos atributos anatômicos foliares mensurados em *Eumachia kappleri* ocorrentes em Floresta Ombrófila Densa Submontana e Floresta Estacional Semidecidual na Amazônia mato-grossense, Brasil.....49

CAPÍTULO 3

TABELA 1. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia guianensis*, *E. kappleri* e *E. inconspicua* para detecção de metabólitos secundários.....65

TABELA 2. Resultado dos testes histoquímicos realizados em *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri*.....66

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1: Áreas de coleta. A- Estado de Mato Grosso; município de Alta Floresta em vermelho, município de Novo Mundo em azul; B- Reserva Particular do Patrimônio Natural Mirante da Serra; C- Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort e D- Sítio Ecológico da Paineira.....22

FIGURA 2. *Eumachia guianensis*: A- folha, B- estípulas, C- inflorescência, D- flor. *E. inconspicua*: E- folha, F- estípula, G- inflorescência, H- flor. *E. kappleri*: I- folha, J- estípula endurecida, K-estípula jovem, L- inflorescência, M- flor.....27

FIGURA 3: Secção transversal da raiz de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (A, C e E, respectivamente). Detalhes da raiz de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (B, D e F, respectivamente). Barras: A- 600 μm ; B- 300 μm ; C- 200 μm ; D- 50 μm ; E- 100 μm ; F- 50 μm28

FIGURA 4: Secções transversais do caule de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (A, C e E, respectivamente). Detalhes do caule de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (B, D e F, respectivamente). Barras: 200 μm30

FIGURA 5: Células epidérmicas adaxiais e abaxiais, respectivamente em *Eumachia guianensis* (A, B); *E. inconspicua* (C, D) e *E. kappleri* (E, F). Barras 50 μm31

FIGURA 6: Pecíolo, nervura central e mesofilo das espécies *Eumachia guianensis* (A, D e G, respectivamente); *E. inconspicua* (B, E e H, respectivamente); *E. kappleri* (C, F e I, respectivamente). Barras: A; B; C; D; E; F: 200 μm ; G; H; I: 50 μm33

CAPÍTULO 2

FIGURA 1: Áreas de coleta. A- Estado de Mato Grosso, município de Alta Floresta em vermelho; município de Novo Mundo em Azul. B- Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort – Reserva FA; C- Parque C-E; D- Reserva Particular do Patrimônio Natural - RPPN Mirante da Serra.....45

FIGURA 2. Secções anatômicas da lâmina foliar de *Eumachia kappleri*. Vista paradérmica da epiderme adaxial (A) e abaxial (B). Vista transversal do mesofilo ocorrente na Reserva FA (C); RPPN Mirante da Serra (D) e Parque C_E (E). Vista transversal da nervura central ocorrente em Reserva FA (F); RPPN Mirante da Serra (G) e Parque C-E (H). Barras: A, B e C: 50 µm; C, D e E: 100 µm; F, G e H: 200 µm.....50

CAPÍTULO 3

FIGURA 1: Áreas de coleta. A- Estado de Mato Grosso, município de Alta Floresta em vermelho; município de Novo Mundo em azul. B- Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort – Reserva FA; C- Reserva Particular do Patrimônio Natural – RPPN Mirante da Serra e D- Sítio Ecológico da Paineira.....64

FIGURA 2. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia guianensis*, detectando: Amido na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2A-D, respectivamente); compostos fenólicos na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2E-H, respectivamente); lipídios totais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2I-L, respectivamente); mucilagens na nervura central, no mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2M-P, respectivamente), óleos essenciais na nervura central, pecíolo, caule e raiz (Figs. 2Q-T, respectivamente) e terpenóides na nervura central, pecíolo e caule (Figs. 2U-Y). Barras: A; D; E; G; H; L; R e V= 200 µm; I; M e P= 100 µm; B; C; F; J; K; N; O; Q; S; T; U; X e Y= 50 µm.....67

FIGURA 3. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia inconspicua* revelando: Amido na nervura central, pecíolo, caule e raiz (Figs. 3A-D, respectivamente); compostos fenólicos na nervura central, pecíolo e caule (Figs. 3E-G, respectivamente); lipídios totais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 3H-K, respectivamente); mucilagens no pecíolo e caule (Figs. 3L, 3M, respectivamente) e óleos essenciais na nervura central e pecíolo (Figs. 3N, 3O, respectivamente). Barras: A; B; C; D; E; H; K; L e M= 100 µm; I; N e O= 50 µm e F; G e J= 200 µm.....69

FIGURA 4. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia kappleri* revelando: Amido na nervura central, mesofilo, pecíolo, caule e raiz (Figs. 4A-E, respectivamente); compostos fenólicos na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 4F-I, respectivamente); lipídios totais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 4J-M, respectivamente); mucilagens na nervura central, pecíolo e caule (Figs. 4N-P, respectivamente) e Óleos essenciais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 4Q-T, respectivamente). Barras: A= 100 µm; B; D; E; F G; H; I; K; L; M; N; O; P; Q; R; S e T= 50 µm; C e J= 200 µm.....70

RESUMO GERAL

ROCHA, Virgília Aparecida Pegorini. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, janeiro de 2019. **Aspectos botânicos de espécies de *Eumachia* DC. com ocorrência na Amazônia Mato-grossense.** 2018. Orientadora: Dra. Ivone Vieira da Silva.

O Brasil possui uma das diversidades biológicas, edáficas, climáticas e geomórficas mais ricas do planeta, estando estas concentradas em maior escala na região Amazônica, constituída por uma imensa diversidade vegetal. Na flora brasileira, Rubiaceae é uma das principais famílias, representada por 126 gêneros e 1.404 espécies, dentre os diversos gêneros, *Eumachia* DC. é considerado o menor deles e, por critérios estabelecidos em dados moleculares e distribuição geográfica teve sua circunscrição reavaliada recentemente, fato que ampliou o seu conceito de ocorrência, pois atualmente tornou-se um gênero pantropical, com aproximadamente 83 espécies. Este estudo tem como objetivo descrever a morfologia e a anatomia, comparar e analisar a existência de compostos secundários de três espécies do gênero *Eumachia* procurando contribuir com a correta identificação das espécies e assim auxiliando na circunscrição do gênero. Para a realização do estudo, utilizaram-se três espécies de *Eumachia*, denominadas *E. guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* as quais foram submetidas a metodologias usuais para estudos morfoanatômicos e histoquímicos. A pesquisa encontra-se dividida em três capítulos sendo que o primeiro trata da morfoanatomia das três espécies, onde foi possível verificar que as características que elas apresentam como folhas opostas, elípticas, flores pentâmeras, epiderme uniestratificada, estômatos paracíticos, mesofilo dorsiventral e feixe vascular tipo colateral não são satisfatórias para a delimitação das espécies e conseqüentemente do gênero. No segundo capítulo, o estudo comparativo das folhas de *E. kappleri* de três ambientes distintos busca compreender possíveis caracteres adaptativos. Este estudo mostra que apesar da baixa plasticidade, as espécies possuem capacidade de se adaptar em diferentes ambientes. O terceiro capítulo refere-se aos compostos secundários em *E. guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* que foram encontrados através de testes histoquímicos na raiz, caule e folha. Neste estudo, conclui-se que os compostos como, amido, compostos fenólicos,

lipídios totais, mucilagens e óleos encontrados nas espécies são decorrentes da capacidade adaptativa da planta, uma vez que estão relacionados com a capacidade de proteção.

Palavras-chave: Anatomia; Região Centro-Oeste; metabólitos secundários; plasticidade, *Eumachia*.

GENERAL ABSTRACT

ROCHA, Virgília Aparecida Pegorini. MSc. University of Mato Grosso State, January 2019. **Botanical aspects of species of *Eumachia* DC. with occurrence in the Mato Grosso Amazon.** 2018. Advisor: Dr. Ivone Vieira da Silva.

Brazil has one of the richest biological, edaphic, climatic and geomorphic diversity of the planet, being concentrated in a larger scale in the Amazon region, which is constituted by an immense vegetal diversity. In the Brazilian flora, the Rubiaceae is one of the main families, represented by one hundred and twenty-six genera and one thousand four hundred and four species. Among those various genera, the *Eumachia* DC. is considered the smallest of them and, based on some criteria established in molecular data and geographic distribution, its circumscription was recently re-evaluated, which expanded its concept of occurrence, since it has become a pantropical genus, with approximately eighty-three species. This study aims to describe the morphology and the anatomy, to compare and analyze the existence of secondary compounds of three species from the genus *Eumachia*, seeking to contribute to the correct identification of the species, and assisting in the circumscription of the genus. For the study, three species of *Eumachia* were used, the *E. guianensis*, the *E. inconspicua* and the *E. kappleri*, which were submitted to the usual methodologies for morphoanatomical and histochemical studies. The research is divided in three chapters. The first one deals with the morphoanatomy of the three species, and it was possible to verify that the characteristics presented by them, such as opposite leaves, elliptic, pentamere flowers, unstratified epidermis, paracytic stomata, dorsiventral mesophyll and collateral vascular bundle, are not satisfactory to delimit the species and,

consequently, the genus. In the second chapter, the comparative study of the leaves of *E. kappleri* from three distinct environments seeks to understand possible adaptive characters. This study shows that despite the low plasticity, the species has the ability to adapt in different environments. The third chapter refers to the secondary compounds in *E. guianensis*, *E. inconspicua* and *E. kappleri*, which were found by histochemical tests on root, stem and leaf. In this study, it was concluded that compounds such as starch, phenolic compounds, total lipids, mucilages and oils found in the species are due to the adaptive capacity of the plant, since they are related to the protection capacity.

Keywords: Anatomy; Midwest region; Secondary metabolites; Plasticity; *Eumachia*.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil detém uma das diversidades biológicas, edáficas, climáticas e geomórficas mais ricas do planeta, estando estas concentradas em maior escala na região Amazônica (BRASIL, 2018). Essa região é constituída por uma imensa biodiversidade vegetal ainda pouco estudada, principalmente quando nos referimos às grandes famílias botânicas como Rubiaceae Juss. (DE SOUZA et al., 2015).

Rubiaceae possui distribuição cosmopolita, contemplando 614 gêneros e 13.235 espécies no mundo, porém, a maior diversidade de espécies se concentra nas regiões tropicais e subtropicais (MARTINS & NUNES, 2015; STEVENS, 2018). No Brasil, a família encontra-se representada por 126 gêneros e 1.404 espécies com ocorrência em todos os domínios fitogeográficos (FLORA DO BRASIL 2020, em construção). Na Amazônia mato-grossense a família é uma das mais importantes em termos de número de espécies, como encontrado por Rodrigues et al. (2015).

Devido a sua diversidade, Rubiaceae possui uma relevante importância ecológica, passando a ser referência para estudos comparativos e de acompanhamento do estado de conservação da vegetação tropical (JÚNIOR & VIEIRA, 2015). Suas espécies são dominantes no sub-bosque de florestas neotropicais, constituindo importante fonte de recursos para animais que atuam em sua polinização e/ou dispersão de sementes (BREMER & ERIKSSON, 1992). Além disso, a família apresenta elevada riqueza e variabilidade morfológica, contudo pode ser facilmente reconhecida por seus caracteres diagnósticos como folhas simples, opostas, com estípulas interpeciolares, corola gamopétala, androceu isostêmone e ovário ínfero (ROBBRECHT, 1988).

O estudo da morfologia de espécies nativas é de suma importância para o entendimento de sua autoecologia, assim como do seu comportamento e distribuição nos mais diferenciados ecossistemas (DA SILVA & DA COSTA, 2014). A classificação taxonômica de Rubiaceae é complexa e ainda existem algumas lacunas a serem preenchidas (MARTINS & NUNES, 2015). Por muitos sistemas, Rubiaceae é considerada um grupo natural e monofilético, entretanto, ainda existem muitos problemas quanto a delimitação a nível de gêneros, e tais problemas são ocasionados principalmente devido a

necessidade de amostras férteis para se ter certeza da identidade taxonômica das plantas coletadas em campo (MATTOS, 2011).

Entre os gêneros que apresentam problemas de circunscrição está *Eumachia* DC.; inserido na tribo Palicoureeae é considerado o menor entre os gêneros da família, com 17 espécies registradas no Brasil (FLORA DO BRASIL 2020, em construção). A circunscrição do gênero foi ampliada graças a estudos com dados moleculares e geográficos realizados por Andersson (2001); Taylor (2005); Barrabé et al. (2012) e Razafimandimbison et al. (2014), até o momento, é composto por 83 espécies com distribuição pantropical (TAYLOR, 2017).

A comparação anatômica das plantas tem sido muito útil, pois os caracteres anatômicos dos órgãos vegetativos são considerados dados adicionais às características morfológicas externas, podendo ser usados para resolver problemas taxonômicos como inconsistências na delimitação de gêneros (DOS SANTOS & NETO, 2017). Além das premissas de classificação, identificação e conservação de espécies, a morfoanatomia pode ter o objetivo de controle de plantas invasoras, como é o caso de estudos atrelados a testes histoquímicos (CONCEIÇÃO & AYOAMA, 2015).

Fatores ambientais como sazonalidade, radiação, temperatura, altitude e umidade podem modificar o metabolismo secundário vegetal, interferindo na produção de compostos (SOBRINHO et al., 2009). Uma das maneiras dos organismos vegetais lidarem com situações de estresse no ambiente é através de substâncias que possibilitem alguma maneira de superar desafios e, dentre essas, estão os metabólitos secundários (DOS SANTOS, 2015). Os metabólitos secundários não estão diretamente relacionados com o crescimento e desenvolvimento das plantas, mas assumem características funcionais e atuam como sinais químicos que as permitirão responder aos estímulos ambientais (CARRERÁ et al., 2016).

Quando as plantas estão naturalmente ajustadas às condições ambientais, todas as características estruturais e funcionais capazes de atenderem a tal ajustamento serão adaptativas (AOYAMA, 2006). Comparativos das estruturas foliares revelam que a maioria das espécies vegetais apresentam capacidade de desenvolver características

morfoanatômicas distintas em respostas à diferentes ambientes, pois as folhas são, para a maioria dos vegetais, o principal órgão de ocorrência da fotossíntese e apresentam alta plasticidade e capacidade adaptativa a diferentes ambientes (GUERRA et al., 2015).

Baseado no contexto apresentado, este estudo teve como principal objetivo estudar pela primeira vez, três espécies de Rubiaceae, ocorrentes na Amazônia mato-grossense. Para isso, dividimos o trabalho em três capítulos que objetivaram:

- Capítulo I – Descrever morfoanatomicamente *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri*, a fim de contribuir com a identificação das espécies auxiliando na circunscrição do gênero.
- Capítulo II – Identificar caracteres-chave de *Eumachia kappleri* que mostrem estratégias adaptativas em três áreas distintas.
- Capítulo III – Analisar histoquimicamente *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri*, para verificar a existência de compostos secundários e suas relações com adaptações ambientais, assim como a presença de compostos que auxiliem na delimitação das espécies.

Nossas hipóteses são de que as espécies possuem caracteres chave que evidenciem plasticidade fenotípica resultando em adaptações, assim como os compostos secundários. Além disso, que estes compostos estejam relacionados a fatores ambientais, conferindo-lhes grau adaptativo. Ainda presumimos que as espécies possuem padrões anatômicos assim como as demais espécies da família.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSSON, L. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) is a pantropical genus. **Systematics and Geography of Plants**, v. 71, n. 1 p. 73-85, 2001.

AOYAMA, E. M. & MAZZONI-VIVEIROS, S. C. Adaptações estruturais das plantas ao ambiente. **Instituto de Botânica (IBt). São Paulo, Brasil**, 2006.

BARRABÉ, L., BUERKI, S., MOULY, A., DAVIS, A.P., MUNZINGER, J. & MAGGIA L. Delimitation of the genus *Margaritopsis* (Rubiaceae) in the Asian, Australasian, and Pacific region, based on molecular phylogenetic inference and morphology. **Taxon**, v. 61, p. 1251-1268, 2012.

BRASIL. Biodiversidade Brasileira. Ministério do Meio Ambiente. Disponível e <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em 27 Set. 2018.

BREMER, B. & ERIKSSON, O. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.47, p.79-95, 1992.

CARRERÁ, J. C.; RODRIGUES, E. A.; PEREIRA, L. S.; BATISTA, A. C. G.; SILVA, M. F. & ILKIU-BORGES, F. Histoquímica do xilema secundário de *Genipa americana* L. (RUBIACEAE). In: **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. 2016.

CONCEIÇÃO, L. O. & AYOAMA, E. M. Morfoanatomia e histoquímica foliar de *Diodella teres* (Walter) Small (RUBIACEAE). **Enciclopédia Biosfera**, v.11 n. 22. p. 2268 - 2277, 2015.

DA SILVA, A. G. & DA COSTA, L. G. Germinação, Morfologia De Frutos, Sementes e Plântulas de Jacarandá-Da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex. Benth.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18; p. 1871-1879, 2014.

DE SOUZA, E. S.; NOVAES, J. A.; DE CARVALHO CURSINO, L. M.; DE OLIVEIRA, A. C.; DE OLIVEIRA, J. A. A.; NUNEZ, C. V.; MESQUITA, D.W.O.; MESQUITA, A.S.S. & DE SOUZA PINHEIRO, C. C. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v.17, n. 4, p. 604-613, 2015.

DOS SANTOS, D. Y. A. C. **Botânica Aplicada: metabólitos secundários na interação planta-ambiente**. 2015. 124 f. Tese (Doutorado em Biociências). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

DOS SANTOS, V. C. & NETO, M. J. A CONTRIBUIÇÃO DA ANATOMIA CAULINAR E FOLIAR PARA A TAXONOMIA DE *Melochia spicata* (L.) Fryxell, (Malvaceae). **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 5, n. 2, p. 57-69, 2017.

GUERRA, A., GONÇALVES, L. G., DA SILVA SANTOS, L., & MEDRI, C. Morfoanatomia de folhas de sol e de sombra de *Handroanthus chrysotrichus* (MART. EX DC.) Mattos (BIGNONIACEAE). **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 1, p. 59-71, 2015.

JÚNIOR, M. F., & VIEIRA, A. O. S. Espécies arbóreo-arbustivas da família Rubiaceae Juss. na bacia do rio Tibagi, PR, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, n. 2, p. 289-336, 2015.

MARTINS, D., & NUNEZ, C. V. Secondary metabolites from Rubiaceae species. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13422-13495, 2015.

MATTOS, K. L. B. L. **Anatomia foliar aplicada à taxonomia em Rubiaceae Juss.** 2011. 102 f. Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

RAZAFIMANDIMBISON, S. G., TAYLOR, C. M., WIKSTRÖM, N., PAILLER, T., KHODABANDEH, A., & BREMER, B. Phylogeny and generic limits in the sister tribes Psychotrieae and Palicoureae (Rubiaceae): Evolution of schizocarps in *Psychotria* and origins of bacterial leaf nodules of the Malagasy species. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 7, p. 1102-1126, 2014.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v. 1, n. 272, p. 599-602, 1988.

RODRIGUES, D. J.; NORONHA, J. C.; VINDICA, V.F. & BARBOSA, F.R. **Biodiversidade – Parque Estadual do Cristalino**. 284 p. Sinop, MT. Áttema Editorial. 2015.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB210>>. Acesso em: 27 Set. 2018.

SOBRINHO, T. J. S.; CARDOSO, K. C. M.; GOMES, T. L. B.; ALBUQUERQUE, U. P. & AMORIM, E. L. Análise da pluviosidade e do efeito de borda sobre os teores de flavonóides em *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud, Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 3, p.740-745, 2009.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 17 Nov. 2018.

TAYLOR, C. M. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) in the neotropics. **Systematics and Geography of Plants**, p. 161-177, 2005.

TAYLOR, C. M., RAZAFIMANDIMBISON, S. G., BARRABÉ, L., JARDIM, J. G., & BARBOSA, M. R. V. *Eumachia* expanded, a pantropical genus distinct from *Psychotria* (Rubiaceae, Palicoureae). **Candollea**, v. 72, n. 2, p. 289-318, 2017.

3. CAPÍTULOS

3.1. MORFOANATOMIA COMPARADA DE TRÊS ESPÉCIES DE *Eumachia* DC. OCORRENTES NA AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE

RESUMO

Com distribuição cosmopolita, Rubiaceae é representada mundialmente por 614 gêneros e 13.235 espécies. Dentre os diversos gêneros da família, *Eumachia* DC., até muito recentemente, tinha seus integrantes incluídos no gênero pantropical *Psychotria* L. Devido a algumas modificações na circunscrição do gênero, *Eumachia* atualmente inclui 83 espécies e é caracterizado dentro da tribo Palicoureeae. Sabendo que o conhecimento da morfologia de espécies é de grande importância para a compreensão de sua autoecologia, assim como o estudo anatômico serve como fonte de dados para a identificação e classificação das plantas, o objetivo deste trabalho foi descrever morfoanatomicamente três espécies do gênero *Eumachia*, procurando contribuir com a delimitação das espécies auxiliando na circunscrição do gênero. Assim, foram realizadas coletas de três indivíduos de cada espécie, em três áreas distintas. Para o estudo morfológico utilizou-se material herborizado, avaliando folhas, estípulas, inflorescências, flores e frutos. Para as análises anatômicas serviu a região mediana da raiz, do caule e da folha, em seções transversais obtidas à mão livre, com o auxílio de lâmina de aço. Para análise da epiderme foliar usou-se seções paradérmicas da superfície adaxial e abaxial, através da dissociação e, em seguida, realizadas técnicas usuais em anatomia para montagem das lâminas histológicas. As lâminas contendo as seções transversais, como as com porções paradérmicas foram analisadas em microscópio fotônico trinocular acoplado a um computador. Constatou-se que as três espécies possuem características comuns à família Rubiaceae, como folhas simples, opostas, hipoestomática, estômatos do tipo paracíticos e feixe vascular em formato de arco. Através deste estudo verificou-se que os caracteres morfoanatômicos encontrados para as três espécies são comumente descritos para as demais espécies e gêneros de Rubiaceae, portanto, podemos inferir que estes não são satisfatórios para delimitação do gênero.

Palavras-chave: Anatomia; circunscrição; *Eumachia*; Rubiaceae; taxonomia.

ABSTRACT

With cosmopolitan distribution, Rubiaceae is represented worldwide by six hundred and fourteen genera and thirteen thousand two hundred and thirty-five species. Among the various genera of the family, *Eumachia* DC. had its members included in the pantropical genus *Psychotria* L., until recently. Due to some modifications in the circumscription of the genus, currently, *Eumachia* includes eighty-three species and it is characterized within the Palicoureeae tribe. Knowing that the knowledge of the morphology of species has great importance for the understanding of its autoecology, in the same way the anatomical study serves as data source for the identification and classification of plants, this work aimed to describe morpho-anatomically three species of the genus *Eumachia*, seeking to contribute to the delimitation of the species and assisting in the circumscription of the genus. Thus, three individuals of each species were collected in three different areas. For the morphological study, herbal material was used, evaluating leaves, stipules, inflorescences, flowers and fruits. The median region of the root, stem and leaf were used for the anatomical analysis, and they were cut in transverse sections, obtained freehand, with the aid of a steel blade. For the analysis of the leaf epidermis, paradermic sections of the adaxial and abaxial surface were used, through dissociation, and then, usual techniques in anatomy were performed for the assembly of the histological slides. The slides containing the transverse sections, such as those with the paradermic portions, were analyzed in a trinocular photonic microscope coupled to a computer. It was verified that the three species have characteristics common to the Rubiaceae family, such as simple, opposing, hypostomatic leaves, paracitic stomata and vascular bundles in arch format. By means of this study, it was verified that the morpho-anatomic characters found for the three species are commonly described for the other species and genera of Rubiaceae, therefore, we can infer that these characters are not satisfactory for the delimitation of the genus.

Keywords: Anatomy; Circumscription; *Eumachia*; Rubiaceae; Taxonomy.

INTRODUÇÃO

Com distribuição cosmopolita, Rubiaceae é representada mundialmente por 614 gêneros e 13.235 espécies, no entanto, sua diversidade está concentrada nas regiões tropicais e subtropicais (STEVENS, 2018). Na flora brasileira, Rubiaceae é representada por 126 gêneros e 1.404 espécies ocorrentes em todos os domínios fitogeográficos do país, (FLORA DO BRASIL 2020, em construção) tornando-a uma das mais importantes famílias botânicas do país. No estado de Mato Grosso, a família possui 73 gêneros e 292 espécies (FLORA DO BRASIL 2020 em construção).

Dentre os diversos gêneros da família, *Eumachia* DC., até recentemente estava incluído no gênero pantropical *Psychotria* L. (tribo Psychotrieae), um gênero megadiverso e, por sua caracterização ter sido excepcionalmente ampla, sua composição era muito heterogênea. Assim, uma reavaliação recente, com dados moleculares em *Psychotria*, revelou inconsistências em alguns de seus personagens, sendo estes, transferidos para outro gênero.

O clado ao qual *Eumachia* pertence é pantropical, sendo o gênero *Margaritopsis* C. Wright estudado por vários autores (ANDERSSON, 2001; TAYLOR, 2005; BARRABÉ et al., 2012; RAZAFIMANDIMBISON et al., 2014). Esses autores expandiram *Margaritopsis* e esclareceram sua separação de *Psychotria*; Barrabé et al. (2012) e Razafimandimbison et al. (2014) também mostraram que esse grupo é corretamente chamado *Eumachia*.

Portanto, atualmente *Eumachia* inclui 83 espécies e é caracterizado dentro de Palicoureeae (TAYLOR et al., 2017). No Brasil, encontra-se representado por 17 espécies que ocorrem em áreas de vegetação sazonal a úmida, em baixa a média elevação, na maioria regiões tropicais (FLORA DO BRASIL 2020, em construção).

Eumachia é comumente representado por arbustos, pequenas árvores, ervas e raramente por epífitas; tem ocorrência confirmada nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL 2020, em construção) e se assemelha morfológicamente ao gênero neotropical *Rudgea* (TAYLOR, 2005), que é caracterizado por De Paiva & Lopes (2013) com folhas pecioladas, estípulas inteiras, arredondadas, dorsalmente apendiculadas, frutos globosos, subglobosos ou esféricos.

O conhecimento da morfologia de espécies nativas é de grande importância para a compreensão de sua autoecologia, assim como seu comportamento e distribuição nos diferentes ecossistemas (DA SILVA & DA COSTA, 2014). Outro fator relevante para o entendimento das espécies é a utilização do estudo anatômico como fonte de dados para a identificação e a classificação das plantas. Estudos anatômicos e micromorfológicos indicam importantes características capazes de separar táxons, bem como características estruturais relacionadas ao ambiente em que vivem (METCALFE & CHALK, 1950).

Corroborando o exposto, Baldin et al. (2016) sugerem que para uma classificação mais definitiva e melhor entendimento das circunscrições dos subgrupos, torna-se necessária a análise de um número maior de gêneros.

Levando em consideração a mudança na circunscrição do gênero *Eumachia* e a importante diversidade da família Rubiaceae, o objetivo deste trabalho foi descrever morfoanatomicamente *Eumachia guianensis* (Bremek.) Delprete & J.H. Kirkbr, *E. inconspicua* (C.M.Taylor) C.M.Taylor & Razafim e *E. kappleri* (Miq.) Delprete & J.H. Kirkbr, procurando contribuir com a identificação das espécies auxiliando na circunscrição do gênero.

MATERIAL E MÉTODOS

Locais de Coleta

Os indivíduos de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* foram coletados entre maio de 2017 e junho de 2018, em três áreas de vegetação nativa no norte do estado de Mato Grosso, Brasil (Figura 1). A região amostrada possui uma sazonalidade bem definida com uma estação chuvosa (novembro a abril) e outra de estiagem (maio a setembro), com precipitação média anual de 2.232 mm e temperatura média anual de 26-27°C (DUBREUIL et al., 2012).

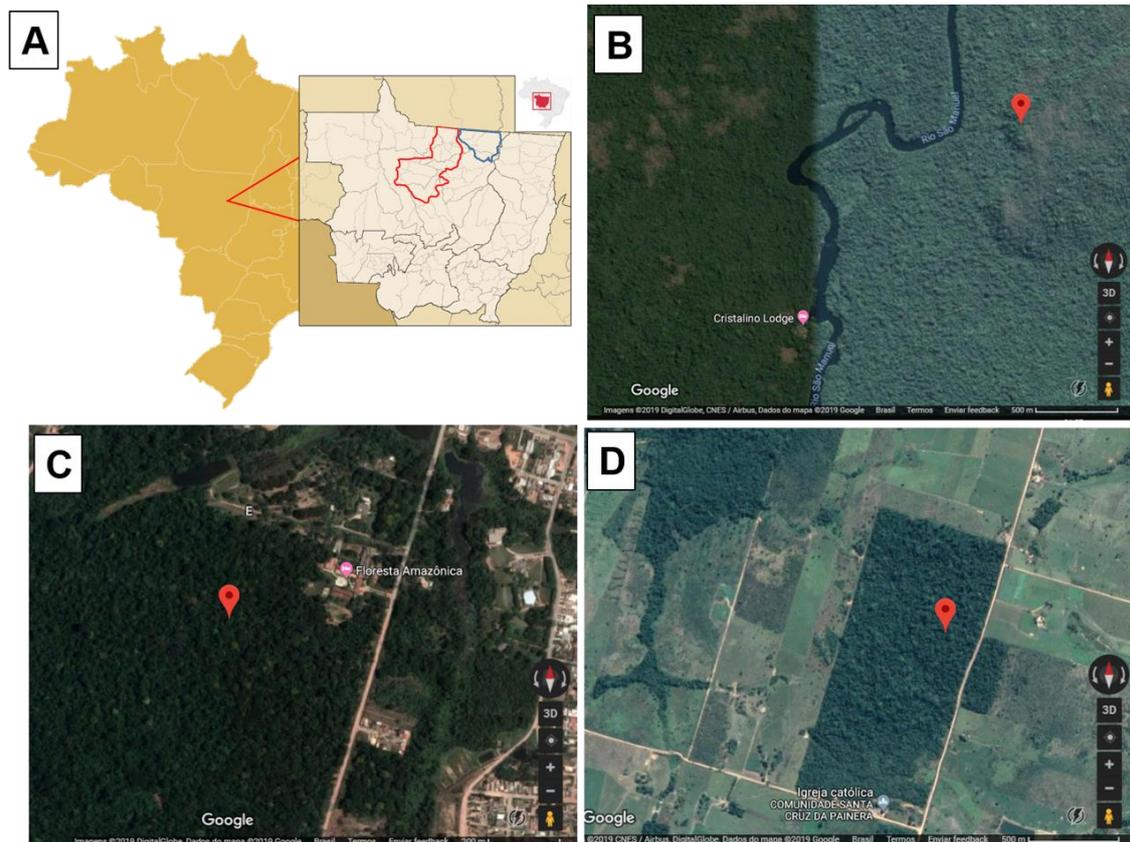


Figura 1: Áreas de coleta. A- Estado de Mato Grosso; município de Alta Floresta em vermelho, município de Novo Mundo em azul; B- Reserva Particular do Patrimônio Natural Mirante da Serra; C- Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort e D- Sítio Ecológico da Paineira.

A primeira área de coleta, denominada Mirante da Serra, é uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) e possui 1.616,7 hectares de vegetação com pouca/nenhuma perturbação antrópica (FUNDAÇÃO ECOLÓGICA CRISTALINO, 2018). A RPPN está localizada no município de Novo Mundo (09°35'11"S, 55°55'10"W) e em conjunto com outras três unidades de preservação, abrange uma área de aproximadamente 6.500 hectares (RPPN's Cristalino), caracterizadas por árvores de grande porte com um dossel contínuo de 20-30 m de altura e sub-bosque denso (SASAKI et al. 2010). A segunda área de coleta possui 50 hectares de Floresta Ombrófila Densa (EMBRAPA, 2018) no perímetro urbano do município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. Este fragmento florestal, denominado Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (09°52'32"S, 56°06'05"W), possui fácil acesso e, devido a sua localização, está sujeito a ações antrópicas. A terceira área de coleta denominada Sítio Ecológico da Paineira com 87,42 hectares

(9°47'56.4"S, 55°55'26.3"W), é um fragmento florestal localizado na zona rural do município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. A área possui trilhas de fácil acesso e é utilizada pelo ecoturismo da região.

Coleta de Dados

Selecionados três indivíduos de cada espécie, todos com raiz, caule (jovens) e folha (totalmente expandidas), uma parte foi incorporada ao acervo do Herbário Meridional da Amazônia Meridional (HERBAM) sob os *vouchers* HERBAM 20429 (*E. guianensis*), HERBAM 23216 (*E. inconspicua*) e HERBAM 20592 (*E. kappleri*). O restante do material foi fixado em FAA₅₀ e, posteriormente, preservado em etanol 70% (JOHANSEN, 1940).

Para a análise morfológica foi utilizado o material herborizado, com avaliação das folhas, estípulas, inflorescências, flores e frutos de cada espécie, tendo como base a terminologia proposta por RADFORD et al. (1974) a partir das análises. As ilustrações botânicas foram confeccionadas pelo especialista Reinaldo Antônio Pinto, colaborador do Herbário da Universidade Federal de Viçosa (Herbário VIC).

Para as análises anatômicas, foram utilizadas secções transversais, obtidas com corte à mão livre e com o auxílio de lâmina de aço, da região mediana da raiz, do caule e da folha. As secções foram clarificadas em hipoclorito sódico a 2%, com posterior lavagem tripla em água destilada e em seguida, coradas com azul de Astra e fucsina básica (ROESER, 1962). Após esse processo, foram confeccionadas lâminas histológicas permanentes (KAISER, 1880).

A análise da epiderme foliar foi realizada através de secções paradérmicas da superfície adaxial e abaxial e dissociadas pelo método de Jeffrey (KRAUS & ARDUIM, 1997) modificado, onde, armazenou-se porções foliares nas dimensões de 1 cm² em microtubos com peróxido de hidrogênio (volume 30) e ácido acético glacial na proporção de 1:1, acondicionados em estufa a 65° C por 24 horas. Após esse período as amostras passaram por lavagem em água destilada e posteriormente separadas as superfícies epidérmicas, com auxílio de um pincel. Ambas as faces da epiderme, coradas com fucsina básica (ROESER, 1962) proporcionaram a montagem das lâminas histológicas.

As lâminas contendo as secções transversais, como as com porções paradérmicas foram analisadas em microscópio fotônico trinocular Leica ® ICC50 acoplado a um computador, obtendo-se fotomicrografias com auxílio do software LAZ EZ 1.7.0.

RESULTADOS

Caracterização Morfológica das espécies

Eumachia guianensis (Bremek.) Delprete & J.H. Kirkbr (Figs. 2A-D).

Subarbusto, 60 cm altura; ramos jovens glabrescentes, internós achatados com uma elevação longitudinal fina em cada lado do ramo; ramos velhos cilíndricos, cobertos por uma camada fina de casca. Estípulas unidas em torno do caule, puberulentas a glabrescentes, quando persistentes nos ramos velhos, endurecidas e esfareladas, truncadas, 0,8-1,3 mm compr., 1 lóbulo em cada lado, triangular, 0,1-0,5 mm compr. Folhas opostas, dísticas, elípticas, 9,7-15,6 x 3,2-6,5 cm, ápice acuminado, às vezes acuminado-falcado, base cuneada a aguda, glabras; nervuras secundárias do tipo craspedódroma com 6-11 pares, domáceas ausentes, pecíolo 4-7 mm de compr. Inflorescência terminal, capituliforme 1-2 por axila, esbranquiçada; pedúnculo 2,2-3,3 cm compr., puberulento; brácteas 0,4-0,6 mm compr., triangulares a lanceoladas; Flores sésseis, pentâmeras, hipanto turbinado, 5-8 mm compr., puberulento; cálice 2-3 mm compr., puberulento, ápice dos lóbulos obtuso a arredondado; tubo da corola 1-1,2 mm compr., lóbulos 2 mm compr., ápice cuspidado; estames exsertos, filetes 0,8-0,9 mm compr., anteras 0,7-0,8 mm compr., estreitamente oblongas; estigma 0,2 mm., bífido; nectário 0,8-1,0 mm compr. Frutos drupáceos, 0,9 x 0,9 cm, amplamente ovados, vermelhos quando maduros, glabros, pirênios 2, plano-convexos, dorsalmente com 4-5 sulcos, ventralmente liso.

Material examinado: BRASIL. MATO GROSSO: Alta Floresta, Reserva Particular do Patrimônio Nacional Cristalino, 28/11/2018. ROCHA, V.A.P. (HERBAM 20429).

Eumachia inconspicua (C.M.Taylor) C.M.Taylor & Razafim (Figs. 2E-H).

Arbusto, ca. 70 cm altura; ramos jovens glabrescentes, internós achatados com uma elevação longitudinal fina em cada lado do ramo; ramos velhos cilíndricos, cobertos por uma camada fina de casca. Estípulas inconspícuas, unidas ao redor do caule, glabrescentes, quando persistentes nos ramos velhos, endurecidas e esfareladas, truncadas, 2 mm de compr., 1 lóbulo em cada lado, levemente triangular, menores que 1 mm compr. Folhas opostas, elípticas a lanceoladas, 5,7-11,5 x 1,6-4,5 cm, ápice acuminado às vezes acuminado-falcado, base cuneada a aguda, glabras; nervuras secundárias do tipo craspedódroma, 7-14 pares, domáceas ausentes; pecíolo 1-8 mm de compr., marginado. Inflorescência terminal, capituliforme, 1-2 por axila, esverdeada; pedúnculo 0,7-1,0 cm compr., glabro; brácteas não vistas; flores sésses, pentâmeras, hipanto turbinado, 0,5-1 mm compr., esparsamente puberulento; cálice 0,5-0,8 mm compr., glabro, ápice dos lóbulos obtuso; tubo da corola 1,8-2,1 mm compr., tricomas com 1 mm compr. no ápice, lóbulos 1,8-2 mm compr., ápice agudo; estames exsertos, filetes 0,2-0,3 mm compr., anteras 0,6 mm compr., estreitamente oblongas; estigma 0,2 mm compr., bifido; nectário 0,8-1,1 mm compr. Frutos drupáceos, 4,5-5 mm diam., globosos, glabros, verdes quando imaturos, glabros, pirênios 2, plano-convexos, dorsalmente com 4-5 sulcos, ventralmente liso.

Material examinado: BRASIL. MATO GROSSO. Alta Floresta, Sítio Ecológico da Paineira, zona rural, 26/10/2018, ROCHA, V.A.P. (HERBAM 23216).

Eumachia kappleri (Miq.) Delprete & J.H. Kirkbr (Figs. 2I-M).

Arbusto, 50-70 cm altura; ramos jovens glabrescentes, internós levemente achatados; ramos velhos cilíndricos, glabrescentes. Estípulas inconspícuas unidas em torno do caule, puberulentas a glabrescentes, quando persistentes nos ramos velhos, caindo em fragmentos truncados, 2,5-2,8 mm compr., com 1 lóbulo em cada lado, triangular, 0,8- 1,6 mm de compr. Folhas opostas, dísticas, elípticas, 5,6-12,2 x 2-5,2 cm, ápice acuminado às vezes acuminado-falcado, base cuneada a aguda, glabras; nervuras secundárias do

tipo craspedódroma, 10-12 pares, domáceas ausentes; pecíolo 3-9 mm de compr., marginado. Inflorescência terminal, capituliforme, 1 por axila, esbranquiçada; pedúnculo 1,8-3 mm compr., glabro; brácteas não vistas; flores sésseis, pentâmeras, hipanto, 0,4 mm compr., glabro; cálice 1,5 mm compr., glabro com lóbulos vilosos, ápice dos lóbulos obtuso; tubo da corola 3 mm compr., tricomas com 0,4 mm compr. no ápice, lóbulos 1,1 mm compr., ápice agudo; estames exsertos, filetes 0,2 mm compr., antera 0,8 mm compr., estreitamente elíptica; estigma, 0,8 mm, bífido; nectário 1 mm compr. Frutos drupáceos, 0,6-0,7 x 0,4 cm, ovados, verdes quando imaturos, sulcados, glabros; pirênios 2, plano-convexos, dorsalmente com 4-5 sulcos, ventralmente liso.

Material examinado: BRASIL. MATO GROSSO. Alta Floresta, Reserva Particular do Patrimônio Nacional Cristalino e Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort, 28/11/2018, *ROCHA, V.A.P.* (HERBAM 20592).

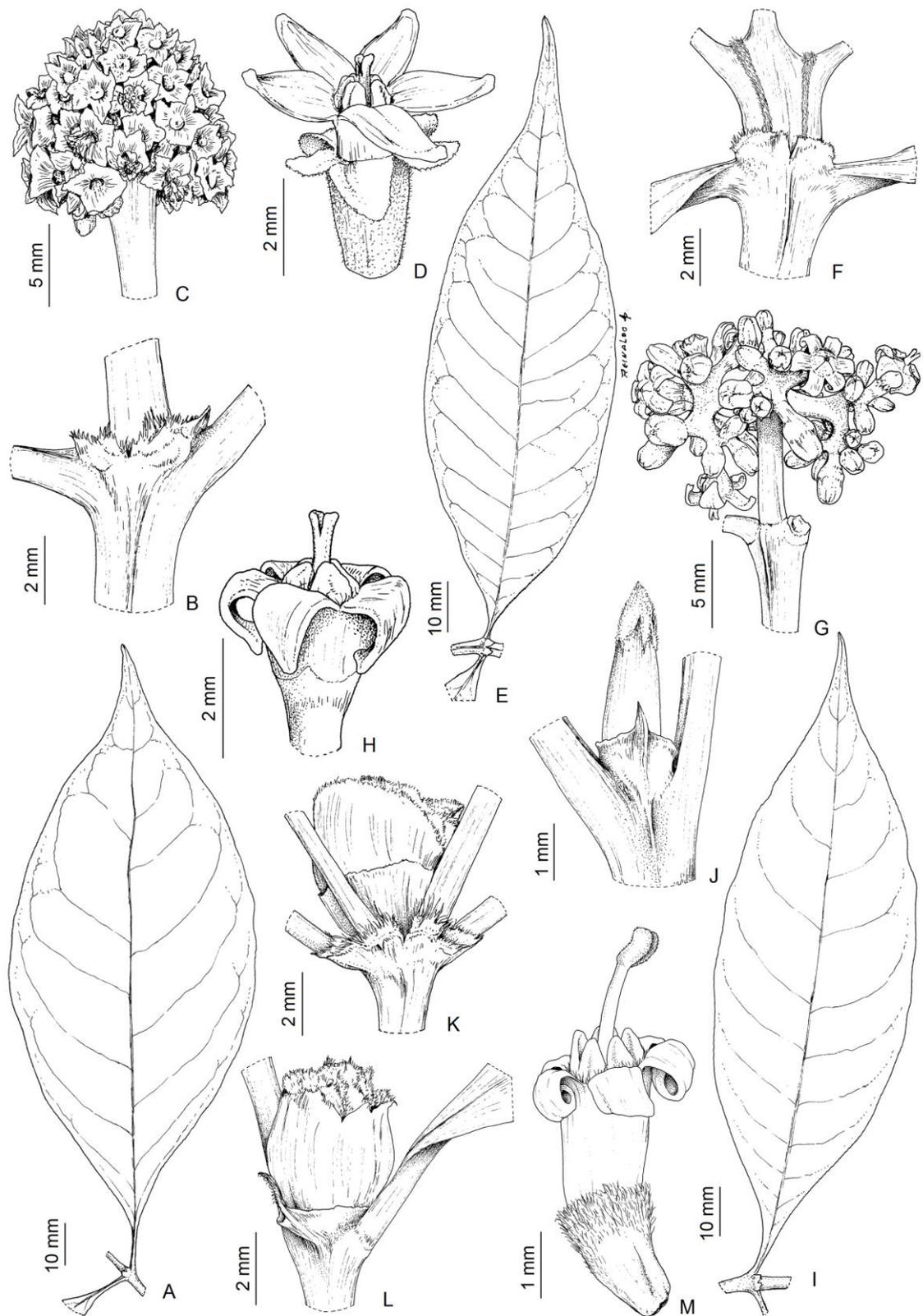


Figura 2. *Eumachia guianensis*: A- folha, B- estípulas, C- inflorescência, D- flor. *E. inconspicua*: E- folha, F- estípula, G- inflorescência, H- flor. *E. kappleri*: I- folha, J- estípula endurecida, K-estípula jovem, L- inflorescência, M- flor. Ilustração: Reinaldo A. Pinto.

Anatomia

As três espécies descritas possuem crescimento radicular secundário. Em secções transversais da raiz apresentou de quatro a sete camadas de felogênio. O sistema vascular de *Eumachia guianensis* e *E. kappleri* possui várias camadas de fibras (Figs. 3A, 3B, 3E, 3F), enquanto para *E. inconspicua*, nessa região nota-se, além de fibras, metaxilema e protoxilema (Figs. 3C, 3D).

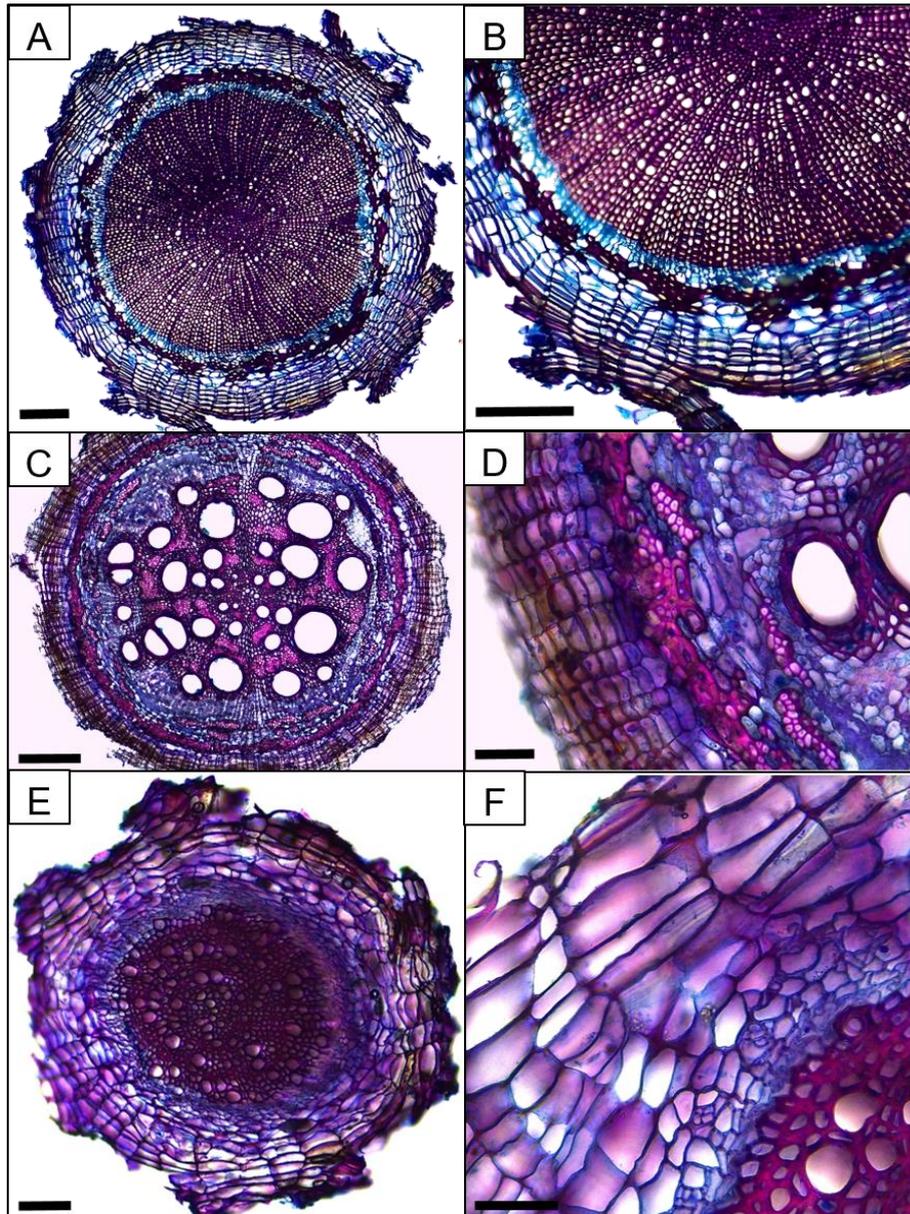


Figura 3: Secção transversal da raiz de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (A, C e E, respectivamente). Detalhes da raiz de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (B, D e F, respectivamente). Barras: A- 600 μm ; B- 300 μm ; C- 200 μm ; D- 50 μm ; E- 100 μm ; F- 50 μm .

Em secções transversais, o caule das espécies possui formato ovalado, com epiderme uniestratificada (Fig. 4A-F); com duas projeções laterais, uma de cada lado (Figs. 4A-D); exceto em *Eumachia kappleri* que é inteiramente ovalado (Figs. 4E, 4F). Notamos ainda que *E. guianensis* apresenta o caule circundado por tricomas tectores (Figs. 4A, 4B).

O caule de *Eumachia guianensis* e *E. kappleri* apresenta estrutura primária onde distinguem-se a região cortical, os feixes vasculares e a medula parenquimática (Figs. 4A, 4B, 4E, 4F). Já *E. inconspicua* apresenta início de crescimento secundário onde, subjacente às células epidérmicas (que ainda não foram eliminadas), ocorre cerca de seis camadas de parênquima, seguidas de duas camadas de felogênio e sete camadas de parênquima cortical (Figs. 4C, 4D). Outra característica notável em *E. inconspicua* que não compartilha com as demais espécies, é a presença de uma faixa fibrosa que circunda todo o cilindro vascular (Figs. 4C, 4D). O cilindro vascular para as três espécies possui formato circular, com feixe vascular colateral e com medula parenquimática (Figs. 4A, 4F).

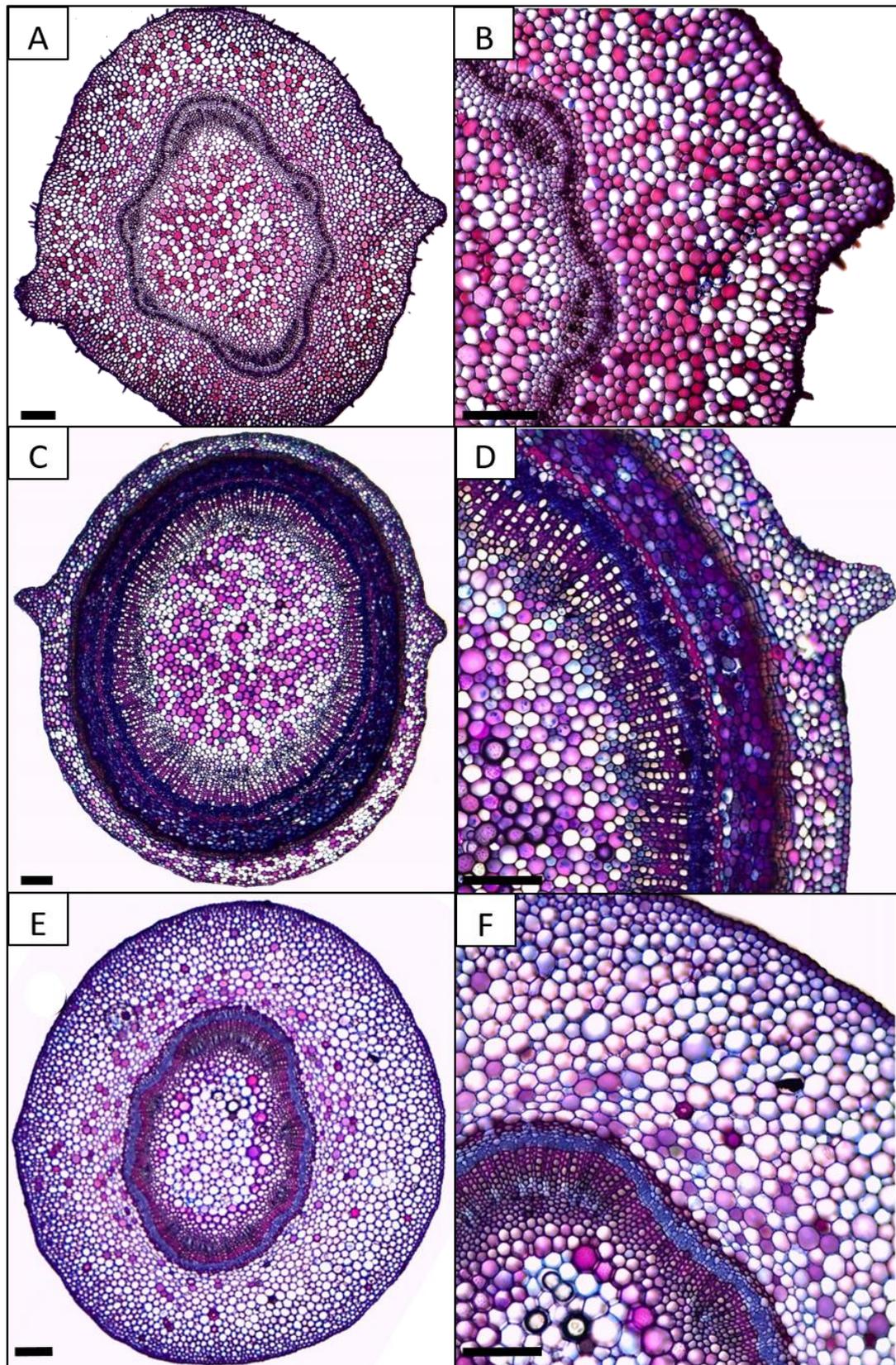


Figura 7: Secções transversais do caule de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (A, C e E, respectivamente). Detalhes do caule de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri* (B, D e F, respectivamente). Barras: 200 μm.

As folhas de *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri*, em vista frontal, apresentam células epidérmicas de paredes retas (Figs. 5A, 5C e 5E). As espécies são hipoestomáticas, sendo os estômatos do tipo paracíticos com células-guarda de formato reniforme (Figs. 5B, 5D e 5F, respectivamente).

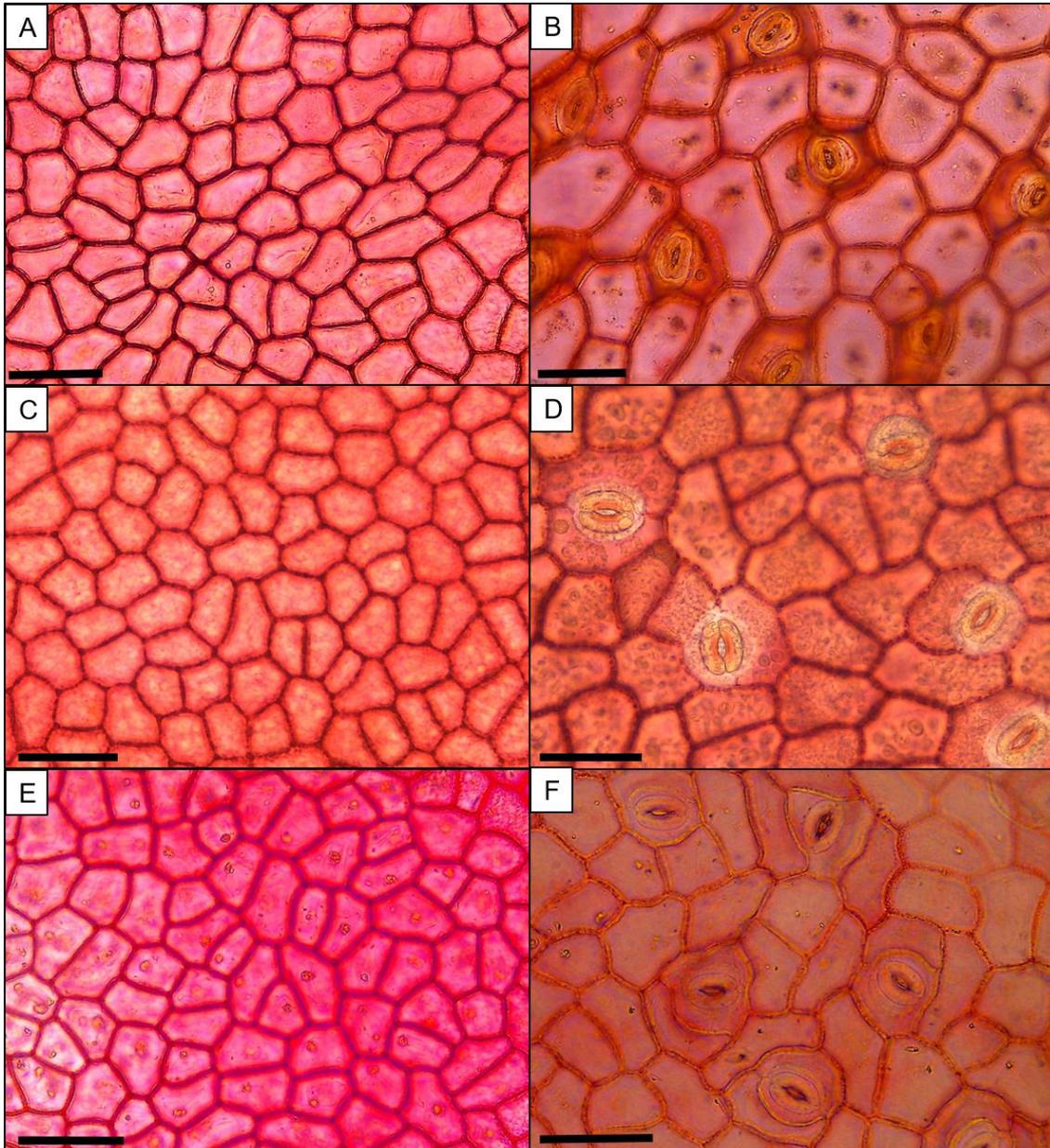


Figura 5: Células epidérmicas adaxiais e abaxiais, respectivamente em *Eumachia guianensis* (A, B); *E. inconspicua* (C, D) e *E. kappleri* (E, F). Barras 50 μm .

As três espécies apresentam epiderme uniestratificada com cutícula delgada e, quando vistas transversalmente, as células epidérmicas da face adaxial são retangulares ou cúbicas, enquanto as da face abaxial apresentam

formas variadas com ângulos menos definidos, até forma ovalada (Figs. 6G, 6H e 6I)

Das três espécies estudadas, apenas em *Eumachia guianensis* foi notada presença de tricomas no pecíolo e nervura central, do tipo tector (Figs. 6A, 6D).

Na região da nervura central, o parênquima de preenchimento ocupa um espaço formado por dez camadas seguidas por um feixe de fibras contornando todo o feixe vascular, que é colateral em formato côncavo-convexo com face abaxial proeminente. Encontrou-se também, feixes acessórios anexos a face adaxial do feixe vascular das três espécies (Figs. 6D-F).

Todas as espécies apresentam mesofilo com disposição dorsiventral, com 1-6 camadas de parênquima paliçádico e em média cinco camadas de parênquima lacunoso, ocupando cerca de $\frac{3}{4}$ do mesofilo com espaços intercelulares.

O pecíolo de *Eumachia guianensis* e *E. inconspicua* possui contorno plano-convexo, enquanto *E. kappleri* possui contorno circular; no entanto, as três espécies possuem projeções nas laterais adaxiais (Figs. 6A, 6C). Nas camadas subepidérmicas do pecíolo, existem normalmente oito camadas de colênquima, sendo angular para *E. guianensis* e *E. inconspicua* (Figs. 6A, 6B) e anelar para *E. kappleri* (Fig. 6C). As três espécies apresentam cerca de dez camadas de parênquima de preenchimento seguidas por feixe vascular do tipo arco aberto (Figs. 6A, 6C) sendo que, *E. guianensis* e *E. inconspicua* possuem cerca de dois feixes acessórios em cada extremidade do feixe principal.

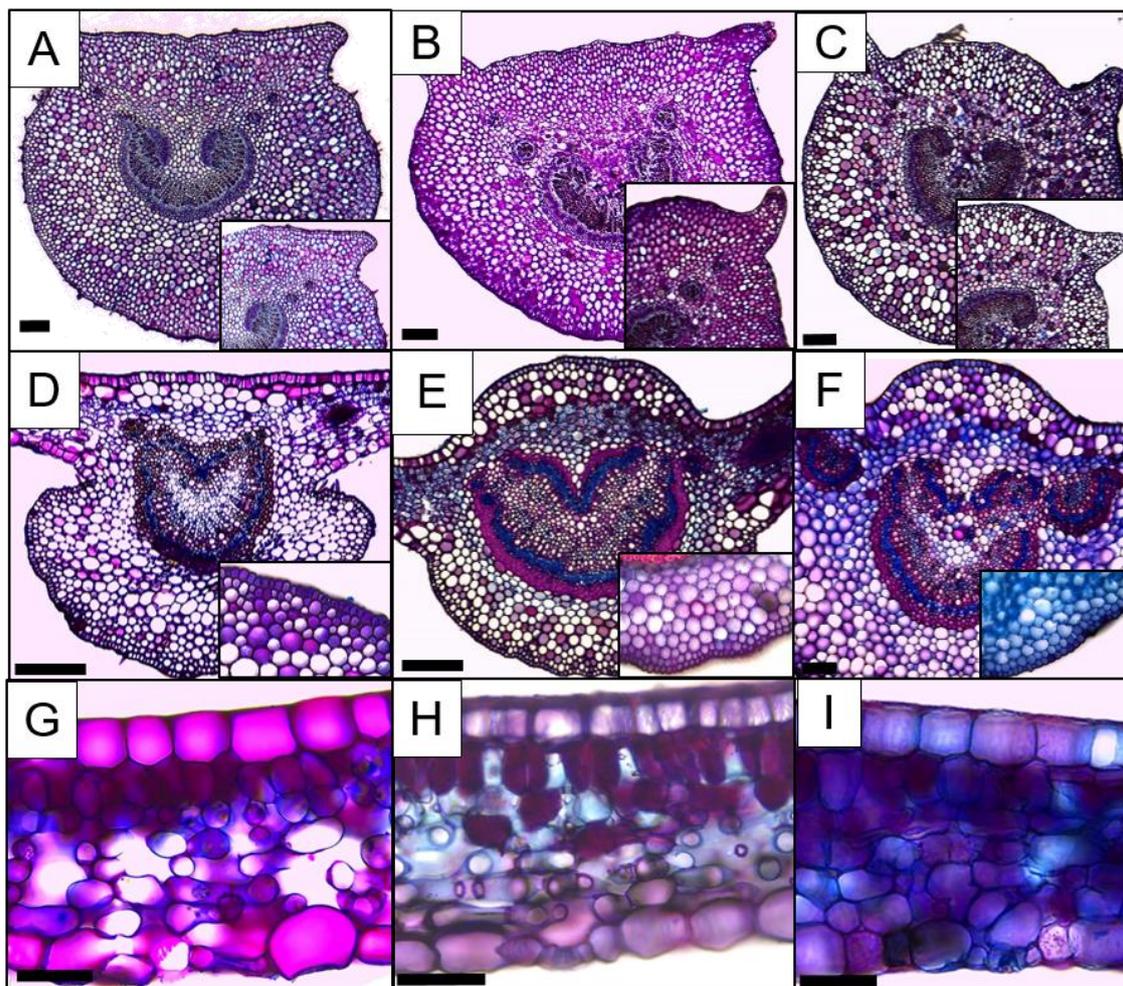


Figura 8: Pecíolo, nervura central e mesofilo das espécies *Eumachia guianensis* (A, D e G, respectivamente); *E. inconspicua* (B, E e H, respectivamente); *E. kappleri* (C, F e I, respectivamente). Barras: A; B; C; D; E; F: 200 μm ; G; H; I: 50 μm .

DISCUSSÃO

As características morfoanatômicas observadas em *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri*, tais como: folhas simples, opostas, hipoestomáticas, com epiderme uniestratificada, estômatos paracíticos, células-guarda reniformes, organização do sistema vascular da nervura principal em arco e presença de feixes acessórios, mostram que a organização reflete as características de Rubiaceae citadas por Metcalfe & Chalk (1979); Robbrecht (1988) e Zini et al. (2016).

Rubiaceae é uma das famílias mais complexas do ponto de vista taxonômico, fato comprovado pelas inúmeras alterações ocorrentes ao longo dos anos na sua organização interna (BALDIN et al., 2016). Apesar das

numerosas pesquisas correlatas à família a interpretação e delimitação das diferentes espécies ainda está longe de consenso, pois a falta de caracteres morfológicos e anatômicos limita a definição de grupos (Moraes et al., 2011); o método anatômico mostra-se especialmente relevante no caso de indivíduos desprovidos de órgãos reprodutivos (BALDIN et al., 2016)

Subscrevendo Andersson (2001), *Eumachia* não possui uma morfologia de fácil diagnóstico. Somado a isso, as características descritas por Taylor et al., (2017) não são suficientes ou não satisfazem uma classificação clara do gênero, uma vez que hábito lenhoso, como um arbusto ou às vezes pequena árvore, inflorescências terminais, flores pentâmeras que são geralmente distílicas, são características gerais para a família e tribo Palicoureeae. Diferente do proposto por MENDOZA et al., (2004), onde a principal distinção do gênero *Palicourea* é a presença de um anel de tricomas no interior do tubo da corola (pode ser pubescente na base ou em direção ao ápice, mas não apresenta um anel definido), essa característica também foi encontrada em *E. inconspicua* e *E. kappleri* neste estudo.

De todas as características estudadas nas três espécies, se diferem morfológicamente somente *E. kappleri* e *E. inconspicua*, pois possuem um anel de tricomas no tubo da corola, característica também encontrada para outras espécies da família como: *Isertia rosea* autor, *Warszewiczia schwackei* autor, *Pagamea macrophylla* autor, assim como para os gêneros *Palicourea* Aubl., *Psychotria* L. (TAYLOR et al., 2007) e *Mitracarpus* autor (SOUZA et al., 2010).

Com referência ao caule e raiz, há poucos estudos na literatura que relatam caracteres anatômicos de espécies de Rubiaceae, no entanto, as espécies em questão assemelham-se ao que é descrito para caule de *Genipa americana* L., como, felogênio localizado nas camadas subepidérmicas, colênquima anelar e um cilindro floemático externo ao de xilema (ERBANO & DUARTE, 2010) e raiz de *Psychotria ipecacuanha* que apresenta córtex bem desenvolvido e fibras (ASSIS & GIULIETTI, 1999), tais características são descritas por Metcalfe & Chalk (1950), como sendo comumente compartilhadas por várias espécies da família.

As paredes das células epidérmicas podem ser retas ou sinuosas (METCALFE & CHALK, 1950). No caso desse estudo, as espécies apresentaram paredes retas e delgadas. A espessura das células epidérmicas pode variar em relação à intensidade da luz, uma vez que folhas de sol apresentam maior espessura de parede em comparação às folhas de sombra (SIMIONI et al., 2016). Mesofilo com configuração dorsiventral é descrito para diversas espécies da família e é tipicamente encontrado em espécies mesófitas; por vários autores (e.g., METCALFE & CHALK, 1950; QUINTEIRO et al., 2006; ALEXANDRINO et al., 2011; GAVILANES et al., 2016; CAMPBELL et al., 2018).

O pecíolo das espécies estudadas apresentou variações no contorno, de plano-convexo a circular; a diversidade de contorno do pecíolo é uma variável importante para a segregação de espécies (MORAES, 2017). Além do contorno do pecíolo, o seu sistema vascular é uma característica distinta bastante utilizada na taxonomia.

A forma do feixe principal observada no pecíolo das três espécies é comum em outras rubiáceas. *Coussarea graciliflora* Benth. & Hook (TAVARES & VIEIRA, 1994), *Rudgea macrophylla* Benth. (MANTOVANI et al., 1995) igualmente, possuem feixe central em forma de arco com extremidades fortemente encurvadas. Já o padrão de vascularização do tipo arco aberto correspondente para as três espécies, se manteve para a família (METCALFE & CHALK, 1950), da mesma maneira que a presença de um feixe central e dois feixes acessórios, pois Rubiaceae, comumente é composta por um feixe vascular central, acompanhado lateralmente por feixes acessórios (MARTÍNEZ-CABRERA et al., 2009; ZINI et al., 2016), tanto no pecíolo quanto na nervura central, contudo, nesse estudo, os feixes acessórios são mais evidentes em *Eumachia guianensis* e *E. inconspicua*.

As estruturas morfológicas e anatômicas das espécies de *Eumachia* estudadas estão em concordância com as características gerais de Rubiaceae. Entretanto, distingue-se de outros gêneros como *Psychotria* que apresenta epiderme da face adaxial contendo uma drusa por célula e domácias infundibuliformes (QUINTEIRO et al., 2016). Assim como a ausência de ráfides

chama a atenção, pois Taylor et al., (2017) descrevem ráfides como caractere diagnóstico para *Eumachia*, e em *Palicourea rigida* por Gavilanes (2016), o que leva a acreditar que essa característica seja comum na família e não restrita ao gênero.

CONCLUSÃO

As características observadas nesse estudo estão relacionadas às espécies mesófitas e não estão restritas somente ao gênero *Eumachia*. No geral, as três espécies compartilham caracteres morfoanatômicos que são comumente descritos para Rubiaceae, como folhas simples, opostas, hipostomáticas, estômatos do tipo paracítico, mesofilo dorsiventral e feixes acessórios.

Em face das características morfológicas analisadas, é possível dizer que *Eumachia inconspicua* e *E. kappleri* se diferem de *E. guianensis* apenas pelo anel de tricomas presente no tubo da corola, sendo este, ainda mais evidente em *E. kappleri*, no entanto, não é possível afirmar que este caractere seja diagnóstico para o gênero, para isso faz-se necessário estudos mais aprofundados em taxonomia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRINO, C. R., MORAES, T. M. S., & CUNHA, M. Micromorfologia e anatomia foliar de espécies de Rubiaceae do Parque Nacional de Itatiaia-RJ. **Floresta e Ambiente**, v. 18, n. 3, p. 275-288, 2011.

ANDERSSON, L. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) is a pantropical genus. **Systematics and Geography of Plants**, v. 71, n. 1 p. 73-85, 2001.

ASSIS, M. C. D., & GIULIETTI, A. M. Diferenciação morfológica e anatômica em populações de "ipecaçuana"- *Psychotria ipecaçuana* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 2, p. 205-16, 1999.

BALDIN, T., SIEGLOCH, A. M., CARDOSO MARCHIORI, J. N., & DENARDI, L. Análise comparativa da anatomia da madeira de 41 espécies de Rubiaceae sob enfoque taxonômico. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 51, n. 4, p. 623-634, 2016.

BARRABÉ, L., BUERKI, S., MOULY, A., DAVIS, A.P., MUNZINGER, J. & MAGGIA L. Delimitation of the genus *Margaritopsis* (Rubiaceae) in the Asian, Australasian, and Pacific region, based on molecular phylogenetic inference and morphology. **Taxon**, v. 61, p. 1251-1268, 2012.

CAMPBELL, G., MIELKE, M. S., RABELO, G. R., & DA CUNHA, M. Key anatomical attributes for occurrence of *Psychotria schlechtendaliana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. (Rubiaceae) in different successional stages of a tropical moist forest. **Flora**, v. 246, p. 33-41, 2018.

DA SILVA, A. G., & DA COSTA, L. G. Germinação, Morfologia De Frutos, Sementes e Plântulas de Jacarandá-Da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex. Benth.). **Enciclopédia Biosfera**. v.10, n.18; p 1871-1879, 2014.

DE PAIVA, AI. M., & LOPES, R. C. **Rubiaceae na Área de Proteção Ambiental Palmares**. Pesquisas, Botânicas. Nº 64. p. 39-64. São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, Rio de Janeiro. 2013.

DE SOUZA, E. S.; NOVAES, J. A.; DE CARVALHO CURSINO, L. M.; DE OLIVEIRA, A. C.; DE OLIVEIRA, J. A. A.; NUNEZ, C. V.; MESQUITA, D. W. O.; MESQUITA, A. S. S. & DE SOUZA PINHEIRO, C. C. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v. 17, n. 4, p. 604-613, 2015.

DUBREUIL, V., DEBORTOLI, N., FUNATSU, B., NÉDÉLEC, V., & DURIEUX, L. Impact of land-cover change in the Southern Amazonia climate: a case study for the region of Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil. **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 2, p. 877-891, 2012.

EMBRAPA. **Embrapa Florestas**. Disponível em <<http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/aspec.htm>>. Acesso em 16 Nov. 2018.

ERBANO, M., & DUARTE, M. R. Leaf and stem morpho-anatomy of *Genipa americana* L., Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 825-832, 2010.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 11 Nov. 2018.

FUNDAÇÃO CRISTALINO. Incalculável valor para a Biodiversidade. Disponível em<<http://www.fundacaocristalino.org.br/o-que-fazemos/reservas-naturais-do-cristalino/>>. Acessado em 16 Nov. 2018.

GAVILANES, M. L., CASTRO, E. M. D., PIRES, M. F., PEREIRA, F. J., & PEREIRA, M. P. Leaf micromorphometry of *Palicourea rigida* Kunth. (Rubiaceae) from Brazilian cerrado and campo rupestre environments. **Cerne**, v. 22, n. 2, p. 163-170, 2016.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p, 1940.

KAISER, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. **Botanisch zentralb.** p. 25-26. 1880.

KRAUS, J. E., & ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. **Seropédica**: Edur, 1997.

MANTOVANI A.; GOMES, M.; GOMES, D.M.S., & VIEIRA, R.C. Anatomia foliar de *Rudgea decipiens* Müll.Arg. e *R. Macrophylla* Benth. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.9, n.2, p.247-261, 1995.

MARTÍNEZ-CABRERA, D.; TERRAZAS, T., & OCHOTERENA, H. Anatomia foliar e pecíolo da tribo Hamelieae e outras Rubiaceae. **Anais do Jardim Botânico do Missouri**, p. 133-145, 2009.

MENDOZA, H., JIMENEZ, L. C., & BERNARDO R. RAMÍREZ P. **Rubiaceae de Colombia: Guía ilustrada de géneros**. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 351 p. 2004.

METCALFE, C. R., & CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons**. Oxford University Press: Oxford, 790 p. 1979.

METCALFE, C. R., & CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press. 806 p. 1950.

MORAES, R. R. **Anatomia e micromorfologia foliar comparada de espécies de Rubiaceae ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, RJ, Brasil**. 2017. 94f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2017.

MORAES, T. M. D. S., RABELO, G. R., ALEXANDRINO, C. R., SILVA NETO, S. J. D., & DA CUNHA, M. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 178-190, 2011.

QUINTEIRO, M. D. C., TEIXEIRA, D. C., MORAES, M. D., & SILVA, J. D. Anatomia foliar de *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae). **Rev Univ Rur**, v. 26, n.2, p. 30-41, 2006.

RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R., & BELL, C. R. **Vascular Plant Systematics**. Harper & Row, New York. 891p. 1974.

RAZAFIMANDIMBISON, SG, TAYLOR, CM, WIKSTRÖM, N., PAILLER, T., KHODABANDEH, A., & BREMER, B. Phylogeny and generic limits in the sister tribes Psychotrieae and Palicoureae (Rubiaceae): Evolution of schizocarps in *Psychotria* and origins of bacterial leaf nodules of the Malagasy species. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 7, p. 1102-1126, 2014.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v. 1, n. 272, p. 599-602, 1988.

ROESER, K. R. Die nadel der schwarzkiefer massenprodukt und kunstwerk der natur. **Mikrokosmos**, v. 61, n. 2, p. 33-36. 1962.

SASAKI, D., ZAPPI, D., MILLIKEN, W., HENICKA, G. D. S., & PIVA, J. H. **Vegetação e plantas do Cristalino-um manual**. Alta Floresta, Royal Botanic Gardens. 53p, 2010.

SIMIONI, P. F., EISENLOHR, P. V., PESSOA, M. J. G., & DA SILVA, I. V. Elucidating adaptive strategies from leaf anatomy: Do Amazonian savannas present xeromorphic characteristics? **Flora**, v. 226, p. 38-46, 2017.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 17 Nov. 2018.

TAVARES, E.S., & VIEIRA, R.C. Anatomia foliar de *Coussarea meridionalis* (Vell.) Muell. Arg. e *Coussarea graciliflora* Benth. & Hook (Rubiaceae). **Bradea**, v.6, n.39, p.320-330, 1994.

TAYLOR, C. M. *Margaritopsis* (Rubiaceae, Psychotrieae) in the neotropics. **Systematics and Geography of Plants**, v. 75, n. 2, p. 161-177, 2005.

TAYLOR, C. M., CAMPOS, M. T., & ZAPPI, D. Flora da reserva ducke, amazonas, brasil: Rubiaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 549-616, 2007.

TAYLOR, C. M., RAZAFIMANDIMBISON, S. G., BARRABÉ, L., JARDIM, J. G., & BARBOSA, M. R. V. *Eumachia* expanded, a pantropical genus distinct from *Psychotria* (Rubiaceae, Palicoureae). **Candollea**, v. 72, n. 2, p. 289-318, 2017.

ZINI, A. S.; MARTINS, S.; TODERKE, M. L., & TEMPONI, L. G. Anatomia foliar de Rubiaceae ocorrentes em fragmento florestal urbano de Mata Atlântica, PR, Brasil. **Hoehnea**, v. 43, p. 173-182, 2016.

3.2. RESPOSTAS ANATÔMICAS DE *Eumachia kappleri* EM TRÊS ÁREAS DA AMAZÔNIA MATO-GROSSENSE

RESUMO

Eumachia DC. é um gênero de Rubiaceae que recentemente teve sua circunscrição ampliada devido a estudos baseados em dados moleculares e distribuição geográfica. Rubiaceae, representada por 13.235 espécies distribuídas em 614 gêneros é uma das maiores famílias de Angiospermas. Diante dessa grande diversidade e presença em diferentes estratos vegetacionais, espécies da família Rubiaceae possuem grande importância para estudos relacionados a ecologia, conservação e preservação em regiões tropicais. A anatomia ecológica pode ser uma abordagem útil para compreender as mudanças estruturais e entender os processos de colonização e sobrevivência de espécies. O objetivo deste estudo foi comparar a anatomia foliar de *Eumachia kappleri* (Miq.) Delprete & J.H. Kirkbr., ocorrente em três diferentes áreas, buscando identificar caracteres-chave que mostrem estratégias adaptativas em seus ambientes naturais. Os indivíduos foram coletados em três áreas inseridas em uma região onde ocorrem duas estações climáticas definidas. Para o estudo dos caracteres anatômicos, em cada área foram identificados três indivíduos e, destes, coletadas cinco folhas adultas, antes totalmente expostas ao sol, que foram fixadas em FAA₅₀ por 48 horas e depois conservadas em etanol 70%. Posteriormente, com técnicas usuais em anatomia vegetal e com uso de lâminas de aço, foram obtidas seções transversais e procedeu-se a dissociação de epidermes. Lâminas histológicas semi-permanentes foram montadas, para visualização e registro fotográfico em fotomicroscópio fotônico trinocular acoplado a um computador. Para o estudo quantitativo serviram onze atributos anatômicos, analisados com o auxílio do software de análise de imagem. Após normalizar os dados necessários, uma matriz de correlação foi construída e posteriormente uma MANOVA foi realizada. Após identificar quais variáveis colaboraram para a significância da MANOVA, foi aplicado o teste de Tukey. Através da MANOVA foi possível identificar diferença significativa entre as áreas. Na maioria das variáveis morfoanatômicas os indivíduos da área Reserva FA (Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort) apresentaram medidas significativamente maiores que as outras duas áreas. A análise da anatomia foliar mostrou que *E. kappleri*

apresenta características anatômicas que são consideradas comuns à família, porém quando comparadas em ambientes distintos, diferem em alguns aspectos. Conclui-se que algumas das variações anatômicas entre as amostras analisadas como espessura de epiderme e mesofilo favorecem a aclimação da espécie às clareiras florestais, tornando-a bem ajustada em ambientes abertos.

Palavras-chave: Adaptação; *Eumachia*; caracteres anatômicos; plasticidade.

ABSTRACT

Eumachia DC. is a genus from Rubiaceae that, recently, had its circumscription enlarged due to studies based on molecular data and geographic distribution. Rubiaceae is one of the largest families of Angiosperms, and it is represented by thirteen thousand two hundred and thirty-five species, distributed in six hundred and fourteen genera. Because of their great diversity and presence in different vegetative strata, species of the Rubiaceae family are of great importance for studies related to ecology, conservation and preservation in tropical regions. Ecological anatomy may be a useful approach to the understanding of the structural changes and the species colonization and survival processes. The aim of this study was to compare the foliar anatomy of the *Eumachia kappleri* (Miq.) Delprete & J.H. Kirkbr., which occurs in three different areas, seeking to identify key characters that might present adaptive strategies in their natural environments. The individuals were collected in three areas inserted in a region where two defined climatic seasons occur. For the study of the anatomical characters, in each area three individuals were identified and, from them, five adult leaves, previously totally exposed to the sun, were collected, and fixed in FAA50 for forty-eight hours, and then conserved in ethanol 70%. Subsequently, with the usual techniques in plant anatomy and with the aid of steel blades, transverse sections were obtained, and then the dissociation of the epidermis was carried out. For visualization and photographic recording, semi-permanent histological slides were assembled, and a trinocular photomicroscope coupled to a computer was used for that. For the quantitative study, eleven anatomical attributes were considered and analyzed with the aid of an image analysis software. After normalizing the

required data, a correlation matrix was constructed and, subsequently, a MANOVA was performed. After identifying the variables that contributed to the significance of the MANOVA, the Tukey test was applied. Through the MANOVA it was possible to identify a significant difference between the areas. In most of the morpho-anatomical variables, the individuals from the reserve area FA (Amazon Forest Reserve Hotel Resort) presented significantly larger measures than the other from the two areas. The analysis of the foliar anatomy showed that *E. kappleri* presents anatomical characteristics that are considered common to the family, however, when compared in different environments, they differ in some aspects. It is concluded that some of the anatomical variations between the analyzed samples, such as the thickness of the epidermis and mesophyll, favor the acclimatization of the species to the forest clearings, making it well-adjusted in open environments.

Keywords: Adaptation; *Eumachia*; Anatomical characters; Plasticity.

INTRODUÇÃO

Eumachia DC. é um gênero da família Rubiaceae composto por 83 espécies com distribuição pantropical que recentemente teve sua circunscrição ampliada devido a estudos baseados em dados moleculares (ANDERSSON & ROVA, 1999; NEPOKROEFF et al., 1999; ANDERSSON, 2001), portanto, atualmente o gênero consiste principalmente de espécies que foram removidas dos gêneros *Margaritopsis* C. Wright e *Psychotria* L. (ANDERSSON, 2001). *Eumachia* é formado por espécies arbustivas de aproximadamente 1 m de altura, que ocorrem comumente no sub-bosque de Florestas Ombrófilas.

As folhas de Rubiaceae, são caracterizadas anatomicamente por mesofilo dorsiventral, são hipostomáticas com estômatos paracíticos, organização do sistema vascular do pecíolo e da nervura principal em arco e presença de feixes acessórios (METCALFE & CHALK 1979; MORAES et al., 2011; ZINI et al., 2016). Porém, sabe-se que variações na estrutura das plantas como resposta funcional às pressões ambientais são particularmente mais expressivas na morfologia e anatomia foliar (e.g. aumento da intensidade luminosa, aumento da densidade estomática) (CAO, 2000; CABRAL et al., 2018).

Espécies da família como as dos gêneros *Genipa* L. e *Psychotria* L., podem ter grande capacidade de apresentar diferenças fenotípicas e alta capacidade de adaptação a ambientes de sol e sombra, o que pode proporcionar vantagem competitiva em ecossistemas dinâmicos e perturbados (CAMPBELL et al., 2018). Essa plasticidade morfológica implica uma capacidade eficiente para da planta a aquisição de recursos, já a maior plasticidade fisiológica está relacionada a uma maior capacidade de explorar ambientes de alta luminosidade (RABELO et al., 2013).

A anatomia ecológica pode ser uma abordagem útil para compreender as mudanças estruturais e entender os processos de colonização e sobrevivência de espécies, apontando adaptações relacionadas ao ambiente, pois o conhecimento da estrutura interna da planta indica e explica sua adaptação a determinado ambiente (ZINI et al., 2016; GAVILANES et al., 2016; DA SILVA & DE MELO JÚNIOR, 2017; DARDENGO et al., 2017).

Neste contexto, este estudo teve como objetivo comparar a anatomia foliar de *Eumachia kappleri* (Miq.) Delprete & J.H. Kirkbr., uma espécie de sub-bosque, ocorrente em três diferentes áreas da Amazônia mato-grossense, buscando identificar caracteres-chave que mostrem estratégias adaptativas em seus ambientes naturais. Apresenta-se a hipótese de que ocorra influência do espaço ou de fatores ambientais sobre as características anatômicas das populações, com diferença entre indivíduos de áreas distintas.

MATERIAL E MÉTODOS

Áreas estudadas

As áreas de estudo estão inseridas em uma região onde ocorrem duas estações climáticas definidas, uma chuvosa de outubro a abril e uma de estiagem de maio a setembro, com precipitação média anual de 2.232 mm e temperatura média anual de 26-27°C (DUBREUIL et al., 2012). Os indivíduos coletados foram encontrados próximos à clareiras ou aberturas de trilhas nas três áreas (Fig. 1).

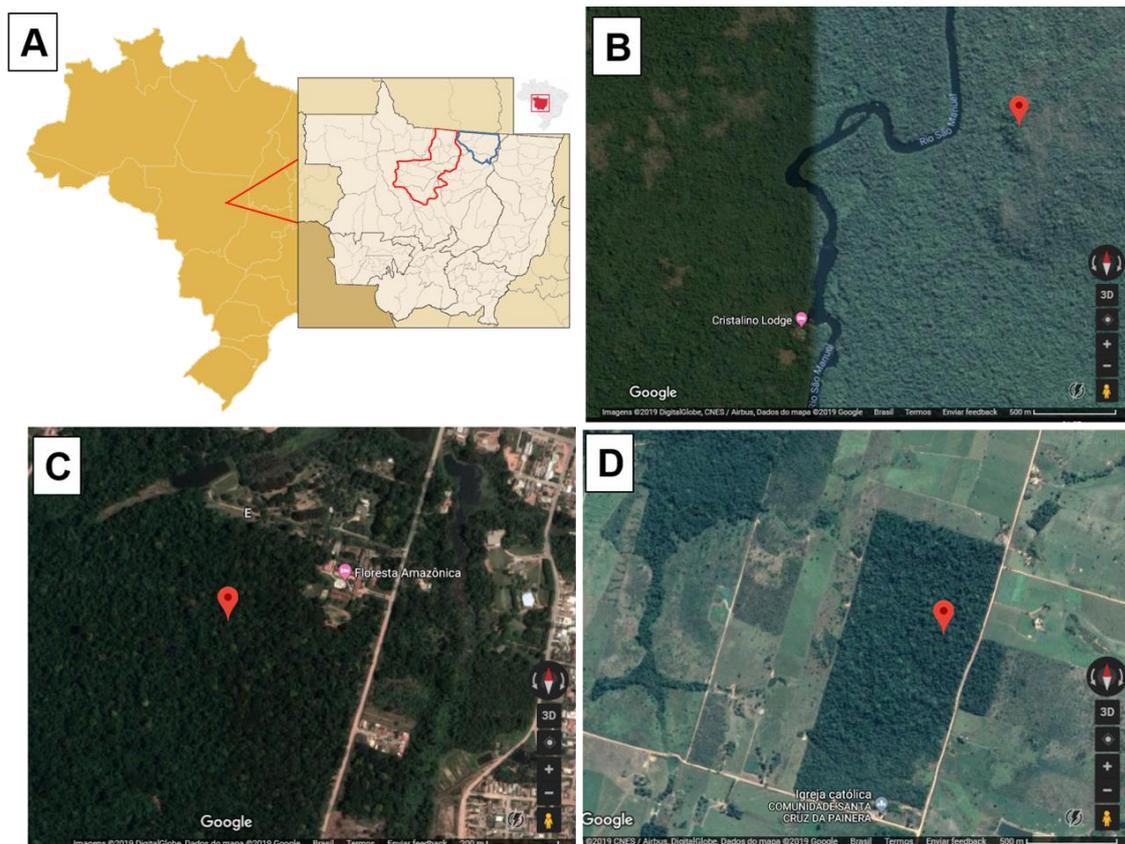


Figura 1: Áreas de coleta. A- Estado de Mato Grosso, município de Alta Floresta em vermelho; município de Novo Mundo em Azul. B- Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort – Reserva FA; C- Parque C-E; D- Reserva Particular do Patrimônio Natural - RPPN Mirante da Serra.

A primeira área, denominada Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (Reserva FA), está situada no perímetro urbano do município de Alta Floresta- Mato Grosso, sob as coordenadas $9^{\circ}52'44.6''S$ e $56^{\circ}05'57.3''W$. A área abrange cerca de 50 hectares de Floresta Ombrófila Densa (EMBRAPA, 2018) com perturbação antrópica média (Fig. 1 B). Os indivíduos coletados estão a aproximadamente 500 metros de distância do curso d'água existente no local.

A segunda área de estudo, um parque municipal também localizado no perímetro urbano da cidade de Alta Floresta, denominado Parque C-E ($S 09^{\circ} 52' 38.07'' W 056^{\circ} 05' 29.75''$), possui 13 hectares de Floresta Ombrófila Densa (EMBRAPA, 2018), com alto grau de perturbação (Fig. 1C). Nessa área os indivíduos foram coletados a aproximadamente 50 metros do curso d'água.

Já a terceira área é uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Mirante da Serra, localizada no município de Novo Mundo e sob as

coordenadas 09°35'11"S, 55°55'10"W (Fig. 1D). Essa área juntamente com outras três unidades de preservação, totalizam cerca de 6.500 hectares de vegetação com pouca/nenhuma perturbação antrópica (RPPN's Cristalino) (FUNDAÇÃO ECOLÓGICA CRISTALINO, 2018). A coleta foi realizada a cerca de 300 metros de distância do rio Cristalino, em um ambiente úmido, com pouca influência visível de seca e sem inundações na estação chuvosa (SASAKI et al., 2010). A vegetação predominante é de Floresta Ombrófila Densa Submontana e Floresta Estacional Semidecidual (IBGE, 2012; SEMA, 2010).

Coleta de dados

Para o estudo dos caracteres anatômicos de *Eumachia kappleri* as coletas foram realizadas entre março e abril de 2018. Em cada área, três indivíduos foram identificados, e destes, retiradas cinco folhas adultas que estavam totalmente expostas ao sol. As folhas foram fixadas em FAA₅₀ por 48 horas e depois conservadas em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). Além das amostras utilizadas para estudo anatômico, outras amostras formaram material que foi depositado no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM), sob o voucher HERBAM 20592.

Anatomia Foliar

Para análise anatômica se prestaram técnicas usuais em anatomia vegetal e cortes a mão livre, com uso de lâminas de aço. Assim, foram obtidas secções transversais da região mediana da folha. As secções passaram por clarificação em hipoclorito de sódio a 2% e posteriormente por tripla lavagem com água destilada. Em seguida, coradas com azul de Astra e fucsina básica (KRAUS & ARDUIN, 1997). Lâminas histológicas semi-permanentes foram montadas, para visualização e registro fotográfico em fotomicroscópio fotônico trinocular Leica® ICC50, acoplado a um computador e com auxílio do software LAZ EZ 1.7.0.

A dissociação epidérmica se deu através do método de Jeffrey modificado (KRAUS & ARDUIN, 1997), onde porções foliares de aproximadamente 1 cm² foram inseridas em microtubos com solução formada por peróxido de hidrogênio (Volume 30) e ácido acético glacial na proporção de

1:1, mantidas em estufa a 65°C por aproximadamente 12 horas, para isolamento das epidermes. Após esse período, as amostras passaram por lavagem em água destilada e, com o auxílio de um pincel, separadas as duas superfícies epidérmicas que foram coradas com safranina para montagem das lâminas histológicas. Os atributos anatômicos das secções transversais e paradérmicas foram medidos com auxílio do software de análise de imagem Anati Quanti (AGUIAR et al., 2007).

Análise de Dados

Inicialmente testaram-se os pressupostos de normalidade e homocedasticidade usando o software PAST (Paleontological Statistics), versão 3.15 (HAMMER et al., 2001). A partir da transformação dos valores dos atributos anatômicas antes não-normais (Tabela 1), utilizou-se o software R v. 3.4.3 (R CORE TEAM, 2017) para os testes estatísticos. Uma matriz de correlação foi construída para testar as correlações entre as variáveis dependentes usando a função *cor()* do pacote *stats* (R CORE TEAM, 2017), sendo consideradas correlacionadas variáveis com valor de correlação acima de |0,70| e eliminada uma delas para testes posteriores; para eliminação usou-se como critério a variável com maior sentido biológico para as hipóteses testadas.

Tabela 1. Atributos anatômicos foliares, suas definições e transformações necessárias para teste estatístico.

Variável anatômica	Definição	Transformação de dados
EAD (µm)	Espessura de epiderme adaxial	----
EAB (µm)	Espessura de epiderme abaxial	Log 10
EPa (µm)	Espessura do parênquima paliádico	Box-cox
Ela (µm)	Espessura do parênquima lacunoso	Box-cox
EMe (µm)	Espessura do mesofilo	Log 10
EFNC (µm)	Espessura do feixe vascular da nervura central	\sqrt{y}
Dest (estômatos µm ⁻²)	Densidade estomática	Log 10
IE	Índice estomático	----
MEE (µm)	Medida equatorial do estômato	----
MPE (µm)	Medida polar do estômato	----
AO (µm)	Abertura do ostíolo	----

Seguidamente, testou-se o valor de inflação das variáveis (VIF) através da função *vif()* do pacote *car* (FOX & WISBERG, 2011) e constatamos que não haviam variáveis inflando o modelo ($VIF < 10$).

Uma MANOVA foi realizada (Multivariate Analysis of Variance) com os atributos anatômicos remanescentes para detectar possível diferença entre as três áreas utilizando a função *manova (cbind())* do pacote *dplyr* (WICKHAM et al., 2018). Após identificar quais variáveis colaboraram para a significância da MANOVA com a função *summary.aov()* realizamos um teste *post-hoc* de Tukey através da função *TukeyHSD()* do pacote *stats* (R CORE TEAM, 2017).

Para todos os atributos anatômicos calculamos médias e desvio-padrão usando a função *summaryBy()* do pacote *doBy* (HØJSGAARD et al., 2010). De posse dos dados morfoanatômicos foliares, organizamos uma tabela com a média das variáveis acompanhadas do desvio padrão de *Eumachia kappleri* provenientes das três áreas de vegetação nativa.

RESULTADOS

Mediante a matriz de correlação, foi possível identificar dois atributos a serem descartados (Tabela 2).

Tabela 2: Matriz de correlação de Pearson entre os atributos anatômico de amostras de *Eumachia kappleri* provenientes de três áreas de vegetação natural na Amazônia mato-grossense. Definição das siglas na tabela 1.

	Ead	Eab	Epa	Ela	Eme	EFNC	Dest	IE	MEE	MPE	AO
Ead		0,41	0,64	0,5	0,57	0,31	-0,14	0,04	-0,12	0,05	0,15
Eab			0,47	0,47	0,53	0,38	-0,1	0,14	-0,23	-0,01	0,1
Epa				0,51	0,66	0,34	-0,17	0,07	-0,12	0,19	-0,03
Ela					0,95	0,44	-0,13	0,1	-0,04	0,11	0,23
Eme						0,49	-0,15	0,11	-0,04	0,14	0,21
EFNC							-0,15	0,11	-0,05	0,14	-0,09
Dest								0,79	0,06	-0,06	0,01
IE									0,12	0,2	0,09
MEE										0,6	0,36
MPE											0,38
AO											

*Valores superiores a $|0,7|$ são considerados altamente correlacionados (em negrito).

Através da MANOVA foi possível identificar diferença significativa entre as áreas ($F = 10,91$; $p < 0,001$), e a comparação dos caracteres anatômicos

revelaram variações consideráveis entre os indivíduos analisados. Na maioria das variáveis morfoanatômicas os indivíduos da Reserva FA apresentaram medidas significativamente maiores que as outras duas áreas (Tabela 3). Entretanto, o índice de plasticidade se mostrou baixo (média 0,27), sendo a Dest, a variável com maior valor de plasticidade.

Tabela 3: Valores médios dos atributos anatômicos foliares mensurados em *Eumachia kappleri* ocorrente em Floresta Ombrófila Densa Submontana e Floresta Estacional Semidecidual na Amazônia mato-grossense, Brasil.

VARIÁVEL	Reserva FA	RPPN	Parque C_E	IPF
EAD	37,42 ± 4,29 a	32,51 ± 3,60 b	29,30 ± 7,70 b	0,24
EAB	38,36 ± 7,62 a	31,33 ± 3,19 b	28,99 ± 5,56 b	0,27
EPA	40,71 ± 4,67 a	36,66 ± 4,34 b	29,52 ± 7,60 c	0,29
ELA	148,49 ± 31,48 a	90,48 ± 16,85 b	92,71 ± 22,17 b	0,38
EME ^{ns}	189,21 ± 22,17	127,15 ± 22,17	122,24 ± 44,35	0,32
EFNC	546,68 ± 141,38 a	440,63 ± 102,83 b	414,79 ± 59,05 b	0,20
DEST ^{ns}	87,66 ± 19,79	86,74 ± 15,91	92,85 ± 20,38	0,40
IE	11,50 ± 2,16 a	10,69 ± 1,90 b	9,99 ± 2,32	0,32
MEE	29,60 ± 3,51 a	30,80 ± 3,94 a	29,98 ± 4,08 a	0,18
MPE	18,59 ± 2,42 a	18,72 ± 2,14 a	16,64 ± 2,15 b	0,10
AO	4,72 ± 1,06 a	3,64 ± 0,94 b	4,314 ± 0,81 a	0,28
			Valor médio	0,27

*Definição das siglas na tabela 1. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre ambientes ($p < 0,01$) pelo teste de Tukey. ns: Não significativo, IPF: índice de plasticidade fenotípica, médias e desvio-padrão (\pm).

A análise da anatomia foliar mostrou que, em vista frontal, *Eumachia kappleri* possui células epidérmicas de paredes retas, (Fig. 2A); é hipoestomática, sendo os estômatos do tipo paracítico no mesmo nível das demais células epidérmicas adjacentes e possui células-guarda de formato reniforme (Fig. 2B). Em secções transversais, a epiderme é uniestratificada com paredes e cutícula delgadas (Figs. 2C-E). A espessura de ambas as faces da epiderme foi maior para indivíduos de Reserva FA (Fig. 2C).

O mesofilo, com aspecto dorsiventral, possui de uma a duas camadas de parênquima paliçádico e em média cinco camadas de parênquima lacunoso com espaços intercelulares inconspícuos (Figs. 2A-C). Foi clara a diferença na espessura dos parênquimas do mesofilo da espécie entre as áreas (Figs. 2C-

E). Desta maneira, também foi observado que a maior espessura do mesofilo para a espécie ocorrente foi na Reserva FA (Fig. 2C).

Em relação ao feixe vascular, na nervura central a espécie possuiu feixe do tipo colateral em formato côncavo-convexo com face abaxial proeminente (Figs. 2F-H). Nota-se a presença de tricomas tectores nos indivíduos ocorrentes no Parque C-E (Fig. 2H).

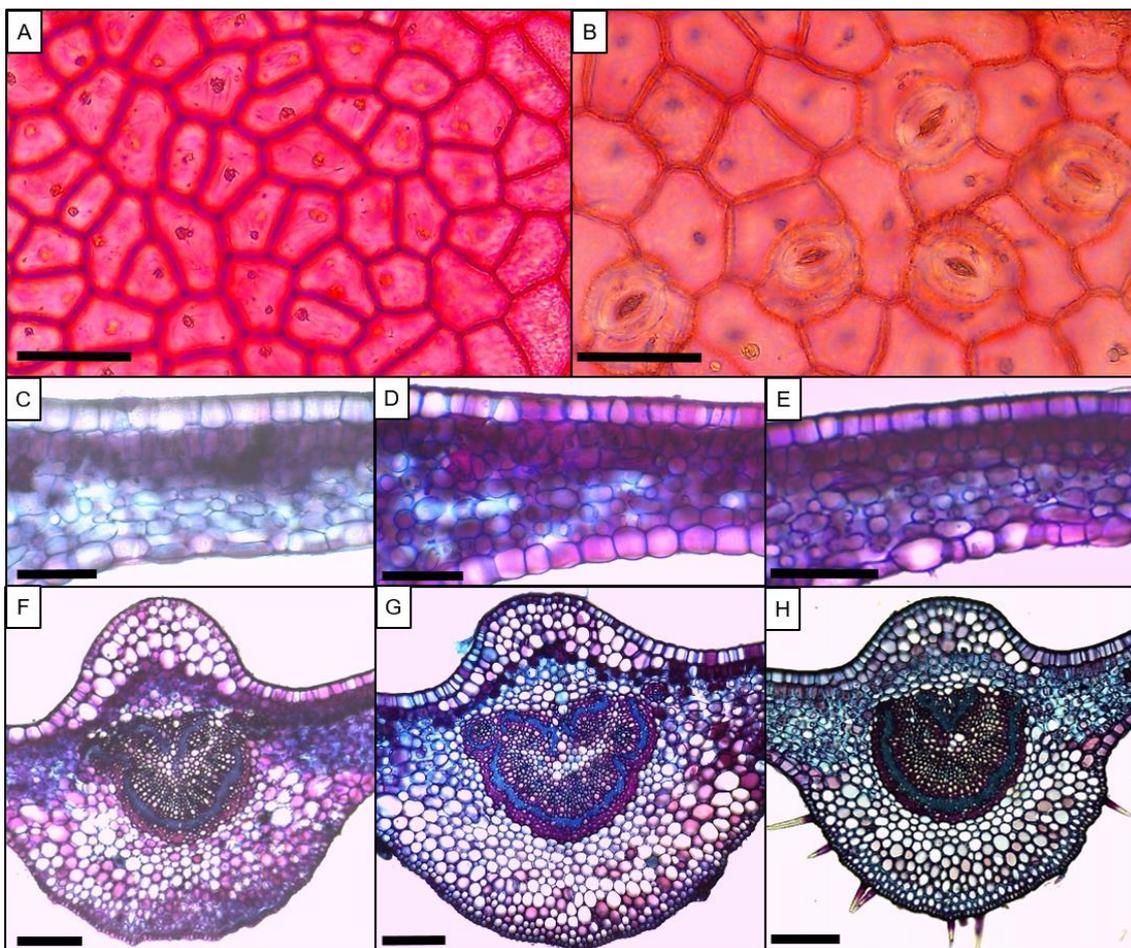


Figura 2. Secções anatômicas da lâmina foliar de *Eumachia kappleri*. Vista paradérmica da epiderme adaxial (A) e abaxial (B). Vista transversal do mesofilo ocorrente na Reserva FA (C); RPPN Mirante da Serra (D) e Parque C_E (E). Vista transversal da nervura central ocorrente em Reserva FA (F); RPPN Mirante da Serra (G) e Parque C-E (H). Barras: A, B e C: 50 μm ; C, D e E: 100 μm ; F, G e H: 200 μm .

DISCUSSÃO

Espécies de Rubiaceae possuem grande importância para estudos relacionados a ecologia, conservação e preservação em regiões tropicais

(DELPRETE & JARDIM, 2012). Normalmente encontradas no sub-bosque de florestas úmidas neotropicais, as espécies da família possuem grande importância como fonte alimentar para a fauna, em especial para aves (BREMER & ERIKSSON, 1992)

A espécie estudada apresenta características anatômicas que são consideradas comuns à família, como folhas hipoestomática, estômatos paracíticos, mesofilo dorsiventral e feixes vasculares colaterais (METCALFE & CHALK, 1979). Porém, quando comparadas em ambientes distintos, diferem em alguns aspectos; principalmente quanto a espessura das epidermes abaxial e adaxial, espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso da asa foliar; espessura do feixe da nervura central e também quanto à presença de tricomas.

Essas alterações podem estar associadas à fatores abióticos de cada ecossistema, que se diferem principalmente quanto a quantidade de luz, umidade e proximidade de cursos de água (ESAU, 2000; RABELO et al., 2013; SOMAVILLA, et al., 2014). É importante ressaltar que a plasticidade observada pode ser reduzida pela limitação de recursos ou pelo estresse ambiental (VALLADARES et al., 2007).

Em plantas terrestres, a epiderme foliar é essencial para o controle do crescimento, proteção e interações ambientais (MALIVERT et al., 2018). A epiderme mais espessa em ambas as faces para os indivíduos de sub-bosque da Reserva FA pode ser justificada pelo fato de que, nessa área, os indivíduos encontram-se na borda da trilha, recebendo maior luminosidade.

O espessamento da epiderme pode ocorrer pela influência da intensidade luminosa (RAVEN et al., 2001), sendo uma resposta comum em plantas de ambientes fragmentados; está ligada ainda a incidência de ventos, que aumentam a possibilidade de perda de água por evapotranspiração (SOMAVILLA et al., 2014).

Das áreas estudadas, Reserva FA apresenta outra característica que a torna única: o fato de que os indivíduos analisados estão mais distantes do curso d'água; parâmetros anatômicos foliares como aumento da espessura da epiderme adaxial podem estar diretamente relacionados ao estresse hídrico (BOUGHALLEB & HAJLAOUI, 2011). De fato, há estudos que evidenciam que

as únicas características que variaram significativamente em resposta ao déficit hídrico são a espessura da epiderme adaxial e o volume das cavidades no parênquima lacunoso; o segundo carácter, ao contrário da expectativa, pode aumentar em resposta à seca imposta (BINKS et al., 2016).

Parênquima paliçádico e lacunoso bem desenvolvidos em relação aos tecidos protetores como a epiderme, é comumente encontrado em espécies de plantas submetidas a altas intensidades de luz (SOMAVILLA et al., 2014). A maior espessura do parênquima paliçádico não está relacionada a capacidade fotossintética máxima (BINKS et al., 2016), uma vez que as plantas investem em fotoassimilados e na expansão dos tecidos fotossintéticos, maximizando a interceptação de luz e, conseqüentemente, o crescimento (DALE, 1988; BOUGHALLEB & HAJLAOUI, 2011). Entretanto, a espessura desse tecido pode aumentar em resposta ao déficit de água, influenciando o uso da água dentro da folha (BOUGHALLEB & HAJLAOUI, 2011), assim como evidenciado pelos indivíduos da Reserva FA, estando estes, mais distantes de cursos d'água.

Os parâmetros da fotossíntese estão positivamente correlacionados com a espessura do mesofilo como um todo (BINKS et al., 2016). O incremento da espessura do mesofilo através do investimento em parênquima lacunoso pode atuar como estratégia para otimizar processos fotossintéticos (TIAN et al., 2016; SAFIALLAH, 2017), sendo útil para plantas que enfrentam a sazonalidade hídrica. Um mesofilo espesso pode influenciar aumentando potencialmente a contundência dentro da folha e reduzindo a necessidade de baixo potencial osmótico, necessário para manter o turgor com baixa disponibilidade de água (BINKS et al., 2016).

Já o aumento das dimensões do feixe vascular é fundamental para eficiência do transporte de nutrientes e água (TAIZ & ZEIGER, 2008). Fatores relacionados ao ambiente afetam as dimensões e o arranjo dos elementos vasculares, uma tentativa de garantir aumento na segurança do transporte (ALVES & ANGYALOSSY-ALFONSO, 2000).

CONCLUSÃO

A hipótese de que existe influência do espaço, não se aplica às áreas estudadas de acordo com os resultados obtidos, porém estes inferem que as diferenças anatômicas entre as populações amostradas são decorrentes de condições ambientais. Pode-se afirmar também, que algumas das variações anatômicas entre as amostras analisadas favorecem a aclimação da espécie às clareiras florestais e que *E. kappleri* é bem ajustada a ambientes abertos, apresentando diferenças relevantes dentro das populações. Conclui-se ainda, que os indivíduos estudados da população da Reserva FA sofreram ajustes estruturais, como a espessura de epiderme adaxial e abaxial e espessura de parênquima paliçádico e lacunoso, provavelmente devido às diferentes condições de luminosidade e disponibilidade de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, T. V., SANT'ANNA-SANTOS, B. F., AZEVEDO, A. A., & FERREIRA, R. S. ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 649-659, 2007.

ALVES, E. S., & ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the Wood of some Brazilian species 1: growth rings and vessels. **IAWA Jornal**, v. 21, p. 03-30, 2000.

ANDERSSON, L. Margaritopsis (Rubiaceae, Psychotrieae) is a pantropical genus. **Systematics and Geography of Plants**. v. 71, n. 1, p. 73-85, 2001.

ANDERSSON, L., & ROVA, J. H. Therps16 intron and the phylogeny of the Rubioideae (Rubiaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 214, n. 1-4, p. 161-186, 1999.

BINKS, O., MEIR, P., ROWLAND, L., DA COSTA, A. C. L., VASCONCELOS, S. S., DE OLIVEIRA, A. A. R., ... & MENCUCCINI, M. Limited acclimation in leaf anatomy to experimental drought in tropical rainforest trees. **Tree physiology**, v. 36, n. 12, p. 1550-1561, 2016.

BOUGHALLEB, F., & HAJLAOUI, H. Physiological and anatomical changes induced by drought in two olive cultivars (cv Zalmati and Chemlali). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 1, p. 53-65, 2011.

BREMER, B. & ERIKSSON, O. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.47, p.79-95, 1992.

CABRAL, R. D. C., MELO JUNIOR, J. C. F. D., & MATILDE-SILVA, M. Foliar morphoanatomical plasticity of *Smilax campestris* (Smilacaceae) in an environmental gradient of restinga, Santa Catarina State, Brazil. **Hoehnea**, v. 45, n. 2, p. 173-183, 2018.

CAMPBELL, G., MIELKE, M. S., RABELO, G. R., & DA CUNHA, M. Key anatomical attributes for occurrence of *Psychotria schlechtendaliana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. (Rubiaceae) in different successional stages of a tropical moist forest. **Flora**, v. 246, p. 33-41, 2018.

CAO, K. F. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany**, v. 78, n. 10, p. 1245-1253, 2000.

CATONI, R.; GRANATA, M.U.; SARTORI, F.; VARONE, L., & GRATANI, L. *Corylus avellana* responsiveness to light variations: morphological, anatomical, and physiological leaf trait plasticity. **Photosynthetica**, v. 53, n. 1, p. 35-46, 2015.

DA SILVA, M. M., & DE MELO JÚNIOR, J. C. F. Plasticidade da folha e lenho de cinco espécies lenhosas em duas áreas de restinga no Sul do Brasil. **Iheringia. Série Botânica**, v. 72, n. 2, p. 173-180, 2017.

DALE, J. E. The control of leaf expansion. **Annual Review Plant Physiology**, v. 39, p. 267–295. 1988.

DARDENGO, J. D. F. E., ROSSI, A. A. B., SILVA, I. V. D., PESSOA, M. J. G., & SILVA, C. J. D. Analysis of the luminosity on the anatomical aspects of *Theobroma speciosum* WILLD. EX SPRENG. (MALVACEAE) LEAVES. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 3, p. 843-851, 2017.

DELPRETE, P. G., & JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 101-128, 2012.

DUBREUIL, V., DEBORTOLI, N., FUNATSU, B., NÉDÉLEC, V., & DURIEUX, L. Impact of land-cover change in the Southern Amazonia climate: a case study for the region of Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil. **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 2, p. 877-891, 2012.

EMBRAPA. Embrapa Florestas. Disponível em <<http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/aspec.htm>>. Acesso em 16 Nov. 2018.

ESAU, K. Anatomia das plantas com sementes. 293 p. **Edgard Blücher, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil**, 2000.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 13 Set. 2018.

FOX, J., WEISBERG, S., ADLER, D., BATES, D., BAUD-BOVY, G., ELLISON, S., ... & HEIBERGER, R. Package 'car'. **Vienna: R Foundation for Statistical Computing**, 2012.

FUNDAÇÃO CRISTALINO. Incalculável valor para a Biodiversidade. Disponível em<<http://www.fundacaocristalino.org.br/o-que-fazemos/reservas-naturais-do-cristalino/>>. Acessado em 16 Nov. 2018.

GAO, F.; CALATAYUD, V.; GARCÍA-BREIJO, F.; REIG-ARMIÑANA, J., & FENG, Z. Effects of elevated ozone on physiological, anatomical and ultrastructural characteristics of four common urban tree species in China. **Ecological Indicators**, v. 67, p. 367-379, 2016.

GAVILANES, M. L., DE CASTRO, E. M., FERREIRA PIRES, M., PEREIRA, F. J., & PEREIRA, M. P. Micromorfometria foliar de *Palicourea rigida* Kunth. Rubiaceae) em ambiente de Cerrado e Campo Rupestre. **CERNE**, v. 22, n. 2, p.163-170, 2016.

HAMMER, O. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis Palaeontologia Electronica. <http://palaeo-electronicaorg/2001_1/past/issue1_01htm Accessed>, v. 1, 2001.

HØJSGAARD, S., HALEKOH, U., ROBISON-COX, J., WRIGHT, K., & LEIDI, A. A. doBy: Groupwise statistics, LSmeans, linear contrasts, utilities. **R package version**, v. 4, p. 5-13, 2014.

IBGE. **Manual técnico da vegetação brasileira**: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas, procedimentos para mapeamentos. Rio de Janeiro. 2012.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p, 1940.

KRAUS, J. E., & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Edur, Seropédica 1997.

MALIVERT, A.; HAMANT, O., & INGRAM, G. A contribuição da mecanossensibilização para a especificação do destino das células epidérmicas. **Opinião atual em genética e desenvolvimento**, v. 51, p. 52-58, 2018.

MELO JÚNIOR, J. C. F. D., SILVA, M. M. D., AMORIM, M. W., & TUSSOLINI, E. G. R. Structural adaptations of seven shade shrubs in species of Tropical Rain Forest. **Hoehnea**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2017.

METCALFE, C. R., & CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons**. Oxford University Press: Oxford, 790 p. 1979.

MORAES, T. M. D. S., RABELO, G. R., ALEXANDRINO, C. R., SILVA NETO, S. J. D., & DA CUNHA, M. Comparative leaf anatomy and micromorphology of

Psychotria species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 178-190, 2011.

NEPOKROEFF, M., BREMER, B., & SYTSMA, K. J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, p. 5-27, 1999.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <<https://www.R-project.org/>>. 2017

RABELO, G. R., VITÓRIA, Â. P., DA SILVA, M. V., CRUZ, R. A., PINHO, E. I., RIBEIRO, D. R., & DA CUNHA, M. Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. **Trees**, v. 27, n. 1, p. 259-272, 2013.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F., & EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Guanabara, Koogan S.A. Rio de Janeiro. 906p. 2001.

RÔÇAS, G.; SCARANO, F. R., & BARROS, C. F. Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 136, n. 2, p. 231-238, 2001.

SAFIALLAH, S., HAMDY, S. M. M., GRIGORE, M. N., & JALILI, S. Micromorphology and leaf ecological anatomy of *Bassia halophyte* species (Amaranthaceae) from Iran. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 61, n. 1, p. 85-93, 2017.

SASAKI, D., ZAPPI, D., MILLIKEN, W., HENICKA, G. D. S., & PIVA, J. H. **Vegetação e plantas do Cristalino-um manual**. Alta Floresta, Royal Botanic Gardens. 53p, 2010.

SEMA-MT. **Plano de Manejo do Parque Estadual Cristalino**. Portaria nº 031. Diário Oficial do Estado de Mato Grosso, 2010.

SOMAVILLA, N. S.; KOLB, R. M., & ROSSATTO, D. R. Leaf anatomical traits corroborate the leaf economic spectrum: a case study with deciduous forest tree species. **Brazilian Journal of Botany**, v. 37, n. 1, p. 69-82, 2014.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 13 de set. de 2018.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: ARTMED, 820 p., 2008.

TAYLOR, C. M., RAZAFIMANDIMBISON, S. G., BARRABÉ, L., JARDIM, J. G., & BARBOSA, M. R. V. *Eumachia* expanded, a pantropical genus distinct from *Psychotria* (Rubiaceae, Palicoureeae). **Candollea**, v. 72, n. 2, p. 289-318, 2017.

TIAN, M., YU, G., HE, N. & HOU, J. Leaf morphological and anatomical traits from tropical to temperate coniferous forests: Mechanisms and influencing factors. **Scientific reports**, v. 6, p. 19703, 2016.

VALLADARES, F.; GIANOLI, E. R., & GÓMEZ, J. M. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. **New Phytologist**, v. 176, n. 4, p. 749-763, 2007.

WICKHAM, H., FRANCOIS, R., & HENRY, L. Müller, K. dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version 0.7. 6. 2018.

ZINI, A. S.; MARTINS, S.; TODERKE, M. L., & TEMPONI, L. G. Anatomia foliar de Rubiaceae ocorrentes em fragmento florestal urbano de Mata Atlântica, PR, Brasil. **Hoehnea**, v. 43, p. 173-182, 2016.

3.3 HISTOQUÍMICA DOS ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE TRÊS ESPÉCIES DE *Eumachia* DC. (Rubiaceae)

RESUMO

Rubiaceae Juss., a quarta maior família entre as angiospermas possui, em sua maioria, espécies arbustivas que são frequentemente encontradas em sub-bosque. No Brasil a família contribui de maneira representativa em todos os domínios fitogeográficos e entre os seus diversos gêneros, *Eumachia* DC. é um dos que vem tendo sua circunscrição recentemente reavaliada. Sabendo que a família é reconhecida por suas espécies apresentarem grande diversidade de metabólitos secundários, o objetivo deste estudo foi analisar histoquimicamente três espécies do gênero *Eumachia* a fim de verificarmos a existência de compostos secundários e buscarmos relações com adaptações ambientais, além de compostos que auxiliem na delimitação das espécies. Para isso, foram selecionadas *Eumachia guianensis* (Bremek.) Delprete & J.H. Kirkbr, *E. inconspicua* (C.M.Taylor) C.M.Taylor & Razafim e *E. kappleri* (Miq.) Delprete & J.H. Kirkbr, (espécies com ocorrência na Amazônia mato-grossense), encontradas em três áreas distintas. Coletaram-se três indivíduos de cada espécie e, para cada indivíduo, com auxílio de lâmina de aço, realizou-se cortes transversais a mão livre da região mediana da raiz, caule e folha. As secções histológicas obtidas foram submetidas a testes histoquímicos buscando avaliar a existência de alcaloides, amido, compostos fenólicos, esteroides, lactonas sesquiterpênicas, lipídios totais, mucilagens, óleos essenciais, taninos e terpenóides. Para a documentação fotográfica das secções, foram montadas lâminas semipermanentes, posteriormente observadas em fotomicroscópio Leica ® ICC50. Através dos testes histoquímicos foi constatada a presença de amido, compostos fenólicos, lipídios totais, mucilagens e óleos. Os compostos encontrados nas espécies em estudo revelam capacidade adaptativa, uma vez que estão relacionados com a capacidade de proteção contra patógenos e à retenção de água, porém esses compostos não podem contribuir com a delimitação taxonômica de espécies do gênero, pois são compostos comumente encontrados na família Rubiaceae.

Palavras chave: Adaptação; compostos secundários; Rubiaceae; testes histoquímicos.

ABSTRACT

Rubiaceae Juss., the fourth largest family among the angiosperms has, mostly, shrub species that are often found under anus. In Brazil the family contributes in a representative way in all the phytogeographic domains and among its most diverse genera, *Eumachia* DC is a genus whose circumscription has been recently reevaluated. Knowing that the family Rubiaceae is recognized for its species present a great diversity of secondary metabolites, the objective of this study was to histochemically analyze three species of the genus *Eumachia* in order to verify the existence of secondary compounds and to seek relations with environmental adaptations besides, compounds that aid identification of species. *Eumachia guianensis*, *Eumachia inconspicua* and *Eumachia kappleri* (species occurring in the northern state of Mato Grosso), were found in three distinct areas. Three individuals of each species were collected and, for each individual, with the aid of a steel blade, cross-sections were performed by the free hand of the middle region of the root, stem and leaf. Histological sections were submitted to histochemical tests to evaluate the existence of alkaloids, starch, phenolic compounds, steroids, sesquiterpene lactones, total lipids, mucilages, essential oils, tannins and terpenoids. For the photographic documentation of the sections, semipermanent slides were mounted, later observed in a Leica ® ICC50 photomicroscope. The presence of starch, phenolic compounds, total lipids, mucilages and oils were observed through the histochemical tests. The compounds found in the species under study reveal an adaptive capacity, since they are related to the capacity of protection against pathogens and to water retention, however these compounds can not contribute with the taxonomic identification of species of the genus, since they are compounds commonly found in the family Rubiaceae.

Keywords: Adaptation; secondary compounds, Rubiaceae; histochemical tests.

INTRODUÇÃO

Dentre as fitofisionomias existentes no Brasil, a floresta Amazônica é considerada a maior fonte de biodiversidade (VALLI, et al., 2016), onde se

estima encontrar 16% das 500 mil espécies de plantas existentes nos ecossistemas terrestres. Desse montante, menos de 10% foram estudadas quimicamente e apenas um pequeno número teve suas propriedades biológicas caracterizadas (TURINE & MACEDO, 2018).

As buscas pela descoberta das propriedades biológicas se concentram principalmente nas substâncias produzidas pelas plantas; em grande parte, metabólitos secundários (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). A origem de todos os metabólitos secundários decorre de estágios particulares de crescimento, desenvolvimento, períodos de estresse ou por questões nutricionais da planta (CRUZ, 2017). Os principais fatores que podem influenciar a taxa de produção de metabólitos secundários são sazonalidade, temperatura, herbivoria, ataques de patógenos, radiação UV e índice pluviométrico, entre outros (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SOBRINHO et al., 2009). Portanto, a concentração de constituintes químicos nas plantas depende dos estímulos gerados pelo ambiente, induzindo a biossíntese de vários metabólitos secundários de acordo com as relações ecológicas das plantas (CAVALCANTE et al., 2018).

Quando relacionados ao meio ambiente, os metabólitos secundários exercem a função adaptativa ou competitiva, atuando como mecanismo de defesa contra herbívoros, doenças e, ainda, produção de compostos que atraem animais dispersores de sementes e polinizadores ou que impedem a germinação de outras plantas ao seu redor, aumentando a probabilidade de sobrevivência de determinadas espécies (FUMAGALI et al., 2008; BRAZ, 2010), enquanto os metabólitos primários são essenciais para o desenvolvimento e crescimento da planta (LUCAS, 2000).

Todas as plantas produzem metabólitos secundários, no entanto, os tipos estruturais são frequentemente específicos e restritos a grupos de plantas taxonomicamente relacionados (WINK et al., 2010). A produção de metabólitos também está associada com a hipótese de disponibilidade de recursos, que prevê que as plantas investirão mais em defesa quando o custo de substituição de tecidos for alto; portanto, em ambientes mais hostis, haverá um maior investimento em mecanismos de defesa física e química ao longo do tempo evolutivo (MALDONADO et al., 2017).

Ditado pela evolução, o sucesso das plantas em ambientes inamistosos (incluindo a seca) envolve uma infinidade de respostas, como as respostas iniciais à alterações metabólicas de longo prazo que podem sustentar a aclimação e a sobrevivência (PINHEIRO & CHAVES, 2010).

Rubiaceae é reconhecida por suas espécies apresentarem grande diversidade de metabólitos secundários como iridoídeos, indólicos, antraquinonas, flavonoides, derivados fenólicos, diterpenos, triterpenos, e outros tipos de alcaloides (VALLI et al., 2016). Este fator confere às espécies elevada importância medicinal, econômica e ornamental, além da potencialidade tóxica (DE SOUZA et al., 2015).

O gênero *Eumachia* é considerado o menor de Rubiaceae; está inserido na tribo Palicoureeae, que por sua vez, conta com várias espécies removidas dos gêneros *Margaritopsis* C. Wright e *Psychotria* L., por critérios estabelecidos em dados moleculares e, também, por distribuição geográfica (ANDERSSON, 2001). Esse fato ampliou o seu conceito de ocorrência, pois em sua nova circunscrição tornou-se um gênero pantropical, com aproximadamente 83 espécies (TAYLOR, 2017), sendo 17 com ocorrência no Brasil (FLORA DO BRASIL 2020, em construção).

O objetivo desse estudo é analisar histoquimicamente três espécies do gênero *Eumachia*, para verificar a existência de compostos secundários e suas relações com adaptações ambientais, assim como a presença de compostos que auxiliem na identificação das espécies, colaborando, desse modo, com a taxonomia do gênero. A hipótese é que as espécies possuam compostos que evidenciem característica adaptativa assim como caracteres chave para sua identificação.

MATERIAL E MÉTODOS

Áreas de Estudo

O estado de Mato Grosso está localizado na região Centro-Oeste do Brasil e contempla uma vegetação representada por quatro classes principais de formação vegetal: Cerrado (savana), Floresta Ombrófila Densa Tropical, Floresta Ombrófila Aberta Tropical e Floresta Estacional Decidual Tropical (KUCHLA, 2015). O clima da região das áreas de coleta é quente e úmido, com

temperaturas médias anuais acima de 24°C, pluviosidade média anual acima de 2.400 mm, com uma estação seca definida de 3-5 meses (ZAPPI et al., 2011).

As coletas foram realizadas em três áreas (Fig. 1), sendo duas delas reservas florestais, onde foram coletadas os espécimes de *Eumachia guianensis* (Bremek.) Delprete & J.H.Kirkbr e *E. kappleri* (Miq.) Delprete & J.H.Kirkbr. A primeira área, situada no centro urbano do município de Alta Floresta, denominada Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (09°52'32"S, 56°06'05"W) possui 50 hectares de Floresta Ombrófila Densa (EMBRAPA, 2018) (Fig. 1A). Devido sua localização e fácil acesso, a área está sujeita a ações antrópicas. A segunda área, chamada RPPN Mirante da Serra, com 1.616,7 hectares, localizada no município de Novo Mundo (09°35'11"S, 55°55'10"W) (Fig. 1B); em conjunto com outras três unidades de preservação, abrange uma área de aproximadamente 6.500 hectares de vegetação com pouca/nenhuma perturbação antrópica (FUNDAÇÃO ECOLÓGICA CRISTALINO, 2018). Já *E. inconspicua* CM Taylor foi coletada numa área de fragmento florestal na zona rural do município de Alta Floresta, nomeada Sítio Ecológico da Paineira (9°47'56.4"S, 55°55'26.3"W) (Fig. 1D). Essa área está sujeita a ações antrópicas, por ter um apelo turístico.

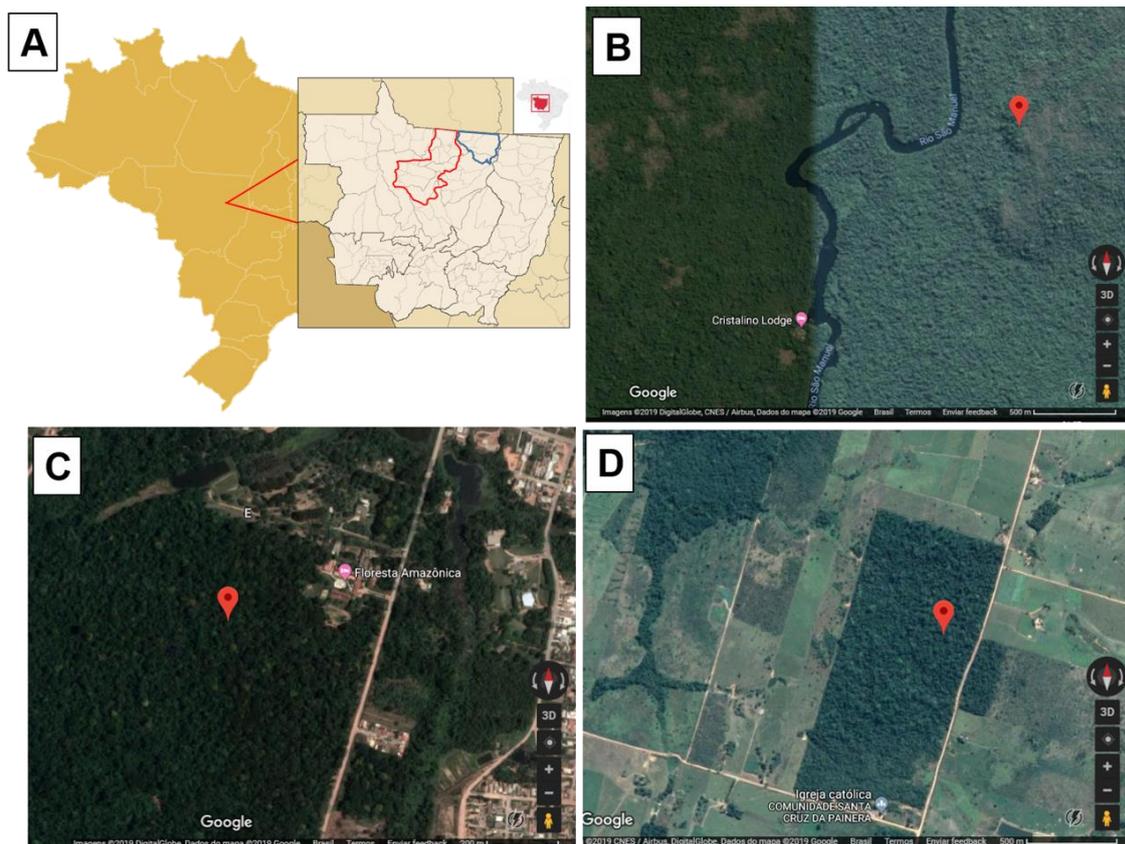


Figura 1: Áreas de coleta. A- Estado de Mato Grosso, município de Alta Floresta em vermelho; município de Novo Mundo em azul. B- Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort – Reserva FA; C- Reserva Particular do Patrimônio Natural - RPPN Mirante da Serra e D- Sítio Ecológico da Paineira.

Eumachia guianensis, *E. inconspicua* e *E. kappleri*, após identificadas, foram incorporadas ao acervo do Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM), sob os números de *vouchers* HERBAM 20429, HERBAM 23216 e HERBAM 20592, respectivamente.

Obtenção e análise dos dados histoquímicos

Para as análises histoquímicas coletaram-se três indivíduos de cada espécie, e para cada indivíduo, com auxílio de lâmina de aço, foram realizados cortes transversais, a mão livre com auxílio de lâmina de aço, da região mediana da raiz, caule e folha. As secções histológicas obtidas foram submetidas a testes listados na Tabela 1.

Tabela 1. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleripara* detecção de metabólitos secundários.

Grupos de Metabólitos	Reagente	Cor da reação
Alcaloides	Dragendorff (SVENDSEN & VERPOORTE, 1983)	Castanho-avermelhado
Amido	Lugol (JOHANSEN, 1940)	Marrom a negro
Compostos fenólicos gerais	Cloreto Férrico III (JOHANSEN, 1940)	Marrom a negro
Esteroides	Tricloreto de Antimónio (HARDMAN & SOFOWORA, 1972)	Vermelho-alaranjado
Lactonas sesquiterpênicas	Ácido Sulfúrico (GEISSMAN & GRIFFIN, 1971)	Vermelho-acastanhado
Lipídios totais	Sudan IV (PEARCE, 1980)	Vermelho
Mucilagem	Ácido Tânico (PIZZOLATO & LILLIE, 1973)	Negro
Óleos essenciais	Nadi (DAVID & CARDE, 1964)	Azul
Taninos	Vanilina Clorídrica (MACE & HOWELL, 1974)	Vermelho
Terpenoides	2-4-Dinitrofenilhidrazina (GANTER & JOLLÉS, 1970)	Vermelho-alaranjado

A documentação fotográfica das secções foi obtida com a montagem de lâminas semipermanentes, observadas em fotomicroscópio Leica ® ICC50, acoplado a um computador para registros de fotomicrografias com auxílio do software LAZ EZ 1.7.0.

RESULTADOS

Os testes histoquímicos possibilitaram a identificação e a presença de diversos compostos secundários nas três espécies estudadas (Tabela 2).

Tabela 2. Resultado dos testes histoquímicos realizados em *Eumachia guianensis*, *E. inconspicua* e *E. kappleri*.

Espécies		<i>E. guianensis</i>			<i>E. inconspicua</i>			<i>E. kappleri</i>		
		R	C	F	R	C	F	R	C	F
Reativos/Testes	Metabólitos Secundários									
Dragendorff	Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lugol	Amido	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Cloreto de Ferro III	Compostos Fenólicos	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Tricloreto de Antimônio	Esteroides	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido Sulfúrico	Lactonas sesquiterpenicas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sudan IV	Lipídeos Totais	-	+	+	-	+	+	-	+	+
Ácido Tânico	Mucilagens	-	+	+	-	-	-	-	+	+
Nadi	Óleos essenciais	+	+	+	-	-	+	-	+	+
Vanilina clorídrica	Taninos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,4 Dinitrofinil-hidrazina	Terpenoides	-	+	+	-	-	-	-	-	-

*R: Raiz; C: Caule; F: Folha. (+): Reação positiva; (-): Reação negativa.

Dos dez testes realizados nas espécies em questão, cinco se manifestaram de forma positiva em pelo menos duas delas. Através dos testes histoquímicos em *Eumachia guianensis* observou-se a presença de amido e compostos fenólicos na folha: no parênquima de preenchimento da nervura central (Figs. 2A e 2E, respectivamente), no parênquima paliçádico do mesofilo (Figs. 2B e 2F, respectivamente); no pecíolo: no parênquima de preenchimento (Figs. 2C e 2G, respectivamente) e no caule: no parênquima cortical (Figs. 2D e 2H, respectivamente). Lipídios totais estão presentes em vários tecidos da folha, como no parênquima da nervura central (Fig. 2I), por todo o mesofilo sendo que a maior concentração foi no parênquima paliçádico (Fig. 2J). No pecíolo os lipídios estão presentes no parênquima das projeções laterais (Fig. 2K) e no caule estão presentes no parênquima medular (Fig. 2L).

Foram detectadas mucilagens na folha: no parênquima da nervura central e no parênquima paliçádico (Figs. 2M e 2N, respectivamente), no parênquima de preenchimento do pecíolo voltado para a face adaxial (Fig. 2O) e no caule, no parênquima cortical (Fig. 2P). Óleos essenciais foram encontrados na folha na nervura central, no parênquima e nos tricomas tectores (Fig. 2Q); no pecíolo os óleos se apresentaram nos tricomas, epiderme e parênquima (Fig. 2R), no caule, na epiderme e parênquima (Fig. 2S) e na feloderma da raiz (Fig. 2T). Terpenóides foram evidenciados na nervura central, no parênquima do pecíolo e do caule (Figs. 2U-Y).

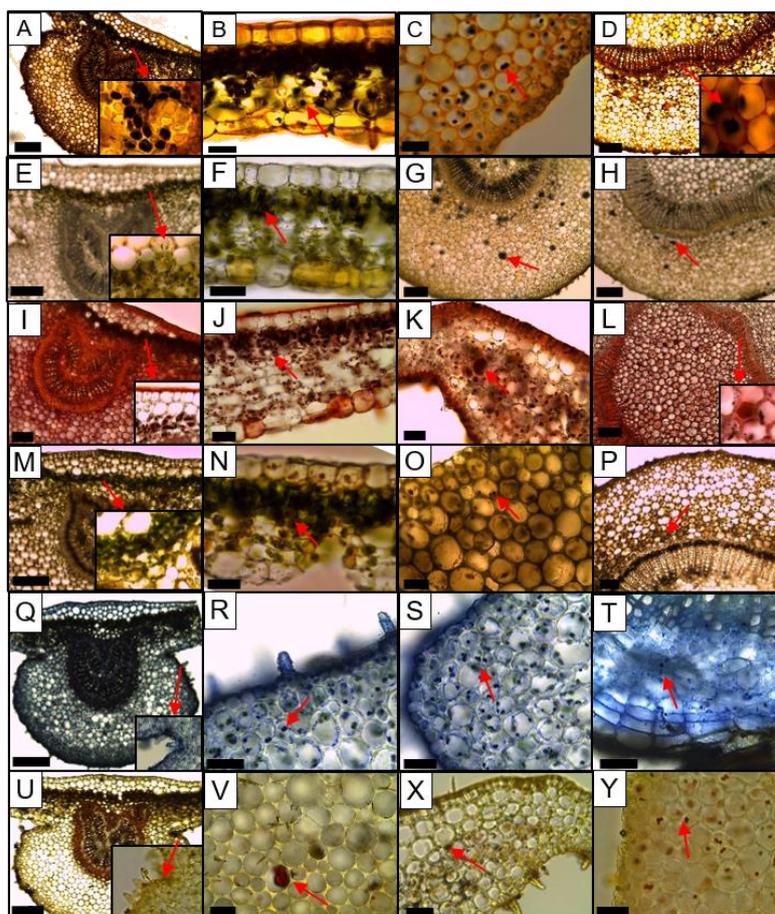


Figura 2. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia guianensis*, detectando: Amido na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2A-D, respectivamente); compostos fenólicos na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2E-H, respectivamente); lipídios totais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2I-L, respectivamente); mucilagens na nervura central, no mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 2M-P, respectivamente), óleos essenciais na nervura central, pecíolo, caule e raiz (Figs. 2Q-T, respectivamente) e terpenóides na nervura central, pecíolo e caule (Figs. 2U-Y). Barras: A; D; E; G; H; L; R e V= 200 µm; I; M e P= 100 µm; B; C; F; J; K; N; O; Q; S; T; U; X e Y= 50 µm.

Os testes histoquímicos em *Eumachia inconspicua* revelaram amido e compostos fenólicos nas seguintes regiões da folha: no parênquima de preenchimento da nervura central (Figs. 3A e 3E, respectivamente); no pecíolo: no parênquima de preenchimento na face abaxial (Figs. 3B e 3F, respectivamente). No caule foram encontrados no parênquima cortical (Figs. 3C e 3G, respectivamente). Constatou-se ainda, a presença de amido na região do feixe vascular da raiz (Fig. 3D).

Verificou-se a presença de lipídios totais nas seguintes partes da folha: no parênquima da face adaxial da nervura central e no parênquima paliçádico e parênquima lacunoso (Figs. 3H e 3I), no pecíolo os lipídios foram encontrados no parênquima abaxial (Fig. 3J) e no periciclo do caule (Fig. 3K). Mucilagens foram notadas apenas no parênquima do pecíolo (Fig. 3L), e no parênquima do caule (Fig. 3M). Óleos essenciais foram notados na epiderme e no parênquima da nervura central da folha e na epiderme e parênquima do pecíolo (Figs. 3N e 3O, respectivamente).

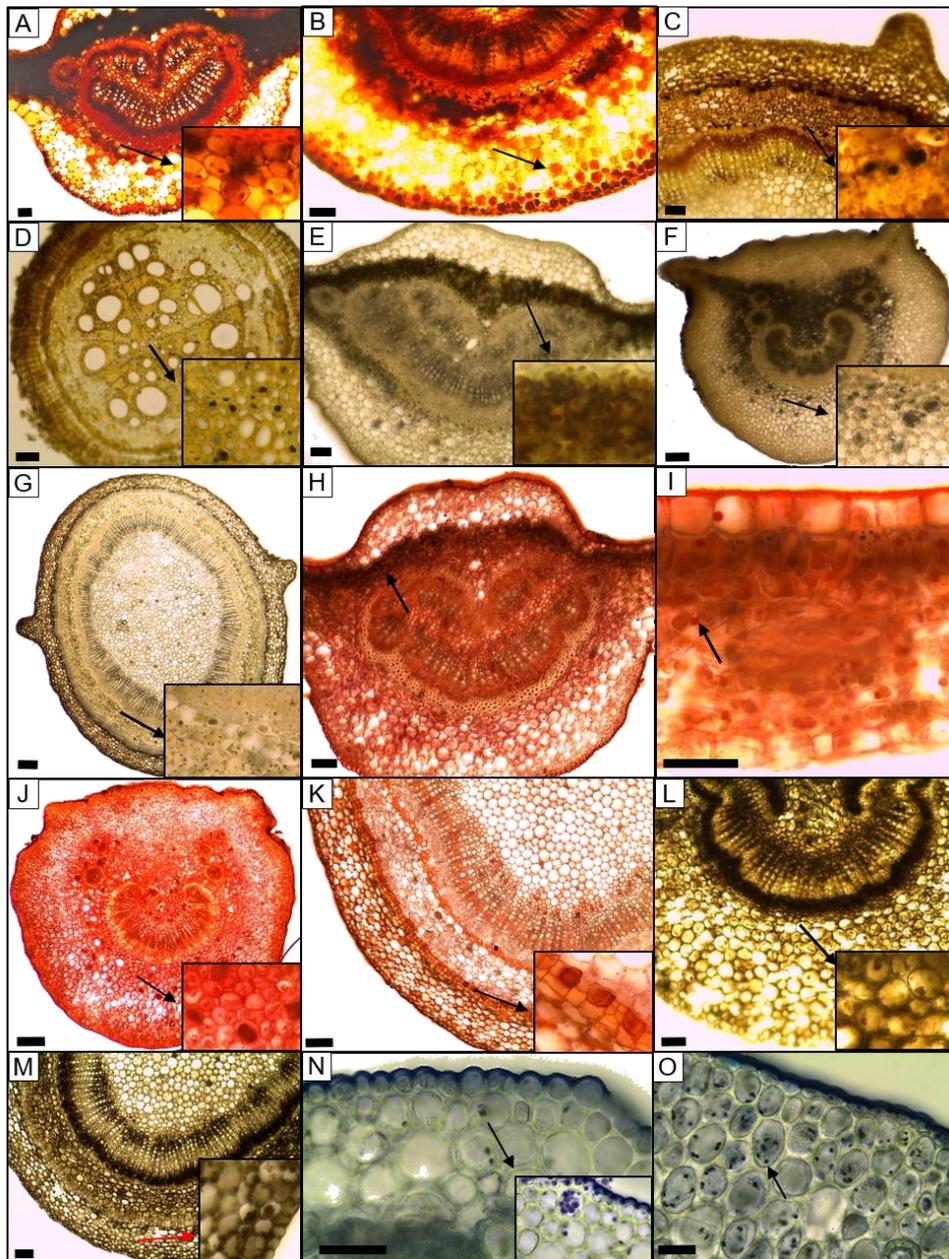


Figura 3. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia inconspicua* revelando: Amido na nervura central, pecíolo, caule e raiz (Figs. 3A-D, respectivamente); compostos fenólicos na nervura central, pecíolo e caule (Figs. 3E-G, respectivamente); lipídios totais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 3H-K, respectivamente); mucilagens no pecíolo e caule (Figs. 3L, 3M, respectivamente) e óleos essenciais na nervura central e pecíolo (Figs. 3N, 3O, respectivamente). Barras: A; B; C; D; E; H; K; L e M= 100 μ m; I; N e O= 50 μ m e F; G e J= 200 μ m.

A espécie *Eumachia kappleri* possui amido, compostos fenólicos e lipídios totais na folha: no parênquima voltado para a face adaxial da nervura central (Figs. 4A, 4F e 4J, respectivamente) e em ambos os parênquimas do mesofilo (Figs. 4B, 4G e 4K, respectivamente); no pecíolo: no parênquima de preenchimento (Figs. 4C, 4H e 4L, respectivamente); na região parenquimática do caule (Figs. 4D, 4I e 4M, respectivamente). Nota-se a presença de amido no feloderma da raiz (Fig. 4E).

Evidências de mucilagens foram registradas no parênquima voltado para a face adaxial da nervura central (Fig. 4N); no parênquima adaxial do pecíolo (Fig. 4O); e na região cortical do caule (Fig. 4P). Óleos essenciais foram notados no parênquima da face adaxial da nervura central (Fig. 4Q); no parênquima paliçádico do mesofilo (Fig. 4R); no parênquima voltado para a abaxial do pecíolo (Fig. 4S) e do caule (Fig. 4T).

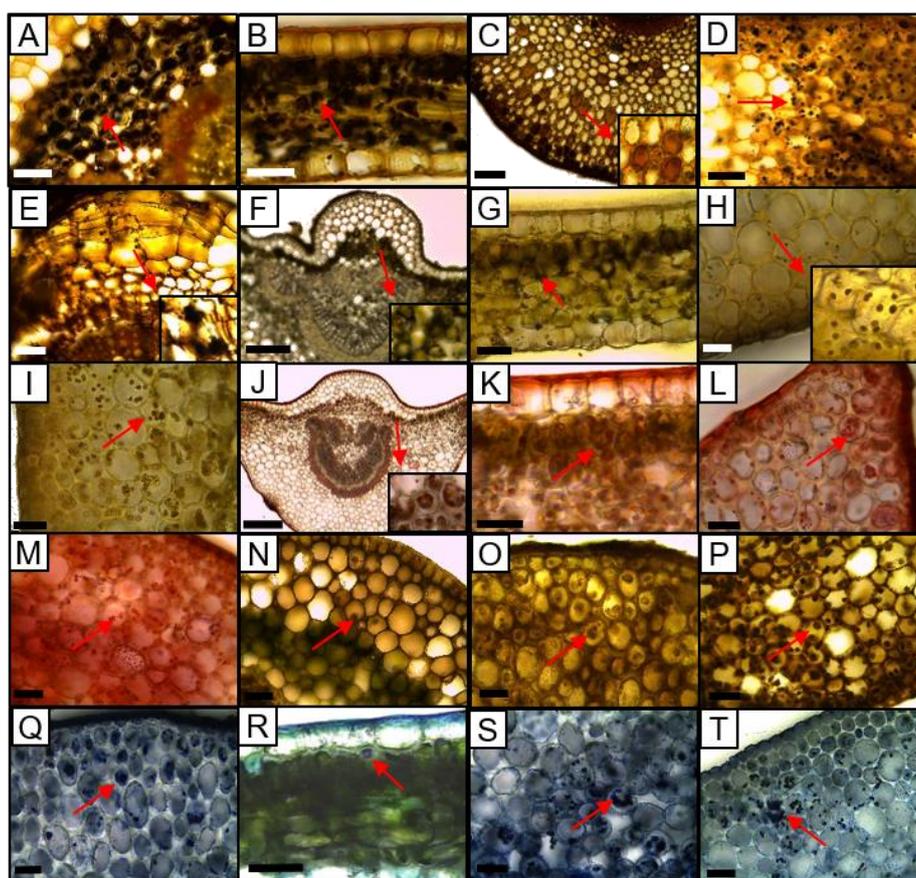


Figura 4. Testes histoquímicos realizados em *Eumachia kappleri* revelando: Amido na nervura central, mesofilo, pecíolo, caule e raiz (Figs. 4A-E, respectivamente); compostos fenólicos na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 4F-I, respectivamente); lipídios totais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 4J-M, respectivamente); mucilagens na nervura central,

pecíolo e caule (Figs. 4N-P, respectivamente) e Óleos essenciais na nervura central, mesofilo, pecíolo e caule (Figs. 4Q-T, respectivamente). Barras: A= 100 µm; B; D; E; F G; H; I; K; L; M; N; O; P; Q; R; S e T= 50 µm; C e J= 200 µm.

DISCUSSÃO

Rubiaceae é conhecida como uma fonte prolífica de alcaloides (NASCIMENTO et al., 2015), porém neste estudo, não se encontrou tal composto em nenhuma das três espécies. Os metabólitos secundários como amido, compostos fenólicos, lipídios totais e óleos essenciais, estiveram presentes em pelo menos dois dos três órgãos testados nas três espécies. No geral, estes compostos estão associados com a proteção do indivíduo em relação ao meio ambiente, seja pelo armazenamento de energia à capacidade de reter água (CAVALCANTE et al., 2018). Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos (DE MORAIS, 2009).

O amido, composto vital e comumente encontrado nos vegetais, atua principalmente com a função de reserva energética na planta, e também é importante fonte de energia para os níveis subsequentes da cadeia alimentar nos ecossistemas (AMARAL et al., 2007). É possível encontrar concentrações de amido nas células da epiderme foliar; nos cloroplastos das células-guarda que circundam o poro estomático, e através de mudanças reversíveis na pressão de turgescência. Eles controlam a abertura e fechamento do poro estomático em resposta a fatores ambientais maximizando a captação de CO₂, evitando, assim, a perda excessiva de água pela transpiração (REFERENCIAR). Nos tecidos fotossintéticos, o amido é sintetizado nos cloroplastos das células do mesofilo durante o dia e remobilizado à noite, fornecendo carbono e energia para manutenção e crescimento (SANTELIA & LUNN, 2017). Em temperaturas abaixo do ótimo térmico, a capacidade de regeneração da enzima RuBP muitas vezes se torna limitante para a fotossíntese, interferindo na síntese de amido e conseqüentemente em sua concentração (GONDIM, et al., 2010).

As espécies aqui estudadas desenvolveram diferentes mecanismos, como acúmulo de fotoprotetores e antioxidantes. Esses mecanismos podem

estar relacionados com a dissipação e/ou diminuição na exposição à energia solar excessiva, evitando, assim, possíveis danos foto-oxidativos, corroborando Holub et al. (2019). Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010), estando relacionados com a proteção, pois conferem alta resistência a microrganismos e pragas (ROCHA et al., 2011).

A região onde as espécies foram coletadas possui uma sazonalidade bem definida, com uma estação chuvosa de outubro a abril e estiagem de maio a setembro. Essa sazonalidade implica na manutenção do funcionamento dos vegetais, devido o fornecimento de água. A produção de lipídios auxilia nesse processo, pois os lipídios são substâncias hidrofóbicas, e essa repulsão de água tem importante papel ecológico, pois impede a germinação de esporos de fungos e a multiplicação de bactérias, atuando também na função de evitar a perda excessiva de água (PERES, 2018).

A mucilagem presente nas duas espécies estudadas auxilia na preservação de água, pois possui a capacidade de reter água através de complexos polissacarídicos (RAGHU et al., 2019). Mucilagem, assim como em *E. guianensis* e *E. kappleri* também está presente em outras espécies de Rubiaceae, como no fruto seco de *Coffea* autor, que apresenta entre 22–31%, compondo-se principalmente por água (84,2%) (DURÁN et al., 2017).

Os óleos essenciais estão presentes nas três espécies estudadas, e podem ser definidos como material volátil presente em vários órgãos das plantas e, geralmente, de odor e fragrância característica (CAPITANGO, 2017). Devido à complexidade da composição química dos óleos essenciais, assume-se que existem vários mecanismos de ação, que não estão ainda bem definidos, que podem resultar na inibição de agentes patogênicos. Tais mecanismos podem ser, por exemplo, a desnaturação de proteínas, inibição de enzimas e/ou desintegração da membrana celular dos fungos, levando ao extravasamento do líquido celular (BAKKALI et al., 2008; ROZWALKA et al., 2010). Um dos fatores relevantes na alteração do rendimento e composição química dos óleos essenciais é a precipitação: chuvas intensas e constantes podem resultar na perda de substâncias hidrossolúveis, presentes principalmente nas folhas, assim como a intensidade luminosa é um fator que

influencia a concentração, bem como a composição dos óleos essenciais (DE MORAIS, 2009).

Em um estudo realizado por Silva (2016), com *Diodia teres* autor (Rubiaceae) os resultados da histoquímica, assim como nas espécies de *Eumachia* mostraram a presença de compostos fenólicos, amido e lipídios em raízes e caules, esses compostos revelam uma importante adaptação em plantas de ambiente xérico, uma vez que tais substâncias fornecem capacidade de proteção.

CONCLUSÃO

Os compostos secundários encontrados para as três espécies auxiliam na compreensão de processos adaptativos relacionados à defesa da planta, assim como nos processos fisiológicos, podendo estes ser relacionados a adaptações ambientais. No entanto, não é possível designá-los como compostos que definem a delimitação do gênero, uma vez que tais compostos são comuns para espécies de Rubiaceae. Porém, fazemos um alerta para a ausência de alcalóides ser possivelmente uma característica de *Eumachia*, por esse composto ser amplamente encontrado para a família.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, L. I. V. D., GASPAR, M., COSTA, P. M. F., AIDAR, M. P. M., & BUCKERIDGE, M. S. A new rapid and sensitive enzymatic method for extraction and quantification of starch in plant material. **Hoehnea**, v. 34, n. 4, p. 425-431, 2007.

ANDERSSON, L. Margaritopsis (Rubiaceae, Psychotrieae) is a pantropical genus. **Systematics and Geography of Plants**. v. 71, n. 1, p. 73-85, 2001.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446–475, 2008.

BRAZ, R. F. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v.33, n.1, p. 229-239, 2010.

CAPITANGO, P. A botânica na obra poética de Agostinho Neto. **Revista Cognosis**, v. 1, n. 3, p. 95-106, 2017.

CAVALCANTE, A. D., CARDOSO, G. A., DE OLIVEIRA, F. L., BEARZOTI, E., OKUMA, A. A., DUARTE, L. P., & VIEIRA-FILHO, S. A. Influence of

Environmental Factors and Cultural Methods on the Content of N, N-Dimethyltryptamine in *Psychotria viridis* (Rubiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 6, p. 1245-1255, 2018.

CRUZ, F. S. **Estudo químico e histoquímico das folhas de *Duroia longiflora* Ducke (Rubiaceae)**. 2017.92 folhas. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2017.

DAVID R. & CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif nadi. **CR Acad Sci Paris D**, v. 258, p. 1338-1340, 1964.

DE MELO, J. N. & OLIVEIRA, J. V. N. Caracterização morfológica de *Mussaenda erythrophylla* e *Mussaenda alicia* (Rubiaceae) no paisagismo de Caxias, Maranhão. **Revista Ciência & Saberes-Facema**, v. 4, n. 1, p. 794-797, 2018.

DE MORAIS, L. A. S. **Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais**. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). Horticultura Brasileira, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, 2009.

DE SOUZA, E. S., NOVAES, J. A., DE CARVALHO CURSINO, L. M., DE OLIVEIRA, A. C., DE OLIVEIRA, J. A. A., NUNEZ, C. V., ... & DE SOUZA PINHEIRO, C. C. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 604-613, 2015.

DURÁN, C. A., TSUKUI, A., SANTOS, F., MARTINEZ, S. T., BIZZO, H. R., & REZENDE, C. M. Café: Aspectos gerais e seu aproveitamento para além da bebida. **Revista Virtual Química**, v. 9, n. 1, p. 107-134, 2017.

EMBRAPA. Embrapa Florestas. Disponível em <<http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/aspec.htm>>. Acesso em 16 Nov. 2018.

EVERETTE, J. D., BRYANT, Q. M., GREEN, A. M., ABBEY, Y. A., WANGILA, G. W., & WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 8.139-8.144, 2010.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 11 Nov. 2018.

FUMAGALI, E., GONÇALVES, R. A. C., MACHADO, M. F. P. S., VIDOTI, G. J., & OLIVEIRA, A. J. B. D. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

FUNDAÇÃO CRISTALINO. Incalculável valor para a Biodiversidade. Disponível em <<http://www.fundacaocristalino.org.br/o-que-fazemos/reservas-naturais-do-cristalino/>>. Acessado em 16 Nov. 2018

GANTER, P., & JOLLÉS, G. Histologie normale et pathologique. **Gauthier-Villars**, 1904p. 1969.

GEISSMAN, T. A., & GRIFFIN, T. S. Sesquiterpene lactones: acid-catalysed color reactions as an aid in structure determination. **Phytochemistry**, v. 10, n. 10, p. 2475-2485, 1971.

GOBBO-NETO, L., & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GONDIM, TM DE S.; CAVALCANTE, LOURIVAL FERREIRA; BELTRAO, NE DE M. Aquecimento global: salinidade e consequências no comportamento vegetal. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 14, n. 1, p. 37-54, 2010.

HARDMAN, R., & SOFOWORA, E. A. Antimony trichloride as test reagents for steroids, especially diosgenin and yamogenin, in plant tissues. **Stain Technology**, v. 47, p. 205-208, 1972.

HOLUB, P., NEZVAL, J., STROCH, M., SPUNDA, V., URBAN, O., JANSEN, M. A., & KLEM, K. Induction of phenolic compounds by UV and PAR is modulated by leaf ontogeny and barley genotype. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 134, p. 81-93, 2019.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; 530p, 1940.

KUCHLA, W. J.; STEPKA, T. F.; SAWCZUK, A. R. & DOS SANTOS LISBOA, G. Florística, estrutura horizontal e distribuição diamétrica em área de transição de cerrado e floresta aluvial no município de Campos de Júlio–MT. **Ambiência**, v. 11, n. 1, p. 13-30, 2015.

LUCAS, P. W., TURNER, I. M., DOMINY, N. J., & YAMASHITA, N. Mechanical defences to herbivory. **Annals of Botany**, v. 86, n. 5, p. 913-920, 2000.

MACE, M.E. & HOWELL, C.R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in root of cotton seedlings. **Canadian Journal of Botany**, v. 52, p. 2423-2426. 1974.

MALDONADO, C., BARNES, CJ, CORNET, C., HOLMFRED, E., HANSEN, SH, PERSSON, C., ... & RNNSTED, N. A filogenia prediz a quantidade de alcalóides antimaláricos dentro da icônica casca de *Cinchona* amarela (Rubiaceae: *Cinchona calisaya*). **Fronteiras na Ciência das Plantas**, v. 8, p. 391, 2017.

NASCIMENTO, R. R.; PIMENTA, A. T.; LIMA NETO, P. D.; JUNIOR, C.; JOSÉ, R.; COSTA-LOTUFO, L. V. & LIMA, M. A. New Alkaloids from *Margaritopsis*

carrascoana (Rubiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 6, p. 1152-1159. 2015.

PEARCE, J. A. Geochemical evidence for the genesis and eruptive setting of lavas from Tethyan ophiolites. In: **Proceedings of the International Ophiolite Symposium**. Ministry of Agriculture and Natural Resources, Cyprus. p. 261-272, 1980.

PERES, L.E.P. **Metabolismo Secundário das plantas**. Disponível em <<http://www.oleosessenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas>>. Acessado em 26 de out de 2018.

PINHEIRO, C., & CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data?. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 3, p. 869-882, 2010.

PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 21, p. 56-64. 1973.

RAGHU, K.; NAIDOO, Y., & DEWIR, Y. H. Secretory structures in the leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 16-25, 2019.

ROCHA, W. S., LOPES, R. M., SILVA, D. D., VIEIRA, R. F., SILVA, J. D., & AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

ROZWALKA, L.C.; ALVES, E., & AMARAL, D.C. Ultra structural study of conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum musae* treated with essential oils. **Interciencia**, v. 35, n. 12, p. 912-915, 2010.

SANTELIA, D., & LUNN, J. E. Transitory starch metabolism in guard cells: unique features for a unique function. **Plant physiology**, v. 174, n. 2, p. 539-549, 2017.

SILVA, S. R. S. **Adaptações morfoanatômicas de herbáceas em resposta a condições xéricas**. 2016. 74 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2016.

SOBRINHO, T. J. S.; CARDOSO, K. C. M.; GOMES, T. L. B.; ALBUQUERQUE, U. P. & AMORIM, E. L. Análise da pluviosidade e do efeito de borda sobre os teores de flavonóides em *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud, Fabaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 3, p. 740-745, 2009.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 17 Nov. 2018.

SVENDSEN, A.B., & VERPOORTE, R. **Chromatography of alkaloids**. Elsevier Scientific Publish Company, New York. 503 p. 1983.

TAYLOR, C. M., RAZAFIMANDIMBISON, S. G., BARRABÉ, L., JARDIM, J. G., & BARBOSA, M. R. V. *Eumachia* expanded, a pantropical genus distinct from *Psychotria* (Rubiaceae, Palicoureeae). **Candollea**, v. 72, n. 2, p. 289-318, 2017.

TURINE, J. A. V., & MACEDO, M. L. R. Direitos humanos, comunidades tradicionais e biodiversidade: desafios para o desenvolvimento sustentável. **Revista Direito**, v. 3, n. 2, p. 175-194, 2018.

VALLI, M.; YOUNG, M. C. M., & BOLZANI, V. S. A Beleza Invisível da Biodiversidade: O Táxon Rubiaceae. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 296-310, 2016.

WINK, M., BOTSCHEN, F., GOSMANN, C., SCHÄFER, H., & WATERMAN, P. G. Chemotaxonomy seen from a phylogenetic perspective and evolution of secondary metabolism. **Annual Plant Reviews**, v. 40, p. 364-433, 2010.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies do gênero *Eumachia* aqui estudadas, apresentam características morfoanatômicas semelhantes ao que já foi descrito para os demais gêneros de Rubiaceae.

No entanto, neste estudo foi possível documentar a ocorrência de compostos secundários e características anatômicas que favorecem a adaptação das espécies ao meio em que vivem. Torna-se evidente a importância de avaliar a plasticidade em diferentes populações, tal qual relacionar caracteres anatômicos com a taxonomia, desse modo, contribuir com o conhecimento de espécies de Rubiaceae na Amazônia mato-grossense onde a família apresenta uma significativa diversidade tão pouco estudada.

Esse estudo é pioneiro na descrição morfoanatômica e histoquímica de espécies de *Eumachia* ocorrentes na Amazônia mato-grossense, trazendo informações importantes que auxiliam em estudos taxonômicos, podendo contribuir para a delimitação do gênero que ainda possui inconscistências em relação a sua circunscrição.