## Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

# Sistema subterrâneo e proteção das gemas aéreas de *Psidium grandifolium* Mart. Ex Dc. ocorrentes em área de Cerrado natural e Cerrado em regeneração

## Rodrigo Faleiro de Lima

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

Piracicaba 2021 Rodrigo Faleiro de Lima Engenheiro Florestal

Sistema subterrâneo e proteção das gemas aéreas de *Psidium grandifolium* Mart. Ex Dc. ocorrentes em áreas de Cerrado natural e Cerrado em regeneração versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

> Orientador: Profa. Dra. **BEATRIZ APPEZZATO-DA-GLÓRIA**

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

Piracicaba 2021

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Lima, Rodrigo Faleiro de

Sistema subterrâneo e proteção das gemas aéreas de *Psidium grandifolium* Mart. Ex Dc. ocorrentes em área de Cerrado natural e Cerrado regeneração / Rodrigo Faleiro de Lima. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

52 p.

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

1. Banco de gemas 2. Tricomas 3. Gemas acessórias 4. Rebrotamento 5. Xilopódio I. Título

# Dedico esta dissertação as minhas avós Myrieluci Costa Nunes e Francisca Faleiro Guedes, por todo amor que sempre me concederam, para elas, minha gratidão

#### AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado, que possibilitou a realização deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro para a realização da pesquisa (processo 2018/18887-5).

Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Beatriz Appezzato da Glória por me receber em seu laboratório, pelos ensinamentos, paciência, por ter me apresentado ao maravilhoso mundo das estruturas subterrâneas e compartilhado seus conhecimentos sobre anatomia das plantas do Cerrado, ao qual, sou muito grato.

À Ms. Marli K. M. Soares, técnica responsável pelo laboratório de Anatomia Vegetal da ESALQ - LanVeg, por toda a paciência e o amor empregado nos ensinamentos técnicos, ao qual foi fundamental durante minha trajetória no Mestrado.

Ao Prof. Dr. Cláudio Lima de Aguiar do Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados da ESALQ/USP pelo auxílio e orientação nas análises químicas.

À Dr<sup>a</sup>. Natashi Pilon pela identificação e coleta da espécie no campo.

Ao COTEC, Instituto Florestal do Estado de São Paulo (Ref. Proc. SMA n.003.809 / 2016) por autorizar as coletas na área da Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara.

À Dra. Giselda Durigan (Instituto Florestal / SP) que nos apresentou a área de estudo.

Ao Sr. Marcos Barbosa Soler, técnico da Estação Ecológica de Santa Bárbara, pelo auxílio durante as coletas de campo.

Ao Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima e ao técnico Renato Barbosa Salaroli do Laboratório de Microscopia Eletrônica Professor Dr. Elliot Watanabe Kitajima da ESALQ/USP, pelo uso dos equipamentos.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP e ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, por possibilitar a realização do curso de Mestrado.

À Maria Solizete Granziol, secretária do Programa de Pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, por toda assistência prestada durante o Mestrado.

A todos os colegas do LanVeg, Alexandre Ferrado, Lucas Barbosa, Julia Dias, Magda Tesmer e Gabriel Valverde, por todas as risadas e excelentes conversas ao longo dessa caminhada.

Agradecimento especial à Gabriela Silva e Marcia Dias, por todos os momentos compartilhados juntos, por todas as risadas, por todo companheirismo, pelo incentivo, pelas

reflexões, pela empatia e principalmente, por todo amor e alegria que me transmitem. Eu sou extremamente grato por ter conhecido vocês, sempre terão um lugar especial na minha vida.

Agradeço todas as pessoas que conheci em Piracicaba, principalmente ao Mateus Santin, por todo companheirismo e carinho ao longo desses dois anos.

Agradeço a minha irmã Debora Lima, por todo amor que sempre me proporciona com seu grande coração!

Agradeço às minhas tias Kely Cristina e Cristiane Faleiro por sempre estarem do meu lado, por todo amor e carinho que me concederam durante todos os momentos. Agradeço à minha prima Adrielly Cristina pela sua admiração e carinho!

Agradeço meus avós Waldir Faleiro e Francisca Faleiro pela preocupação constante comigo, por todas as mensagens, abraços e carinho que me proporcionam! Obrigado por sempre acreditarem nos meus sonhos!

Agradeço a meu pai, Humberto Faleiro, por ser um exemplo de homem com caráter e justiça, ao qual sempre foi meu exemplo, estando sempre ao meu lado, não importando nada além da minha felicidade. Obrigado por sempre acreditar nos meus sonhos!

Agradeço à minha mãe, Yara Patricia, por ser a mulher mais guerreira, inteligente, gentil, bondosa e linda que tive o prazer de conhecer! Independente de tudo, é a pessoa que sempre torceu pela minha vitória, movendo montanhas para realizar meus sonhos. Sem você mainha, nada disso seria possível!

Agradeço todos meus amigos de graduação que ainda continuam torcendo pela realização dos meus sonhos.

Agradeço às minhas professoras de graduação Dr<sup>a</sup>. Sybelle Barreira e Dr<sup>a</sup>. Letícia Gonçalves, por sempre me orientarem com muito carinho e paciência.

Por fim, agradeço todo mundo que de alguma forma contribuiu para que este trabalho fosse desenvolvido.

# EPÍGRAFE

"Eu não sou ninguém

além de mim

Você é você

e mesmo assim

Eu não posso ser

além de mim

Você é você"

Alice Caymmi

# SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1. Área de estudo e material botânico	15
2.2. Sistema subterrâneo	17
2.3. ANÁLISE DO BANCO DE GEMAS SUBTERRÂNEO	
2.4. Condutividade hidráulica potencial e análise do xilema secundário	
2.5. Análise química das raízes	20
2.6. Proteção das gemas aéreas	21
3. RESULTADOS	23
3.1. Análise morfológica do sistema subterrâneo	23
3.2. Análise anatômica do sistema subterrâneo	26
3.3. Análise química das raízes	
3.4. Proteção das gemas aéreas	30
3.5. Coléteres	33
4. DISCUSSÃO	35
5. CONSIDERAÇOES FINAIS	41
REFERÊNCIAS	43

#### **RESUMO**

# Sistema subterrâneo e proteção das gemas aéreas de *Psidium grandifolium* Mart. ex Dc. ocorrentes em área de Cerrado natural e Cerrado em regeneração

O Cerrado é a savana com maior biodiversidade no mundo, porém vem sofrendo grande pressão antrópica devido às práticas agrícolas. Nas décadas de 1960 e 1970 houve a introdução de plantios comerciais de Pinus spp. em áreas de Cerrado causando invasão e supressão da vegetação nativa. Na Estação Ecológica de Santa Barbara (EEcSB), práticas como o corte raso das árvores e a queima do material remanescente estão sendo empregadas visando recuperar a vegetação nativa. Numa área da EEcSB onde tal prática foi conduzida houve o rebrotamento de várias espécies, entre elas, Psidium grandifolium, que ocorre naturalmente em fisionomias campestres na mesma estação. O objetivo do trabalho foi comparar plantas de *P. grandifolium* crescendo em duas áreas distintas na EEcSB, para testar a hipótese de que as características morfo-anatômicas e químicas das plantas de P. grandifolium diferem nas duas áreas de ocorrência na EEcSB devido à interferência do cultivo de *Pinus* e das condições de crescimento das plantas após a sua remoção e queima. Para testar esta hipótese foram coletadas três plantas numa área em regeneração e três plantas numa área natural. Foram analisados os sistemas subterrâneos e as gemas aéreas das seis plantas. Em ambas as áreas de estudo, as plantas apresentaram xilopódio lenhoso cuja porção superior consiste em um eixo delgado caulinar seguido de uma raiz tuberizada de morfologia fusiforme. No entanto, na área natural os xilopódios eram orientados verticalmente no solo, enquanto, na área em regeneração, houve uma curvatura no eixo caulinar alterando a orientação do xilopódio de vertical para horizontal. A relação entre a parte aérea e o sistema subterrâneo foi proporcionalmente maior nas plantas da área natural. A condutividade hidráulica foi maior na área em regeneração, demonstrando que a curvatura do xilopódio não afetou o transporte de água nas plantas. O banco de gemas subterrâneo foi três vezes maior na área em regeneração, pois o comprimento do eixo caulinar e o número de ramos emitidos pelo xilopódio foi maior. No floema e xilema secundários, as células dos raios parenquimáticos apresentavam compostos fenólicos e grãos de amido. As análises químicas das raízes mostraram diferença significativa nas concentrações de carboidratos totais e flavonoides entre as áreas de estudo. A menor concentração de carboidratos totais na área em regeneração, refletiu os custos necessários para o rebrotamento e recuperação da parte aérea. As gemas aéreas eram protegidas por coléteres e primórdios foliares providos de tricomas unicelulares, cavidades secretoras e camadas celulares contendo fenóis. Os resultados do estudo confirmaram a hipótese testada. A cobertura de tricomas foi visualmente mais adensada na área em regeneração onde as plantas ficam mais expostas à luz do sol. O impedimento mecânico causado pelas raízes das árvores de Pinus na área em regeneração pode ter interferido na orientação do xilopódio e, consequentemente no banco de gemas subterrâneo.

**Palavras-chave:** Banco de gemas; Tricomas; Gemas acessórias; Rebrotamento; Xilopódio.

#### ABSTRACT

# Belowground system and aerial bud protection of *Psidium grandifolium* Mart. ex Dc. occurring in the natural Cerrado and Cerrado under regeneration

Cerrado is the highest biodiversity savanna in the world, however, has been suffering a lot of anthropic pressure due to agricultural land use. In the decades 1960 and 1970 occurred the introduction of commercial plantations of *Pinus* spp. in open areas of Cerrado, causing invasion and suppression of native vegetation. At Estação Ecologica de Santa Barbara (EEsSB) techniques such as clear-cutting Pinus plantation and burning remaining material are being used to recover native vegetation. In one of these areas at EEcSB where these recovering techniques are being used, a lot of native species resprouted, such as *Psidium grandifolium*, which naturally occurring in other open vegetation areas at this station. The main goal of this study is to compare *P.grandifolium* plants growing in two different areas in the EEcSB, to test the following hypothesis, that morpho-anatomical and chemical characteristics of *P.grandifolium* are different in these two areas at EEcSB due to the interference of pine plantation and the plant growth conditions after its removal and burning. To test the hypothesis, it was collected three plants in an area under regeneration and three plants in a natural area. The belowground systems and aerial buds of the six plants were analyzed. In both study areas, the plants showed xylopodium whose upper part consists of a thin cauline axis followed by a tuberous root with fusiform morphology. However, in the natural area, the xylopodia were oriented vertically on the ground, while in the regenerating area, there was a curvature in the cauline axis changing the orientation of the xylopodium from vertical to horizontal. The relationship between the aerial part and the belowground system was proportionally greater in plants of the natural area. The hydraulic conductivity was higher in the regeneration area, demonstrating that the curvature did not affect the water transport in the plants. The belowground bud bank was three times greater in the area under regeneration, as the length of the cauline axis and the number of branches emitted by the xylopodium was higher. In the secondary phloem and xylem, the cells of the parenchyma rays accumulated phenolic compounds and starch grains. Chemical analysis of the root showed a significant difference in the concentrations of total carbohydrates and flavonoids between study areas. The lower concentration of total carbohydrates in the area under regeneration, reflected the costs necessary for the resprouting and recovery of the aerial part. The aerial buds were protected by colleters and leaf primordia, provided with unicellular trichomes, secretory cavities and layers of cells containing phenols. The trichome cover was visually denser in the regenerating area, where the plants are more exposed to sunlight. The main findings of the study confirmed the tested hypothesis. The mechanical impediment caused by the roots of the pine trees in the area under regeneration, may have interfered in the orientation of the xylopodium and, consequently, in the belowground bud bank.

Keywords: Bud Bank; Trichomes; Acessory buds; Resprouting; Xylopodium.

# 1. INTRODUÇÃO

As savanas tropicais são ecossistemas que possuem significativa importância ambiental, econômica e cultural, sendo sua vegetação formada, majoritariamente, por espécies de gramíneas C4, ervas, arbustos e subarbustos, formando uma camada herbácea contínua na vegetação (Parr et al., 2014; Veldman et al., 2015). São caracterizados por uma alta diversidade por m<sup>2</sup>, banco de sementes transitórios, alta biomassa subterrânea aliada a um persistente banco de gemas com copa de árvores abertas e descontínuas (Veldman et al., 2015). Os fatores que conferem essa rica biodiversidade, estão relacionados a adaptação das espécies a condições únicas destes ecossistemas, como a presença de incêndios de superfícies, herbivoria da fauna, baixas intensidades de pastoreiro, estações climáticas bem definidas, solos profundos e pobres em nutrientes (Veldman et al., 2015). Estes distúrbios endógenos fazem parte da evolução histórica e da dinâmica tropical destes ecossistemas, e não podem ser confundidos com outras perturbações impostas pelo homem (Buisson et al., 2019).

O Cerrado é considerado a savana tropical mais rica em biodiversidade, com mais de 10 mil espécies de plantas, sendo 44% endêmicas, ocorrendo em diferentes fitofisionomias, desde campos abertos a locais densamente fechados, como o Cerradão (Ribeiro et al., 2008). É a segunda maior formação vegetal brasileira, cobrindo cerca de 204,7 milhões de hectares, localizado na parte central do país, localizado nos estados da Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Piauí, São Paulo e Tocantins (Sano et al., 2010). Trata-se de um domínio fitogeográfico com ocorrência natural de queimadas (Ribeiro et al., 2008) onde a maioria das famílias botânicas, inclusive Myrtaceae (Simon and Pennington, 2012), apresenta grupos endêmicos adaptados ao fogo, que começaram a se diversificar a menos de quatro milhões anos (Simon et al., 2009). Estes ecossistemas, são únicos entre os biomas mundiais com presença do fogo, o qual tem importante papel na estrutura da vegetação, limitando a densidade de árvores e a cobertura lenhosa (Parr et al., 2014). As adaptações das espécies do Cerrado, assim como de outros ecossistemas sujeitos ao fogo, permitem que essas sejam resilientes a este distúrbio natural, por meio do desenvolvimento de uma casca espessa (Pausas, 2015; Vergílio and Marcati, 2017), alocação de biomassa em órgãos subterrâneos (De Moraes et al., 2016; Simon and Pennington, 2012) produção de sementes capazes de sobreviver a altas temperaturas (Daibes et al., 2019) assim como o estímulo para a quebra de dormência de sementes em algumas espécies (Bond and Midgley, 2012) e para a floração em outras (Fidelis et al., 2019).

Durante os séculos passados, houve um declínio na área ocupada pelas savanas tropicais, devido às implantações crescentes de pastagens, práticas de agricultura, florestação, silvicultura, urbanização e mineração (Buisson et al., 2019; Veldman et al., 2015). Tais processos ocasionaram, alteração dos regimes de fogo, degradação por espécies invasoras, fragmentação, perda de biodiversidade, erosão, poluição e possível alteração climática regional (Klink and Machado, 2005; Parr et al., 2014). No Brasil, o Cerrado já possui mais de 40% da sua área natural alterada em usos agrícolas, sendo que somente cerca de 1,4%, está protegida em unidades de conservação, confirmando a intensa pressão do uso da terra neste domínio (Sano et al., 2010).

A invasão lenhosa associadas à supressão do fogo está se espalhando nas áreas nativas, sendo no Brasil, observadas taxas de 0,7% ao ano superiores àquelas verificadas na África e na Australia (Stevens et al., 2017). A tendência de aumento na cobertura lenhosa no Brasil, já verificada desde a década de 1970, é um reflexo das políticas de incentivo para a produção de florestas plantadas pelo governo federal a partir de 1960, com a implementação de culturas de Eucalyptus spp. e Pinus spp. para a produção madeireira. Cultivos de Pinus spp. levam à diminuição na luminosidade, bem como à formação de espessa camada de acículas sobre o solo retendo parte da água proveniente da chuva (Durigan et al., 2020). Além disso, nas áreas de cultivo há exclusão do fogo (Zanzarini et al., 2019). Sabe-se que políticas de exclusão ou eventos antrópicos que promovam a supressão de queimadas em ecossistemas adaptados ao fogo, podem levar à redução do banco de gemas de espécies herbáceas e subarbustivas (Fidelis et al., 2014) e à ocupação das áreas por espécies exóticas invasivas, ocasionando na perda de biodiversidade e no processo de florestação das áreas nativas (Duringan, 2020). Estudos em áreas de cultivo de Pinus elliotii de longo prazo implantados em fisionomias abertas do Cerrado levaram à redução drástica no banco de gemas e na diversidade de estruturas subterrâneas (Ferraro et al., 2021). Importante ressaltar que espécies de Pinus spp. são hoje, um grande problema devido a seu carater invasivo em áreas abertas de Cerrado, devida a rápida germinação das suas sementes que são lançadas a longas distâncias em relação a planta-mãe, seu rápido crescimento e consequente formação da camada de acículas sobre o solo, suprimindo a vegetação nativa, principalmente o estrato herbáceo-arbustivo (Duringar et al., 2020; Zanzarini et al., 2019).

Trabalhos de recuperação nas áreas afetadas com *Pinus* spp. demonstram que mesmo após 15 anos do corte raso dos plantios, com a utilização de técnicas de restauração, a vegetação se assemelha a uma formação florestal, distanciando-se da estrutura de savana (Haddad et al., 2021). Técnicas como avaliação da regeneração natural, enriquecimento com espécies nativas, corte das árvores e fogo prescrito, são métodos indispensáveis para tentar restaurar ecossistemas savânicos (Buisson et al., 2019; Haddad et al., 2021; Parr et al., 2014). Os estudos de Silva et al. (2020) e Antunes (2020) em área de Cerrado pós-retirada do plantio de *Pinus* spp. e queima do material remanescente na EEcSB, apontou que espécies de diferentes famílias conseguiram rebrotar devido ao banco de gemas em sistemas subterrâneos providos de carboidratos de reserva.

Sabe-se que o banco de gemas é o principal atributo relacionado ao rebrotamento das espécies (Clarke et al., 2013), podendo ser definido como o conjunto de gemas localizadas acima e abaixo do solo (Klimesová and Klimeš, 2007). Muitas espécies apresentam um banco de gemas associado a sistemas subterrâneos, não somente raízes, mas também órgãos caulinares (Klimešová et al., 2018), que garantem a sobrevivência das espécies, por meio da proteção das gemas abaixo do solo (Pausas et al., 2018) e pela estocagem de carboidratos de reserva, que, quando remobilizados, rapidamente contribuem para a formação de novos órgãos fotossintetizantes (De Moraes et al., 2016).

Ao analisar o efeito do fogo nos estratos herbáceo e subarbustivo em áreas abertas do Cerrado da EEcSB, Pilon e colaboradores (2021) identificaram cinco diferentes estratégias de regeneração para a colonização pós-fogo, sendo o rebrotamento a partir de estruturas subterrâneas, o principal mecanismo adotado.

Dentre as primeiras descrições de sistemas subterrâneos nas savanas brasileiras estão aquelas realizadas por Rizzini and Heringer (1966, 1965, 1962, 1961). Estudos com diferentes famílias vêm sendo desenvolvidos, como, por exemplo, Apocynaceae (Appezzato-da-Glória and Estelita, 2000; Lopes-Mattos et al., 2013), Asteraceae (Abdalla et al., 2016; Bombo et al., 2014; Filartiga et al., 2017; Silva et al., 2015), Amaranthaceae (Joaquim et al., 2018), Erythoxylaceae (Alonso and Machado, 2007) e Smilacaceae (Martins et al., 2010). Os estudos enfatizam que muitas espécies apresentam sistemas subterrâneos complexos, ramificados, superficiais ou não, como, por exemplo, xilopódios, presentes em cerca de 90 gêneros (Rizzini and Heringer, 1965), sóboles, raízes tuberosas, bulbos e rizomas, desempenhando papel fundamental no rebrotamento de espécies do Cerrado (Appezzato-da-Glória, 2015 e literatura citada).

Dependendo da intensidade e frequência de determinadas perturbações, o rebrotamento pode ocorrer através de gemas aéreas (Bond and Midgley, 2001; Pilon et al., 2021). As principais características que conferem proteção as gemas aéreas, principalmente ao fogo, é o desenvolvimento no caule aéreo de uma casca espessa, e o rápido crescimento em altura (Burrows and Chisnall, 2016; Charles-Dominique et al., 2015). Porém, na ausência de

casca espessa, outras estruturas conferem diferentes graus de proteção, por exemplo, a presença de primórdios foliares, tricomas unicelulares lignificados ou suberizados, contendo compostos fenólicos, coléteres, cristais, estípulas e cutícula espessa, os quais fornecem proteção contra herbivoria, intensidade luminosa, seca e altas temperaturas (BELL, 1999; De Campos et al., 2021; Silva et al., 2020).

Muitas das respostas que as espécies de plantas apresentam a fatores ambientais e antrópicos, advém da sua capacidade plástica. A plasticidade fenotípica é definida como a alteração na expressão fenotípica de um determinado genótipo em diferentes condições ambientais, sejam essas luminosidade, sombreamento, temperatura, nutrientes e seca, ocasionando respostas anatômicas, morfológicas e fisiológicas, que possibilitam a sobrevivência das espécies em diferentes habitats (Gratani, 2014).

Diante do exposto, o presente trabalho propõe comparar plantas de *Psidium* grandifolium crescendo em duas condições: numa área de Cerrado natural e numa área em regeneração da EEcSB após a retirada do plantio de *Pinus* spp. e subsequente queima do material remanescente, a fim de responder as seguintes questões: a) quais atributos morfológicos permitiram que a espécie persistisse no sub-bosque de *Pinus* spp. e rebrotasse na área em regeneração? b) as plantas da espécie que ocorrem na área em regeneração, apresentam diferenças morfológicas e químicas em relação aqueles crescendo na área de ocorrência natural? c) as plantas da área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural? A hipótese é de que as plantas que ocorrem na área em regeneração à área natural?

O conhecimento gerado nesse trabalho, contribuirá para o entendimento de como as espécies nativas do Cerrado se comportam e são afetadas em áreas de plantio de *Pinus* spp., apresentando as características adaptativas que conferiram resiliência frente aos distúrbios impostos. Espera-se que os resultados sejam base para a escolha de espécies em futuros planos de restauração de áreas afetadas, como na Estação Ecológica aqui apresentada. Além disso, aprofundar o conhecimento sobre a plasticidade das espécies do Cerrado em diferentes condições e quais atributos garantem a resiliência depois de anos de silvicultura.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1. Área de estudo e material botânico

As coletas foram realizadas na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB) localizada no município de Águas de Santa Bárbara, no estado de São Paulo, com coordenadas geográficas de 22°48'59" S e 49°14'12" W. A precipitação média na área é de 1000 - 1300mm, o clima é Cwa, com estações secas (abril a setembro) e chuvosas (outubro a março) bem definidas. Os solos na estação são uniformes, classificados como latossolos, profundos, arenosos e bem drenados, com uma menor retenção de água na estação seca, em sua maioria (Melo and Durigan, 2011).

Apresenta cerca de 2.717 ha, sendo que a maior parte está ocupada por vegetação natural (79%), sendo majotariamente vegetação de Cerrado, sendo os outros 21% ocupados por área com presença de silvicultura comercial, com reflorestamento de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp. (Melo and Durigan, 2011).

As coletas foram realizadas em duas áreas de Cerrado. A primeira área está em processo de regeneração (Cerrado em regeneração), após a retirada de um talhão de *Pinus* spp. implantado na década de 1970 numa área de campo sujo utilizando-se trator com arado de disco. Em 2012 houve o corte raso das árvores de *Pinus* e, posteriormente em 2014, colocado fogo na camada de acículas e indivíduos jovens de *Pinus* geminados. Durante todo o período de cultivo do *Pinus* a área ficou protegida do fogo. Desde a retirada das árvores de *Pinus* spp., houve o rebrotamento de espécies nativas. A segunda área estudada, corresponde a uma área de campo sujo (Cerrado natural) com características de vegetação similares à da área onde foi cultivado *Pinus* spp. nos anos 70.

A espécie escolhida para o estudo foi *Psidium grandifolium* Mart. ex DC. (sin. *Psidium cinereum* Mart. ex Dc.) por apresentar rebrotamento nas áreas do estudo após a retirada do plantio de *Pinus* spp. A espécie, conhecida popularmente como araçá, araçá-catuba, araçá-do-campo, ocorre em fisionomias campestres ou savânicas, com hábito subarbustivo e arbustivo podendo atingir até 1,5 m, as folhas são curto-pecioladas, simples, opostas com face inferior densamente pilosa, de coloração acinzentada, as flores são brancas e os frutos são bagas globosas a subglobosas; *P. cinereum* correspondia a forma da espécie com escassos tricomas (Durigan et al., 2018).

Foram coletadas três plantas de *P. grandifolium*, na área de Cerrado natural (CeN), realizada no final de janeiro/2020 (Fig. 1A; C), ao qual apresentava uma planta frutificando e

as outras em estágio vegetativo, e, três plantas na área de Cerrado em regeneração (CeRg), realizada no início de fevereiro/2020 (Fig. 1B; D), ao qual uma planta apresentava floração e as demais frutificando. Exsicatas foram depositadas no Herbário da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" com os respectivos números de tombo ESA143660 e ESA143661.



**Figura 1.** Plantas de *Psidum grandifolium* ex DC. indicados na seta, ocorrentes na área de Cerrado natural (A; C; E) e Cerrado em regeneração (B; D; F).

#### 2.2. Sistema subterrâneo

Para a coleta do material, primeiramente foi realizada a demarcação do nível do solo com arame e fita zebrada em todas as seis plantas. Posteriormente, com o auxílio de pás e enxadas, cavou-se até retirar completamente o sistema subterrâneo intacto. As plantas foram enroladas em jornais e acondicionados em sacos plásticos contendo água, a fim de manter a umidade. Em laboratório, foi feita a mensuração do comprimento de todos os ramos aéreos, assim como de todo o sistema subterrâneo e suas ramificações. Estes dados foram utilizados para realizar o cálculo da proporção do sistema subterrâneo em relação a biomassa aérea. Foram utilizados os dados de comprimento e não de massa seca, devido a dificuldade em encontrar as plantas, principalmente na área natural, e na coleta dos sistemas subterrâneos, sendo uma limitação do trabalho.

Para as análises anatômicas, regiões do eixo principal em todas as plantas coletadas, assim como suas ramificações, foram fixadas em FAA 50 (1:1:18 formaldeído, ácido acético glacial e álcool etílico 50%) por 48 horas (Johansen, 1940). Após a fixação, o material foi trocado por uma solução de álcool 70% para armazenamento. Após a fixação e armazenamento, as amostras foram seccionadas em micrótomo de deslize (Leica SN 2000 R), clarificada com hipoclorito de sódio a 20%, lavadas em água destilada, coradas com azul de Alcian (Luque et al., 1996) e safranina (Spicher, 1985) na proporção de 9:1 e com azul de toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 montadas em gelatina glicerinada e lutadas com esmalte.

Para os testes histoquímicos, seções de amostras do material fresco ou fixado, foram submetidas aos seguintes reagentes ou corantes: Sudan IV (Jensen, 1962) e Sudan Black B (Pearse, 1953) para lipídios totais; Vermelho de Rutênio para mucilagem ácida (Gregory and Baas, 1989); Cloreto de Zinco Iodado (Strasburguer, 1913); Lugol (Johansen, 1940) para grãos de amido e Cloreto Férrico para compostos fenólicos (Johansen, 1940). Seções controles foram realizadas simultaneamente aos testes histoquímicos, utilizando-se procedimento padrão.

Para o cálculo da proporção dos tecidos internos ao câmbio vascular (TIC) x casca, considerou-se as porções correspondentes ao xilema secundário e a medula como TIC e a casca como correspondente ao floema secundário e a periderme. Foram delimitadas duas regiões caulinares e duas radiculares, com diâmetros diferentes, na mesma região para todas as plantas, sendo realizada quatro medições no sentido medula-periderme. Foram escolhidas regiões diferentes pela observação da mudança na proporção de casca x TIC ao longo do sistema subterrâneo. As mensurações foram realizadas por meio do software de análises ImageJ.

A documentação dos resultados anatômicos, histoquímicos e quantitativos foram realizados por meio da captura de imagens usando câmera de vídeo Leica® DC 300F acoplada ao microscópio Leica® DM LB e esteromicroscópio Leica M205C acoplado a câmera Leica DFC295, realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal (LanVeg) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

#### 2.3. Análise do banco de gemas subterrâneo

Em laboratório, foi realizada a contagem de todas as gemas consideradas viáveis (aquelas que apresentavam os primórdios foliares) até os primeiros 10 centímetros de profundidade, com auxílio de esteromicroscópio. Os 10 centímetros foram escolhidos baseados na literatura científica como a profundidade de maior ocorrência das gemas subterrâneas em órgãos subterrâneos espessados (Appezzato-da-Glória, 2015; Klimešová et al., 2019; Pausas et al., 2018).

Para a correta determinação e visualização das gemas, era necessário realizar o corte transversal da região analisada para a visualização dos primórdios foliares e a lacuna da gema, as lâminas e os cortes foram preparados de acordo com o item 3.2.

#### 2.4. Condutividade hidráulica potencial e análise do xilema secundário

Porções do caule tuberizado, raiz tuberizada e a região de torção observada para as plantas coletadas na área em regeneração e sua respectiva região para as plantas da área de Cerrado natural, foram processadas e mensuradas as seguintes variáveis: comprimento e diâmetro equivalente dos elementos de vasos (N=50), densidade dos vasos (número de vasos/mm<sup>2</sup>), condutividade hidráulica potencial e a proporção de células no xilema para a região de torção para cada planta amostrada. As mensurações foram feitas no software ImageJ.

Para o cálculo da proporção das células de sustentação, transporte e armazenamento no tecido xilemático, foi delimitada uma região entre dois raios vasculares e calculada a área ocupada por cada célula. Posteriormente, extrapolado para a seção completa em mm, de acordo com a metodologia proposta por Klimešová et. al (2019).

Para o cálculo do comprimento, as amostras foram dissociadas de acordo com a metodologia proposta por Franklin (1945). As porções foram cortadas longitudinalmente com auxílio de martelo e lâminas descartáveis. Posteriormente o material passou por uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial (1:1) em estufa de 60 °C por 24-48 horas, até que estivesse macio e com coloração esbranquiçada. Em seguida, o material passou por banhos

de água destilada (15min) e etanol 50% (20min), e por 24 horas, corado com Safranina 1% em etanol 50%. Após a coloração foi realizado banhos em etanol 30%. Uma pequena porção do material foi colocado sobre lâmina, dissociado com auxílio de pinça, adicionado três gostas de glicerina e a lâmina lutada com esmalte.

Devido os elementos de vasos não serem círculos perfeitos em vista transversal, deveria ser realizado o cálculo do diâmetro tangencial. Todavia, este diâmetro, não considera a forma do vaso e a condutância hidráulica. Portanto, o recomendável e utilizado, é o diâmetro equivalente (De), que é calculado com base na área do lume (A) a partir de secções transversais, pela seguinte fórmula (Scholz et al., 2013):

$$De = \frac{\sqrt{4A}}{\pi}$$

Posteriormente, foi calculado o diâmetro dos vasos hidraulicamente ponderado (Dh), pois ele reflete a verdadeira condutância dos vasos, representando o diâmetro médio que todos os vasos teriam para corresponder a condutividade total, a partir da seguinte fórmula (Scholz et al., 2013):

$$Dh = \left(\frac{\Sigma d^4}{N}\right)^{0.25}$$

, onde d é o diâmetro equivalente dos vasos (em  $\mu$ m) e N o número de vasos mensurados.

Utilizou-se a equação de Hagen-Poiseuille para calcular a condutividade hidráulica potencial (Kp) para cada planta amostrada, determinou-se utilizar a fórmula da Kp ao invés da condutividade real, pois a primeira assume que a resistência das placas de perfurações, da membrana das pontoações e dos vasos cavitados não influenciam significativamente, mas sim o diâmetro e a quantidade de vasos (Poorter et al., 2010; Sterck et al., 2008). A Kp foi calculada a partir das medidas do diâmetro hidráulico (Dh) e da densidade dos vasos (DV), pela seguinte fórmula:

$$Kp = \left(\frac{\pi p_w}{128n}\right) . DV. Dh^4$$

; Kp é a condutividade hidráulica potencial (em Kgm <sup>-1</sup> MPa <sup>-s-1</sup>), pw é a densidade da água a 20 °C (998.2 kgm <sup>-3</sup>), n é a viscosidade da água a 20 °C (1.002.10 <sup>-9</sup> MPa), DV é a densidade de vasos (vasos/mm<sup>-2</sup>) e Dh é o diâmetro do vaso hidraulicamente ponderado (em m).

Os dados de comprimento, diâmetro equivalente e condutividade hidráulica potencial foram submetidos a uma análise de variância a fim de verificar possível diferença significativa,

não foi utilizado nenhum teste de comparação de médias e os resultados foram expressos por meio de gráficos boxplots.

#### 2.5. Análise química das raízes

Amostras das raízes das seis plantas foram congeladas no mesmo dia de coleta e utilizadas para realizar a quantificação de carboidratos solúveis totais, compostos fenólicos e flavonoides. Essa etapa foi realizada no Laboratório HUGOT de Tecnologia em Sucroderivados.

Para as análises de carboidratos solúveis totais, amostras das seis plantas foram secionadas utilizando navalhas e moídas com auxílio de cadinho. Um grama do material foi dissolvido em 10 mL de água destilada, e filtrado a vácuo em membrana Millipore de nitrato de celulose com 0,45 µm de diâmetro. O material filtrado foi tratado com mistura clarificante de óxido de alumínio na proporção de 0,004g de clarificante por mL de amostra com o intuito de reduzir a influência dos pigmentos na quantificação. Os teores de carboidratos solúveis totais foram analisados pelo método de Fenol-Sulfúrico (Dubois et al., 1956), e os resultados expressos após leitura espectrofotométrica, realizada a 490 nm em espectrofotômetro UV-Mini 1240 (Shimadzu Co.), contra uma curva de calibração de glicose no intervalo de 100 a 1.000 µg.

Para a análise dos compostos fenólicos e flavonoides, cinco gramas de cada amostra das seis plantas foram colocados em papel filtro, e, em seguida, realizada a extração etanólica, utilizando etanol 95%, como solvente polar em aparato de Soxhlet (Ferraz et al., 2000). Os fenólicos totais foram quantificados misturando 100  $\mu$ L do extrato das amostras com 900  $\mu$ L de água ultrapura. Posteriormente, adicionado 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído com água ultrapura e 2,5 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Após 40 minutos, a leitura foi expressa em espectrofotômetro UV-visível a 725 nm. Para flavonoides, foi realizada uma solução com 0,5 mL do extrato, 4,3 mL de etanol 80%, 0,1 mL de Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 10% e 0,1 mL de acetato de potássio (1M). Após 40 minutos, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV-visível a 415 nm (Park et al., 1998). A curva padrão foi realizada com rutina, e os resultados expressos em equivalentes de rutina por 100 gramas de raízes.

#### 2.6. Proteção das gemas aéreas

Foram analisadas a porção terminal dos ramos contendo a gema terminal e as três regiões nodais subsequente para as duas áreas de estudo. Os ramos coletados de cada planta foram fixados em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1964) por 48 horas. Após a fixação, o material foi desidratado em serie etílica crescente até álcool 70%.

Parte das amostras foram desidratadas até álcool 100% e em seguida embebida em historesina hidroxi-etil metacrilato (Leica®) seguindo as orientações do fabricante. Os blocos obtidos foram seccionados nos planos transversal e longitudinal em micrótomo rotativo manual (Leica RM 2045) com navalhas descartáveis, com a espessura variando de 5-7 μm. As seções foram coradas com azul de toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 e montadas em resina sintética Entellan® (Merck®).

Para os testes histoquímicos, seções de amostras do material fixado, embebidos em resina, foram submetidas aos seguintes reagentes ou corantes: Sudan IV (Jensen, 1962) e Sudan Black B (Pearse, 1953) para lipídios totais; Vermelho de Rutênio para mucilagem ácida (Gregory and Baas, 1989); Cloreto de Zinco Iodado (Strasburguer, 1913) e Lugol (Johansen, 1940) para grãos de amido e Cloreto Férrico para compostos fenólicos (Johansen, 1940). Amostras também foram submetidas aos fluorocromos Nile red para lipídios (Greenspan et al., 1985), sobre filtro Leica I3 (ex BP 400-490nm; em: 530–575nm) e para autofluorescência de compostos fenólicos, seções não coradas foram analisadas sob filtro Leica L5 (ex: BP 460-500nm; em: 512-542nm) (Cardoso-Gustavson et al., 2018). Seções controles foram realizadas conforme o padrão para análise dos resultados.

Amostras dos ramos contendo a gema terminal foram analisadas ao microscópico eletrônico de varredura (MEV). As amostras foram secas ao método do ponto crítico de CO2 (Horridge and Tamm, 1969), montadas sobre suportes de alumínio e cobertas com uma delgada camada de ouro de 30 a 40nm no equipamento Balzers modelo SCD 050. As análises das eletromicrografias foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura Zeiss modelo LEO 435VP, operado a 20kv com as escalas impressas diretamente nas imagens. Essa etapa foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica Professor Dr. Elliot Watanabe Kitajima.

A documentação dos resultados anatômicos e histoquímicos foi realizada semelhante ao item 1.2.

#### **3. RESULTADOS**

#### 3.1. Análise morfológica do sistema subterrâneo

Em ambas as áreas analisadas, *Psidium grandifolium* é uma espécie subarbustiva, cujo sistema subterrâneo é um xilopódio lenhoso formado por um eixo vertical em relação ao solo na área de Cerrado natural (CeN) (Fig. 2A; 3A-C), enquanto, na área de Cerrado em regeneração (CeRg), o xilopódio exibe uma torção alterando a sua orientação vertical para horizontal (Fig. 2B; 3D, G).



**Figura 2.** *Psidium grandifolium* na área de Cerrado natural (A) e Cerrado em regeneração (B). Nos destaques observar que o xilopódio em relação à superfície do solo (linha tracejada) é vertical em (A) e exibe uma torção alterando a sua orientação vertical para horizontal em (B).

A porção superior do xilopódio é um eixo delgado (Fig. 3A-I), lignificado que emite várias raízes plagiotrópicas que podem ultrapassar 160 cm de comprimento. Na porção mais próxima do solo, o xilopódio emite ramos aéreos. Com o desenvolvimento, a base subterrânea e lignificada dos ramos se funde num processo de auto enxertia natural (Fig. 3E). A auto enxertia pode ser observada ao nível do solo (Fig. 3 F, I) ou até mesmo a mais de 10 cm abaixo do nível do solo (Fig. 3C). O comprimento do eixo delgado em relação ao nível do solo varia entre as plantas tanto no CeN (Fig. 3A-C) quanto no CeRg (Fig. 3 D,F,G,I), sendo que os valores maiores são observados no CeRg (Tabela 1). As gemas ocorrem principalmente nos primeiros

5 cm abaixo do nível do solo, sendo que o número varia entre as plantas assim como varia o número de ramos emitidos pelo xilopódio (Tabela 1).

Tabela 1. Morfometria do xilopódio de Psidium gra	randifolium na área de	e Cerrado natural (CeN) e	Cerrado em regeneração
(CeRg). Md= média; Dx= desvio padrão; Pl.= planta	a.		

			CeN		·		CeRg	
	P1.01	Pl. 02	Pl. 03	$Md \pm Dx$	Pl. 01	Pl. 02	Pl. 03	$Md \pm Dx$
Comprimento do eixo delgado (cm)	6,4	18,75	25,3	16,8 ± 9,6	25,85	19,13	24	23 ± 3,4
Comprimento do eixo tuberizado (cm)	12,43	21,87	13,15	15,8 ± 5,3	11,37	16,08	15	14,2 ± 2,4
Comprimento total do eixo subterrâneo (cm)	91	97	69	$85 \pm 14$	124	100,6	83,5	102 ±20
Maior diâmetro do eixo tuberizado (cm)	2,7	6,75	4,21	4,6 ± 2	2,41	2,17	2,5	$2,4 \pm 0,1$
Número de gemas por Ind.	7	5	9	$7\pm2$	28	21	22	$22 \pm 5,5$
Número de ramos emitidos pelo xilopódio	3	2	2	2 ± 0,6	4	2	2	2,7 ± 1,2

A porção inferior do xilopódio é tuberizada, lignificada, de morfologia fusiforme (Fig. 2A-B, 3 A,D,F,G) cuja profundidade alcança 60 cm no CeN e 87cm no CeRg. O maior diâmetro e o comprimento total do setor tuberizado variou entre as plantas nas duas áreas de estudo (Tabela 1) e, apenas na área em regeneração, foram observadas deformidades no setor tuberizado (Fig. 3H). As raízes formadas ao longo da porção inferior do xilopódio podem ultrapassar 80 cm de profundidade.



**Figura 3.** Xilopódios de *Psidium grandifolium* ocorrentes na área de Cerrado natural (A-C) e Cerrado em regeneração (D-I), com destaque na porção superior do xilopódio, para ambas as áreas, indicando a região da auto enxertia (i) e a região de transição vascular (ii). Em E, seção transversal da região de auto enxertia indicada em D. Em H, detalhe da deformidade na porção tuberizada indicada no xilopódio em G. Barras: (A; C; E; F; H) = 20cm, (B; K; N) = 5cm; (G; I; J; L) = 10 cm; (D) = 5mm; (M)= 2,5cm.

Ao analisar a relação entre a parte aérea e o sistema subterrâneo se observa que a parte aérea é proporcionalmente maior que o sistema subterrâneo nas plantas do CeN, sendo que esta relação se inverte nas plantas do CeRg (Fig. 4A).



**Figura 4.** Proporção do comprimento máximo de parte aérea e subterrânea (A) de *Psidium grandifolium* nas áreas de Cerrado natural (CeN) e Cerrado em regeneração (CeRg).

#### 3.2. Análise anatômica do sistema subterrâneo

O xilopódio de *Psidium grandifolium* é de origem mista (Fig. 5A-D), sendo que a participação das estruturas caulinar (Fig. 5A-B) e radicular (Fig. 5D), bem como a posição da região de transição vascular (Fig. 5C) variam entre as plantas conforme mostrado na figura 3. A estrutura caulinar é bem caracterizada pelo floema interno (Fig. 5B) e pela medula constituída por células parenquimáticas isodiamétricas (Fig. 5A), que podem acumular compostos fenólicos e amido. Na região de transição vascular observa-se a medula escassa e elementos do xilema primário em rotação (Fig. 5C) e, na região radicular, o xilema primário ocupa a região central do órgão (Fig. 5D). O xilopódio é altamente lignificado e exibe anéis de crescimento (Fig. 5E). As gemas do xilopódio, localizadas nos primeiros 10 centímetros a partir da superfície do solo, são axilares (Fig. 5F-H).

A periderme que reveste todo o eixo subterrâneo apresenta o súber constituído por várias camadas de células sendo alternadas uma camada de células com paredes anticlinais e periclinais suberizadas (Fig. 5I), contendo fenóis (Fig. 5J) e uma camada com espessamento periclinal interno lignificado (Fig. 5K).



**Figura 5.** Seções transversais (A-E, G-P) e visão superficial (F) do xilopódio de *Psidium grandifolium*. Estrutura caulinar com floema interno e medula (A). Detalhe do floema interno perimedular (B). Região de transição vascular (indicada por ii na figura 2) mostrando a redução da medula e torção de elementos do xilema primário (seta). Estrutura radicular com xilema primário no centro do órgão (seta) (D). Xilema secundário altamente lignificado exibindo anéis de crescimento (E). Gemas axilares (F-H, setas) protegida pela casca (G). Observar a lacuna da gema em H (\*). Súber com paredes suberizadas (I), conteúdo fenólico (J) e espessamento periclinal interno em lignina (K). Floema e xilema secundários com células de conteúdo fenólico evidenciado pelo cloreto férrico (L). Floema secundário com raios dilatados na periferia do órgão (\*, N). Detalhe das braquiesclereides no floema secundário (O). Amido evidenciado pelo cloreto de zinco iodado nas células do parênquima radial e axial do xilema secundário. Ac = anel de crescimento; Fi = floema interno; Fs= floema secundário; Me = medula; Xi = xilema secundário; Barras: (F; H) = 1mm; (A; E; L; M; N; O; P) = 500 µm; (C; D; G) = 200µm; (B) = 100 µm; (I) = 50µm; (J; K) = 25µm.

O sistema axial e radial do floema secundário apresenta uma coloração natural alaranjada em suas células, que reagem positivamente para compostos fenólicos (Fig. 5L). As células parenquimáticas que não armazenam fenóis, estão relacionadas com o armazenamento de cristais prismáticos, que, geralmente, delimitam os raios floemáticos (Fig. 5M). Os raios podem ser unisseriados ou bisseriados e, dependendo do diâmetro do órgão, são dilatados na periferia (Fig. 5N). Braquiesclereides (Fig. 5O) formam faixas de uma a três camadas de células quase contínuas, que se intercalam com as demais células do floema axial (Fig. 5N).

O sistema axial do xilema secundário, é composto por elementos de vaso pontoados, fibras, células parenquimáticas radiais e axiais, que armazenam amido (Fig. 5P), compostos fenólicos e cristais prismáticos em menores quantidades. O sistema radial, assim como no floema, apresenta raios unisseriados e bisseriados.

Ao serem comparadas as regiões correspondentes do sistema subterrâneo com e sem a torção observou-se que não houve diferença na proporção de células no tecido xilemático. Em ambas as situações, as fibras apresentaram a maior porcentagem média com 44%, seguidas pelas células parenquimáticas (axiais e radiais) com 43% e os elementos de vaso ocupando cerca de 13%.

O diâmetro dos vasos diferiu significativamente, sendo maior para as três regiões analisadas do sistema subterrâneo (caule, torção e raiz) de plantas da área CeRg (Fig. 6A). O comprimento dos vasos no caule e na torção é maior no CeRg, enquanto na raiz, é maior no CeN (Fig. 6B). A densidade de vasos é significativamente superior no CeN para as três regiões do sistema subterrâneo analisadas (Fig. 6C).

A condutividade hidráulica potencial (Kp) média do xilema secundário para a área de Cerrado natural foi inferior em todas as regiões analisadas quando comparadas à área de Cerrado em regeneração, conforme figura 6D. O menor valor de Kp foi obtido na região de torção do sistema subterrâneo das plantas da área CeRg e na região correspondente à torção no sistema subterrâneo das plantas da área de CeN (Fig. 6D).



**Figura 6.** Boxplots das análises anatômicas quantitativas do xilema secundário de *Psidium grandifolium* nas duas áreas de estudo, bem como da medida da condutividade hidráulica potencial. Dados significativamente diferentes (\*).(n=50 para as mensurações médias de diâmetro, comprimento e densidade dos elementos de vasos).

Nas duas áreas analisadas, observa-se que no sistema subterrâneo a região ocupada pelos tecidos externos ao câmbio vascular (casca) é sempre proporcionalmente menor que aquela ocupada pelos tecidos internos ao câmbio vascular (TIC) a qual corresponde a cerca de 75% da estrutura. Nas porções caulinar e radicular não espessadas das plantas do CeN a porcentagem ocupada pela casca é maior que nos demais setores analisados (Figura 7).



**Figura 7.** Proporção da casca e de tecidos internos ao câmbio vascular (TIC) de diferentes regiões do sistema subterrâneo de *Psidium grandifolium* nas áreas de Cerrado natural (CeN) e Cerrado em regeneração (CeRg).

#### 3.3. Análise química das raízes

Os conteúdos de carboidratos solúveis totais, fenólicos totais e flavonóides totais foram quantificados nas amostras de raízes em *Psidium grandifolium*. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 2. Tanto os valores de carboidratos solúveis totais e de flavonóides mostraram diferença significativa entre as áreas avaliadas, no entanto, os teores de fenólicos totais não apresentaram diferença.

**Tabela 2.** Quantificação dos compotos de reserva e proteção nas raízes subterrâneas de *Psidium grandifolium* ocorrentes nas áreas de Cerrado natural (CeN) e Cerrado em regeneração (CeRg). Os resultados foram confrontados por análise estatística pelo teste de Tukey a 5%, letras diferentes indicam diferença significativa

	Carboidratos solúveis totais (mg 100g <sup>-1</sup> )	Fenólicos totais (mg 100g <sup>-1</sup> )	Flavonoides totais (mg 100g <sup>-1</sup> )
CeN	$308000 \pm 0.063a$	$102.5 \pm 15.1a$	$57.7 \pm 0.6b$
CeRg	$259000 \pm 0.254b$	113.0 ± 18.2a	83.6 ± 1.3a

#### 3.4. Proteção das gemas aéreas

Em ambas as áreas estudadas a gema terminal está presente protegida por primórdios foliares (Fig. 8A-E), providos de tricomas unicelulares nas epidermes das faces adaxial e abaxial (Fig. 8B-C). Os tricomas são visivelmente mais abundantes e distribuídos uniformemente em ambas as faces dos primórdios foliares na área de Cerrado em regeneração (Fig.8 B, E). Na área de Cerrado natural, os tricomas são mais escassos e estão distribuídos preferencialmente na face abaxial dos primórdios foliares (Fig. 8 C, D). Os tricomas e as células epidérmicas e subepidérmicas voltadas para a face abaxial exibem compostos fenólicos (Fig. 8G). Na face abaxial dos primórdios foliares mais desenvolvidos são observadas cavidades que secretam uma mistura composta de fenóis (Fig. 8H) e lipídios (Fig. 8I). Nas duas áreas analisadas, são observados cristais do tipo drusa abaixo do meristema apical caulinar (Fig. 8D).

Nas três regiões nodais analisadas, além da gema axilar são observadas de uma a duas gemas acessórias (Fig. 8J-L). As gemas analisadas apresentam características similares aquelas descritas para a gema terminal, ou seja, primórdios foliares providos de tricomas (Fig. 8K), de células com conteúdo fenólico (Fig. 8L) e de cavidades secretoras. Também são observados idioblastos cristalíferos (Fig. 8K) abaixo do meristema apical caulinar (Fig. 8K). Na terceira região nodal, principalmente, além dos cristais, braquiesclereides estão presentes no eixo

caulinar (Fig. 8K). Em todas as gemas aéreas ocorrem coléteres (Fig. 9) os quais serão descritos no próximo tópico.



**Figura 8.** Eletromicrografia de varredura (A) e seções longitudinais (B -L) da gema terminal e de regiões nodais subjacentes de *Psidium grandifolium.* (A-C) Primórdios foliares protegendo o meristema apical caulinar (MAC). Observar a diferença na pilosidade entre a área de Cerrado em regeneração (B) e a área de cerrado natural (C). (D) Idioblastos cristalíferos sob o MAC evidenciados pela birrefringência sob luz polarizada. (E) Gema terminal não corada analisada sob filtro L5. Observar as cavidades secretoras (setas) voltadas para a face abaxial dos primórdios mais desenvolvidos. (F) Tricomas com conteúdo fenólico. (G) Conteúdo fenólico (\*) evidenciado pelo cloreto férrico nas células da epiderme e das camadas subepidérmicas nos primórdios da gema (H-I) Cavidades secretoras presentes nos primórdios foliares com secreção de natureza fenólica evidenciada pela autofluorescência sob filtro L5 (H) e lipofílica pós-reação com Sudan IV (I). (J) Região nodal com gemas axilares e acessórias (setas). (K) Idioblastos cristalíferos evidenciados pela birrefringência sob luz polarizada abaixo do MAC das gemas acessórias e braquiesclereides (Sc) no eixo caulinar. (L) Células com conteúdo fenólico evidenciado pelo cloreto férrico. Barras: (B; L) = 1mm; (C; E; L; M; N) = 500 $\mu$ m; (D; G) = 250 $\mu$ m; (A; J; K) = 200 $\mu$ m; (I) = 25 $\mu$ m; (F; H) = 50 $\mu$ m.

#### 3.5. Coléteres

Nas duas áreas de estudo, além de primórdios foliares densamente pilosos, as gemas aéreas apresentam coléteres protegendo o ápice meristemático caulinar (Fig. 9A-D). O número varia de seis a doze na posição intrapeciolar (Fig. 9B, C), sendo que há apenas um inserido de cada lado do primórdio foliar (Fig. 9E). Os coléteres são translúcidos, sendo que a senescência se inicia pelo escurecimento da base (Fig. 9F). Os coléteres são sésseis e de formato cônico, com o ápice estreito e base alargada, cujo comprimento varia de 400 a 1100 µm (Fig. 9G-I). São constituídos de células parenquimáticas revestidas por epiderme uniestratificada não disposta em paliçada e desprovidos de vascularização (Fig. 9H, I). A secreção que se acumula nos espaços intercelulares (Fig. 9H-J) reage positivamente ao vermelho de rutênio (Fig. 9K) e apresenta aspecto pegajoso nas imagens ao microscópio eletrônico de varredura (Fig. 9L-M) confirmando a sua natureza mucilaginosa.



**Figura 9.** Eletromicrografias de varredura (A, B, D, L, M), fotografias em estereomicroscópio (E,F) e seções longitudinais (C, G-J) dos coléteres de *Psidium grandifolium*. (A-D) Gema apical caulinar antes (A) e após (B-D) a retirada do primórdio foliar para a visualização dos coléteres intrapeciolares (\*), (E, F) Coléter na posição lateral (indicado pela estrela) com ápice translúcido e base amarronzada. (G-K) Coléteres cônicos e sésseis presentes ao lado da gema axilar. As setas indicam a secreção que cora com vermelho de rutênio (K). (L, M) Secreção de aspecto pegajoso recobrindo a gema axilar. Elipses = gema axilar. Barras: (A; C; G; H; I) = 200µm; (B; D; J; K) = 100µm; (E; F) = 1mm; (L) = 20µm; (M) = 50µm.

### 4. DISCUSSÃO

Os sistemas subterrâneos de *Psidium grandifolium* analisados neste trabalho são xilopódios altamente lignificados que possuem estruturas morfológicas distintas, assim como, diferenças no banco de gemas subterrâneo, na quantidade de carboidratos solúveis totais e compostos de defesa entre as áreas de estudo. As gemas aéreas são protegidas por primórdios foliares pilosos, coléteres, cavidades secretoras, cristais e braquiesclereides.

Muitas espécies sobrevivem a distúrbios por meio do rebrotamento, que é uma característica adaptativa que confere persistência diante de vários regimes de perturbação (Clarke et al., 2013). A eficiência desse processo, depende, principalmente, do grau de proteção, do número e da posição das gemas, assim como, do tipo de órgão de armazenamento (Charles-Dominique et al., 2015; Clarke et al., 2013; Pausas et al., 2018). Em ecossistemas propensos ao fogo, diversos sistemas subterrâneos, como os xilopódios, são apontados como estruturas fundamentais que possibilitam a resiliência das espécies (Appezzato-da-Glória, 2015). Xilopódios são estruturas espessadas, cujo desenvolvimento pode ser determinado geneticamente, ou dependente de condições ambientais (Appezzato-da-Glória, 2015; Rizzini and Heringer, 1965). A classificação do sistema subterrâneo de *P. grandifolium* como xilopódio, foi determinada pela morfoanatomia das estruturas, que correspondem com características já descritas na literatura para órgãos xilopodíferos (Alonso and Machado, 2007; Appezzato-da-Glória and Cury, 2011; Pausas et al., 2018).

Os xilopódios são órgãos portadores de gemas subterrâneas protegidas da ação do fogo devido ao isolamento térmico do solo (Clarke et al., 2013; Pausas et al., 2018). As gemas do xilopódio de *Psidium grandifolium*, como verificado em outras espécies de Myrtaceae do Cerrado (Antunes, 2020; Silva et al., 2020) são axilares, protegidas por catafilos ou pela casca e ocorrem na base de ramos, principalmente nos primeiros 5cm abaixo da superfície do solo. Geralmente, as gemas presentes em órgãos subterrâneos estão localizadas nos primeiros 15cm de profundidade, sendo a maioria encontrada nos 5cm perto da superfície do solo (Klimesová and Klimeš, 2007; Vesk and Westoby, 2004). Gemas localizadas em profundidades maiores, estão mais protegidas, porém, estão em desvantagem, pois podem apresentar crescimento lento e capacidade competitiva reduzida (Ott et al., 2019).

O número de gemas dos xilopódios na área de Cerrado em regeneração foi cerca de três vezes maior que na área de Cerrado natural. O número de gemas pode ser influenciado pelo tamanho e idade da estrutura, sendo fortemente dependente da arquitetura da planta(Ott et al., 2019). No caso de *P. grandifolium*, e de outras plantas xilopodiferas do Cerrado (Antunes,

2020), o maior número de gemas pode estar relacionado ao maior número de bases subterrâneas de ramos emitidos pelo xilopódio. Além disso, o eixo caulinar das plantas analisadas foi maior na área em regeneração.

A torção no xilopódio alterando a sua orientação vertical para horizontal nas plantas da área em regeneração provavelmente ocorreu devido ao impedimento mecânico exercido pelas raízes de *Pinus spp.* ainda observadas na área. Além disso, as plantas da área em regeneração investiram mais na porção subterrânea com a produção de várias raízes laterais e adventícias na área em regeneração, a fim de proporcionar maior aquisição de água e nutrientes nas camadas superficiais do solo. Estudos experimentais de Rizzini & Heringer (1965) já apontam que os órgãos xilopodíferos podem apresentar curvaturas na raiz principal, raízes laterais e adventícias, que se orientam horizontalmente à superfície do solo, não se aprofundando, devido ao impedimento mecânico.

No xilopódio de *Psidium grandifolium* de ambas as áreas foi possível observar anéis ou camadas de crescimento, não anuais, semelhantes aos relatados em xilopódios de Apocynaceae (Appezzato-da-Glória and Estelita, 2000) e Asteraceae (Filartiga et al., 2017; Silva et al., 2015). Tomazzielo (2004) e Marcati (2006) analisaram o lenho de mais de 50 espécies lenhosas e subarbustivas de áreas do Cerrado paulista indicando a presença de marcadores anatômicos que delimitam os anéis de crescimento. Os mesmos autores reforçam que zonas fibrosas e faixas parenquimáticas são os marcadores que ocorrem com maior frequência, assim como nos xilopódios de *P. grandifolium*. As camadas de crescimento aqui mencionadas não correspondem a anéis de crescimento anuais, estes que oferecem importantes informações para compreender fatores eco-climáticos que influenciaram o desenvolvimento das plantas. Todavia, trabalho com herbocronologia em espécies temperadas demonstrou que além de uma influência sazonal, a formação de anéis de crescimento anuais em estruturas subterrâneas está relacionada à emissão e fenologia de novos ramos aéreos, assim como, na remobilização e síntese de amido ao longo de um ano (Dee et al., 2018).

Nos xilopódios de *Psidium grandifolium*, amido é encontrado principalmente no parênquima vascular xilemático e floemático e na medula caulinar. O teor de carboidratos solúveis totais foi menor nas raízes das plantas na área em regeneração provavelmente devido ao restabelecimento da parte aérea. A capacidade de rebrotamento e consequente formação de novos ramos aéreos, assim como o vigor do rebrotamento, demanda expressiva remobilização de amido e nutrientes, sendo determinada pelo estado de pré-perturbação das plantas, como o tamanho da planta e a quantidade de reservas já alocadas na estrutura subterrânea (De Moraes et al., 2016; Moreira et al., 2012). O grande número de gemas presentes nas plantas na área em

regeneração, também representam um dreno de carbono, estima-se que cerca de 2% dos fotoassimilados diários são necessários para processos de manunteção e proteção dessas estruturas (Vesk and Westoby, 2004). Não somente carboidratos, estruturas subterrâneas também podem armazenar água (Da Silva and Rossatto, 2019), insumo essencial para a fotossíntese, determinando a capacidade inicial e sobrevivência pós-rebrota (Moreira et al., 2012).

As taxas fotossintéticas nas plantas são influenciadas por vários fatores, como por exemplo, pela condutividade hidráulica, que representa um equilíbrio entre ganho de carbono e transporte de água, influenciando principalmente na condutância estomática, por consequência, no CO<sub>2</sub> intracelular (Brodribb et al., 2002; Santiago et al., 2004). Os dados de condutividade hidráulica foram superiores nas plantas da área em regeneração onde há maior incidência luminosa e foram proporcionais ao diâmetro dos vasos e inversamente proporcionais à densidade dos vasos, como verificado em mais de 40 espécies arbóreas (Poorter et al., 2010). Os menores valores de condutividade hidráulica foram observados na região entre o caule e a raiz principal das plantas de ambas as áreas e podem estar relacionados com a estratégia para evitar a cavitação na região de transição vascular (Longui et al., 2017).

O súber da periderme que reveste todo o sistema subterrâneo, é constituído por células contendo fenóis com paredes suberizadas e outras células com paredes lignificadas. A suberização parietal atua como uma barreira contra a perda de água e nutrientes, além de restringir possíveis infecções (Franke and Schreiber, 2007; Serra et al., 2010) e as paredes lignificadas podem atuar como um barreira extra contra o dessecamento, devido ao caráter hidrofóbico da molécula de lignina (Ferrer et al., 2008). Estudos químicos envolvendo a composição da casca de espécies que ocorrem em áreas de Cerrado, indicam a presença de altas concentrações de compostos fenólicos totais, flavonoides e taninos, seguidos por lignina, suberina e polissacarídeos, funcionando como uma interface de proteção entre planta-ambiente (Mota et al., 2017, 2016; Vergílio and Marcati, 2017). A presença de células suberizadas, com conteúdo fenólico, intercaladas com células lignificadas já vem sendo descrita em espécies de *Eugenia* (Silva et al., 2020; Soffiatti et al., 1999), *Psidium* (Antunes, 2020) e *Eucalyptus* (O'Gara et al., 2009).

Dependendo da intensidade de distúrbios em um determinado nicho de ocorrência, as espécies podem rebrotar através de gemas aéreas (Bond and Midgley, 2001), sendo influenciado pelo grau de proteção conferido a estas estruturas (Charles-Dominique et al., 2015). O rebrotamento a partir de gemas aéreas pode recuperar com maior rapidez os órgãos fotossintetizantes em relação às gemas subterrâneas (Burrows, 2013; Vesk and Westoby, 2004).

Portanto, o investimento em estruturas pré-formadas, que conferem maior grau de proteção, como uma casca espessa, aumentam a resiliência frente a diferentes regimes de pertubações (Burrows et al., 2010; Burrows and Chisnall, 2016; Charles-Dominique et al., 2017; De Antonio et al., 2020; Loram-Lourenço et al., 2020; Pausas, 2015). Conquanto, em regiões caulinares que ainda não se desenvolveu uma casca espessa, outras estruturas determinam a proteção e devem receber mais atenção.

Além da gema axilar, a espécie estudada forma de 2 a 3 gemas acessórias seriadas. A presença dessas áreas meristemáticas, se bem protegidas, fornecem um excelente recurso de rápida regeneração para recuperar danos provenientes de ataque de insetos, secas ou por incêndios de baixa intensidade (Burrows, 2013). Nestas estruturas, primórdios foliares pilosos estão presentes recrobindo o meristema apical caulinar. Este tipo de proteção já foi bem caracterizado para espécies de Myrtaceae australianas (Burrows et al., 2008), em Myrtaceae nativas, há relatos em espécies de *Eugenia* (Silva et al., 2020), e em algumas espécies de Rutaceae (Cruz et al., 2015). Mais recentemente, descritos nas gemas epicórmicas de Melastomastaceae, Solanaceae e Bignoniaceae (De Campos et al., 2021). Estudos que englobem uma grande quantidade de espécies e famílias no Cerrado brasileiro ainda é incipiente na literatura.

A densa pilosidade, verificada em ambas as faces nas superfícies dos primórdios, principalmente na abaxial, oferecem vantagens adaptativas sob condições estressantes, combinando estratégias químicas, físicas e mecânicas de proteção (Karabourniotis et al., 2020). Diferença visualmente identificada na pilosidade entre as áreas, pode estar relacionada a maior incidência luminosa na área em regeneração onde as plantas ficam totalmente expostas à luz solar. A principal função atribuída à pubescência em superfícies foliares é a capacidade de reflectância da intensidade luminosa, matendo constante a temperatura foliar e evitando a perda de água (Ehleringer and Mooney, 1978; Eller and Willi, 1977; Johnson, 1975; Karabourniotis et al., 2020; Levin, 1973; Schuepp, 1993). Uma das características que conferem reflectância aos tricomas é sua coloração natural, quanto mais clara uma superfície, maior será sua reflectância de energia radiante (Johnson, 1975). A condição em que os primórdios foliares se encontram em uma posição inversa sobre o meristema apical caulinar (MAC), com a superfície abaxial para cima, confere uma estratégia de proteção eficiente na redução da energia radiante absorvida (Eller and Willi, 1977). Contudo, De Campos e colaboradores (2021) não encontraram correlação entre a temperatura e densidade de tricomas em primórdios foliares em duas das espécies avaliadas. Estudos que abranjam uma maior quantidade de espécies, ocorrendo em áreas com diferente níveis de intensidade luminosa devem ser realizados a fim

de melhor esclarecer a influência desta variável, uma vez que, espécies que ocorrem em locais sombreados, também podem apresentar densa camada de tricomas (Karabourniotis et al., 2020).

Além de tricomas na superfície foliar, no mesofilo dos primórdios estavam presentes cavidades secretoras. A secreção dessas estruturas consiste em uma mistura de compostos fenólicos e lipofílicos que confere defesa química contra danos por radiação UV, proteção contra herbivoria e patógenos (Castro and Demarco, 2008). Cavidades secretoras podem estar presentes na região do ápice caulinar também em outras famílias, por exemplo, em Rutaceae (Machado et al., 2017).

Nas gemas aéreas de *Psidium grandifolium*, no parênquima sob o meristema apical caulinar, são observados cristais do tipo drusa, enquanto nas células do parênquima axial floemático e xilemático dos xilopódios os cristais são prismáticos. Os cristais de diferentes formatos têm sido relacionados, principalmente com a proteção contra herbivoria. Porém, estudos recentes vêm demonstrando a importância fisiológica e ecológica dos cristais na regulação dos níveis citoplasmáticos de cálcio, remobilização para regiões meristemáticas ou eliminação do seu excesso em tecidos não funcionais (Bauer et al., 2011; He et al., 2014; Paiva, 2019). Cristais também foram observados em gemas axilares e epicórmicas de espécies savânicas (De Campos et al., 2021; Silva et al., 2020) e nos sistemas subterrâneos de outras Mrytaceae (Antunes, 2020; Silva et al., 2020). Nas gemas axilares, logo abaixo dos idioblastos cristalíferos, estão presentes braquiesclereídes, bem como no xilopódio onde formam faixas quase contínuas. As camadas alternadas de braquiesclereídes e cristais formam uma barreira física significativa (Hudgins et al., 2003).

Coléteres estavam presentes protegendo os ápices caulinares de todas as gemas aéreas da espécie estudada. Em Mrytaceae, coléteres já foram descritos nos ápices vegetativos e na base das axilas foliares em diferentes gêneros da família, sendo a morfologia cônica a mais recorrente entre as espécies (Costa et al., 2020; Da Silva et al., 2012; Silva et al., 2019; Silva et al., 2020). Os coléteres de *P. grandifolium* analisados nas plantas das suas áreas são cônicos, não-vascularizados, sésseis, de base ampla e desprovidos de epiderme em paliçada como descritos por Silva e colaboradores (2019). A secreção mucilaginosa dos coléteres desempenha importante papel na proteção das gemas aéreas, pois a natureza higroscópica e viscosa da secreção, mantem as regiões meristemáticas hidratadas em locais com baixa umidade do ar, alta incidência solar e temperaturas elevadas (Da Silva et al., 2012; Thomas, 1991). Estudos recentes demonstram que a secreção dos coléteres é influenciada tanto pelo local de ocorrência quanto por uma sazonalidade marcante (Costa et al., 2020; Tresmondi et al., 2017). Não encontramos diferença na natureza do exsudato entre as áreas analisadas. Trabalhos que

correlacionem a secreção dos coléteres com o nicho de ocorrência ainda precisam ser realizados em maior número de espécies. O método de secreção ainda não foi elucidado em coléteres de Myrtaceae. Da Silva e colaboradores (2012) sugerem que a liberação possa ocorrer por permeabilidade da cutícula uma vez que não observaram poros nem rupturas cuticulares nos coléteres que analisaram. Neste trabalho, constatamos o acúmulo da secreção nos espaços intercelulares, nas regiãos basais, medianas e apicais das estruturas analisadas, semelhante ao observado por Silva e colaboradores (2020).

Os testes histoquímicos evidenciaram que os compostos fenólicos estavam presentes em todas as estruturas analisadas, tanto na parte aérea quanto na parte subterrânea. O acúmulo de compostos fenólicos, no conteúdo celular dos tricomas não-glandulares e nas camadas epidérmicas e subepidérmicas dos primórdios foliares, além da proteção contra herbivoria, conferem maior resistência aos danos da radiação solar e comprimentos de ondas prejudicais (Karabourniotis et al., 2020; Kulbat, 2016). As concentrações mais elevadas de compostos fenólicos totais e flavonoides nas raízes, na área em regeneração, podem estar relacionadas às injúrias mecânicas verificadas nas plantas analisadas uma vez que havia o acúmulo de compostos fenólicos ao redor das lesões. Em geral, qualquer dano mecânico pode aumentar a síntese e o acúmulo destes compostos (Chalker-Scott and Fuchigami, 2000; Kulbat, 2016). Este processo pode estar relacionado ao fato de que injúrias podem aumentar a síntese de etileno nas plantas (Jaffe, 1980), sendo que este hormônio, pode desencadear respostas bioquímicas que ocasionam na produção de compostos fenólicos (Chalker-Scott and Fuchigami, 2000).

#### **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estudo confirmou a hipótese de que há diferenças nas características morfoanatômicas e químicas das plantas de *P. grandifolium* nas duas áreas de ocorrência na EEcSB e que parte delas se deve à interferência do *Pinus*. As diferenças encontradas na orientação do xilopódio das plantas da área em regeneração foram influenciadas pelo impedimento mecânico exercido pelas raízes remanescentes das árvores de *Pinus*, que impossibilitaram o crescimento vertical de todo o eixo. O maior número de gemas subterrâneas na área em regeneração se deve à diferença na arquitetura da planta, a qual apresentou xilopódio com eixo caulinar de maior comprimento. A menor concentração de carboidratos totais na área em regeneração, reflete os custos necessários para o rebrotamento e restabelecimento da parte aérea. O fato de que todas as plantas que rebrotaram na área em regeneração apresentavam cicatrizes de lesões nas porções do eixo principal subterrâneo pode ter influenciado em um maior acúmulo de compostos fenólicos e flavonoides, resultando nas diferenças entre as áreas de estudo.

A presença de uma densa cobertura de tricomas protegendo o ápice caulinar das gemas aéreas, na área em regeneração, possivelmente está relacionada a maior incidência luminosa da área, sendo uma característica adaptativa a proteção contra luminosidade intensa.

Interessante ressaltar que, as plantas da área em regeneração, podem ter ficado dormentes sobre o sub-bosque de *Pinus* spp., devido ao grau de desevolvimento das estruturas subterrâneas analisadas, podendo seu desenvolvimento ter ocorrido durante ou antes da instalação dos plantios. Além disso, o processo de rebrotamento requer um custo elevado na remobilização de carboidratos de reserva, como aqui já discutido. Assim, estas plantas podem ter armazenado esses compostos quando ainda possuíam parte aérea fotossinteticamente ativa, anterior aos plantios, propiciando o rebrotamento após o corte raso das árvores de *Pinus*. A presença de deformidades nas porções mais tuberizadas dos xilopódios, podem ter ocorrido devido aos tratos de preparo do solo ou pelo contato com as raízes de *Pinus*, reforçando esta ideia. Portanto, estudos dendrocronológicos e ontogênicos de sistemas subterrâneos seriam fundamentais para elucidar o desenvolvimento dessas estruturas.

# REFERÊNCIAS

- Abdalla, D.F., Moraes, M.G., Rezende, M.H., Hayashi, A.H., Carvalho, M.A.M., 2016. Morpho-anatomy and fructans in the underground system of *Apopyros warmingii* and *Ichthyothere terminalis* (Asteraceae) from the cerrado rupestre 1. J. Torrey Bot. Soc. 143, 69–86. https://doi.org/10.3159/TORREY-D-14-00050.1
- Alonso, A.A., Machado, S.R., 2007. Morphological and developmental investigations of the underground system of Erythroxylum species from Brazilian cerrado. Aust. J. Bot. 55, 749. https://doi.org/10.1071/BT07060
- Antunes, A.F., 2020. Bancos de gemas e adaptações estruturais de espécies vegetais em áreas de Cerrado: Bud banks and structural features of plant species from Cerrado areas. 122f.
  Tese (Doutorado) Curso de Doutor em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- Appezzato-da-Glória, B., 2015. Morfologia de sistema subterrâneos de plantas. 3i Editora, Belo Horizonte.
- Appezzato-da-Glória, B., Cury, G., 2011. Morpho-anatomical features of underground systems in six Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. An. Acad. Bras. Cienc. 83, 981–992. https://doi.org/10.1590/S0001-37652011005000018
- Appezzato-da-Glória, B., Estelita, M.E.M., 2000. The developmental anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson and *M. velutina* (Mart. ex Stadelm.) Woodson (Apocynaceae). Rev. Bras. Botânica 23. https://doi.org/10.1590/S0100-84042000000100003
- Bauer, P., Elbaum, R., Weiss, I.M., 2011. Calcium and silicon mineralization in land plants: Transport, structure and function. Plant Sci. 180, 746–756. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.01.019
- Bell, A., 1999. Branch construction and bud defence status at the canopy surface of a West African rainforest. Biol. J. Linn. Soc. 66, 481–499. https://doi.org/10.1006/bijl.1998.0263
- Bombo, A.B., de Oliveira, T.S., da Silva Santos de Oliveira, A., Rehder, V.L.G., Appezzatoda-Glória, B., 2014. Anatomy and essential oil composition of the underground systems of three species of Aldama La Llave (Asteraceae) 1. J. Torrey Bot. Soc. 141, 115–125. https://doi.org/10.3159/TORREY-D-12-00053.1
- Bond, W.J., Midgley, J.J., 2012. Fire and the Angiosperm revolutions. Int. J. Plant Sci. 173, 569–583. https://doi.org/10.1086/665819

- Bond, W.J., Midgley, J.J., 2001. Ecology of sprouting in woody plants: The persistence niche. Trends Ecol. Evol. 16, 45–51. https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02033-4
- Brodribb, T.J., Holbrook, N.M., Gutiérrez, M. V., 2002. Hydraulic and photosynthetic coordination in seasonally dry tropical forest trees. Plant, Cell Environ. 25, 1435–1444. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00919.x
- Buisson, E., Le Stradic, S., Silveira, F.A.O., Durigan, G., Overbeck, G.E., Fidelis, A., Fernandes, G.W., Bond, W.J., Hermann, J.-M., Mahy, G., Alvarado, S.T., Zaloumis, N.P., Veldman, J.W., 2019. Resilience and restoration of tropical and subtropical grasslands, savannas, and grassy woodlands. Biol. Rev. 94, 590–609. https://doi.org/10.1111/brv.12470
- Burrows, G.E., 2013. Buds, bushfires and resprouting in the eucalypts. Aust. J. Bot. 61, 331. https://doi.org/10.1071/BT13072
- Burrows, G.E., Chisnall, L.K., 2016. Buds buried in bark: the reason why *Quercus suber* (cork oak) is an excellent post-fire epicormic resprouter. Trees Struct. Funct. 30, 241–254. https://doi.org/10.1007/s00468-015-1293-1
- Burrows, G.E., Hornby, S.K., Waters, D.A., Bellairs, S.M., Prior, L.D., Bowman, D.M.J.S., 2010. A wide diversity of epicormic structures is present in Myrtaceae species in the northern Australian savanna biome - implications for adaptation to fire. Aust. J. Bot. 58, 493. https://doi.org/10.1071/BT10107
- Burrows, G.E., Hornby, S.K., Waters, D.A., Bellairs, S.M., Prior, L.D., Bowman, D.M.J.S., 2008. Leaf axil anatomy and bud reserves in 21 Myrtaceae species from Northern Australia. Int. J. Plant Sci. 169, 1174–1186. https://doi.org/10.1086/591985
- Cardoso-Gustavson, P., Dias, M.G., Costa, F.O.B., de Moura Leite Camargos, G., da Cruz Centeno, D., 2018. Imaging of glyphosate uptake and identification of early microscopic markers in leaves of C3 and C4 glyphosate-resistant and -susceptible species. Ecotoxicol. Environ. Saf. 163, 502–513. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.096
- Castro, M.D.M., Demarco, D., 2008. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: A brief review. Nat. Prod. Commun. 3, 1273–1284. https://doi.org/10.1177/1934578x0800300809
- Chalker-Scott, L., Fuchigami, L.H., 2000. The role of phelonic compounds in plant stress responses, in: Low Temperature Stress Physiology in Crops. CRC Press, Inc., Florida, pp. 67–79.
- Charles-Dominique, T., Beckett, H., Midgley, G.F., Bond, W.J., 2015. Bud protection: a key trait for species sorting in a forest-savanna mosaic. New Phytol. 207, 1052–1060. https://doi.org/10.1111/nph.13406

- Charles-Dominique, T., Midgley, G.F., Bond, W.J., 2017. Fire frequency filters species by bark traits in a savanna-forest mosaic. J. Veg. Sci. 28, 728–735. https://doi.org/10.1111/jvs.12528
- Clarke, P.J., Lawes, M.J., Midgley, J.J., Lamont, B.B., Ojeda, F., Burrows, G.E., Enright, N.J., Knox, K.J.E., 2013. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. New Phytol. 197, 19–35. https://doi.org/10.1111/nph.12001
- Costa, I.S.C., Lucena, E.M.P., Bonilla, O.H., Guesdon, I.R., Coutinho, Í.A.C., 2020. Seasonal variation in colleter exudates in *Myrcia splendens* (Myrtaceae). Aust. J. Bot. 68, 403. https://doi.org/10.1071/BT20020
- Cruz, R., Duarte, M., Pirani, J.R., Melo-De-Pinna, G.F.A., 2015. Development of leaves and shoot apex protection in Metrodorea and related species (Rutaceae). Bot. J. Linn. Soc. 178, 267–282. https://doi.org/10.1111/boj.12281
- Da Silva, B.H.P., Rossatto, D.R., 2019. Are underground organs able to store water and nutrients? A study case in non-arboreal species from the Brazilian Cerrado. Theor. Exp. Plant Physiol. 31, 413–421. https://doi.org/10.1007/s40626-019-00155-9
- Da Silva, C.J., Barbosa, L.C. de A., Marques, A.E., Baracat-Pereira, M.C., Pinheiro, A.L., Meira, R.M.S.A., 2012. Anatomical characterisation of the foliar colleters in Myrtoideae (Myrtaceae). Aust. J. Bot. 60, 707. https://doi.org/10.1071/BT12149
- Daibes, L.F., Pausas, J.G., Bonani, N., Nunes, J., Silveira, F.A.O., Fidelis, A., 2019. Fire and legume germination in a tropical savanna: ecological and historical factors. Ann. Bot. 123, 1219–1229. https://doi.org/10.1093/aob/mcz028
- De Antonio, A.C., Scalon, M.C., Rossatto, D.R., 2020. The role of bud protection and bark density in frost resistance of savanna trees. Plant Biol. 22, 55–61. https://doi.org/10.1111/plb.13050
- De Campos, B.H., Guimarães, E., Canaveze, Y., Machado, S.R., 2021. Epicormic bud protection traits vary along a latitudinal gradient in a neotropical savanna. Sci. Nat. 108, 11. https://doi.org/10.1007/s00114-021-01722-4
- De Moraes, M.G., de Carvalho, M.A.M., Franco, A.C., Pollock, C.J., Figueiredo-Ribeiro, R. de C.L., 2016. Fire and drought: soluble carbohydrate storage and survival mechanisms in herbaceous plants from the Cerrado. Bioscience 66, 107–117. https://doi.org/10.1093/biosci/biv178

- Dee, J.R., Adams, H.D., Palmer, M.W., 2018. Belowground annual ring growth coordinates with aboveground phenology and timing of carbon storage in two tallgrass prairie forb species. Am. J. Bot. 105, 1975–1985. https://doi.org/10.1002/ajb2.1198
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28, 350–356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017
- Durigan, G., de Abreu, R.C.R., Pilon, N.A.L., Ivanauska, N., Virillo, C., Pivello, V., 2020. Invasão por *Pinus* spp: ecologia, prevenção, controle e restauração. Instituto Florestal -Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Durigan, G., Pilon, N.A.L., Assis, G.B., Souza, F.M., Baitello, J.B., 2018. Plantas pequenas do Cerrado: Biodiversidade Negligenciada, 1st ed. Instituto Florestal - Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Ehleringer, J.R., Mooney, H.A., 1978. Leaf hairs: effects on physiological activity and adaptive value to a desert shrub. Oecologia (Berl.) 37, 183–200.
- Eller, B.M., Willi, P., 1977. The Significance of leaf pubescence for the absorption of global radiation by *Tussilago farfara* L. Oecologia 187, 179–187.
- Ferraro, A., Fidelis, A., Silva, G.S. da, Martins, A.R., Piedade, S.M.D.S., Appezzato-da-Glória, B., 2021. Long-term Pinus plantations reduce the bud bank in Cerrado areas. Appl. Veg. Sci. 24. https://doi.org/10.1111/avsc.12537
- Ferraz, A., Mendonça, R., da Silva, F.T., 2000. Organosolv delignification of white- and brownrotted *Eucalyptus grandis* hardwood. J. Chem. Technol. Biotechnol. 75, 18–24. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(200001)75:1<18::AID-JCTB169>3.0.CO;2-Z
- Ferrer, J.-L., Austin, M.B., Stewart, C., Noel, J.P., 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. Plant Physiol. Biochem. 46, 356–370. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.12.009
- Fidelis, A., Appezzato-da-Glória, B., Pillar, V.D., Pfadenhauer, J., 2014. Does disturbance affect bud bank size and belowground structures diversity in Brazilian subtropical grasslands? Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants 209, 110–116. https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.12.003
- Fidelis, A., Rosalem, P., Zanzarini, V., Camargos, L.S., Martins, A.R., 2019. From ashes to flowers: a savanna sedge initiates flowers 24 h after fire. Ecology 100, 1–4. https://doi.org/10.1002/ecy.2648
- Filartiga, A.L., Bombo, A.B., Garcia, V.L., Appezzato-da-Glória, B., 2017. Belowground organs of four Brazilian Aldama (Asteraceae) species: Morphoanatomical traits and

essential oil profile. South African J. Bot. 113, 150–159. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.08.008

- Franke, R., Schreiber, L., 2007. Suberin a biopolyester forming apoplastic plant interfaces. Curr. Opin. Plant Biol. 10, 252–259. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.004
- Franklin, G.L., 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. Nature 155, 51–51. https://doi.org/10.1038/155051a0
- Gratani, L., 2014. Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. Adv. Bot. 2014, 1–17. https://doi.org/10.1155/2014/208747
- Greenspan, P., Mayer, E.P., Fowler, S.D., 1985. Nile red: A selective fluorescent stain for intracellular lipid droplets. J. Cell Biol. 100, 965–973. https://doi.org/10.1083/jcb.100.3.965
- Gregory, M., Baas, P., 1989. A Survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. Isr. J. Plant Sci. 38, 125–174.
- Haddad, T.M., Pilon, N.A.L., Durigan, G., Viani, R.A.G., 2021. Restoration of the Brazilian savanna after pine silviculture: Pine clearcutting is effective but not enough. For. Ecol. Manage. 491, 119158. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119158
- He, H., Veneklaas, E.J., Kuo, J., Lambers, H., 2014. Physiological and ecological significance of biomineralization in plants. Trends Plant Sci. 19, 166–174. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.002
- Horridge, G.A., Tamm, S.L., 1969. Critical point drying for scanning electron microscopic sthdy of ciliary motion. Science (80). 163, 817–818. https://doi.org/10.1126/science.163.3869.817
- Hudgins, J.W., Krekling, T., Franceschi, V.R., 2003. Distribution of calcium oxalate crystals in the secondary phloem of conifers: a constitutive defense mechanism? New Phytol. 159, 677–690. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00839.x
- Jaffe, M.J., 1980. Morphogenetic responses of plants to mechanical stimuli or stress. Bioscience 30, 239–243. https://doi.org/10.2307/1307878
- Jensen, W.A., 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco, W.H. Freeman.
- Joaquim, E.O., Hayashi, A.H., Torres, L.M.B., Figueiredo-Ribeiro, R.C.L., Shiomi, N., de Sousa, F.S., Lago, J.H.G., Carvalho, M.A.M., 2018. Chemical structure and localization of levan, the predominant fructan type in underground systems of *Gomphrena marginata* (Amaranthaceae). Front. Plant Sci. 9. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01745
- Johansen, D.A., 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, London.

Johnson, H.B., 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. Bot. Rev. 41, 233–258.

- Karabourniotis, G., Liakopoulos, G., Nikolopoulos, D., Bresta, P., 2020. Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: structure–function coordination. J. For. Res. 31, 1–12. https://doi.org/10.1007/s11676-019-01034-4
- Karnovsky, M.J., 1964. A Formaldehyde-Glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell Biol. 27, 137–138.
- Klimesová, J., Klimeš, L., 2007. Bud banks and their role in vegetative regeneration A literature review and proposal for simple classification and assessment. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 8, 115–129. https://doi.org/10.1016/j.ppees.2006.10.002
- Klimešová, J., Martínková, J., Ottaviani, G., 2018. Belowground plant functional ecology: Towards an integrated perspective. Funct. Ecol. 32, 2115–2126. https://doi.org/10.1111/1365-2435.13145
- Klimešová, J., Martínková, J., Pausas, J.G., de Moraes, M.G., Herben, T., Yu, F.-H., Puntieri, J., Vesk, P.A., de Bello, F., Janeček, Š., Altman, J., Appezzato-da-Glória, B., Bartušková, A., Crivellaro, A., Doležal, J., Ott, J.P., Paula, S., Schnablová, R., Schweingruber, F.H., Ottaviani, G., 2019. Handbook of standardized protocols for collecting plant modularity traits. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 40, 125485. https://doi.org/10.1016/j.ppees.2019.125485
- Klink, C.A., Machado, R.B., 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. Conserv. Biol. 19, 707–713. https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00702.x
- Kulbat, K., 2016. The role of phenolic compounds in plant resistance. Biotechnol. Food Sci. 80, 97–108.
- Levin, D.A., 1973. The role of trichomes in plant defense. Q. Rev. Biol. 48.
- Longui, E.L., Rajput, K.S., Galvão de Melo, A.C., de Araújo Alves, L., do Nascimento, C.B., 2017. Root to branch wood anatomical variation and its influence on hydraulic conductivity in five Brazilian Cerrado species. Bosque (Valdivia) 38, 183–193. https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000100018
- Lopes-Mattos, K.L.B., Azevedo, A.A., Soares, A.A., Meira, R.M.S.A., 2013. Underground system of *Mandevilla atroviolacea* (Stadelm.) Woodson (Apocynaceae, Apocynoideae) from the Brazilian high-altitude grassland. South African J. Bot. 87, 27–33. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.03.007
- Loram-Lourenço, L., Farnese, F. dos S., Sousa, L.F. de, Alves, R.D.F.B., Andrade, M.C.P. de, Almeida, S.E. da S., Moura, L.M. de F., Costa, A.C., Silva, F.G., Galmés, J., Cochard, H., Franco, A.C., Menezes-Silva, P.E., 2020. A Structure shaped by fire, but also water:

ecological consequences of the variability in bark properties across 31 species from the Brazilian Cerrado. Front. Plant Sci. 10. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01718

- Luque, R., Sousa, H.C. de, Kraus, J.E., 1996. Métodos de coloração de Roeser (1972): modificado e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. Acta Bot. Brasilica 10, 199–212. https://doi.org/10.1590/s0102-33061996000200001
- Machado, S.R., Canaveze, Y., Rodrigues, T.M., 2017. Structure and functioning of oil cavities in the shoot apex of *Metrodorea nigra* A. St.-Hil. (Rutaceae). Protoplasma 254, 1661–1674. https://doi.org/10.1007/s00709-016-1056-x
- Marcati, C.R., Oliveira, J.S., Machado, S.R., 2006. Growth rings in cerrado woody species: occurrence and anatomical markers. Biota Neotrop. 6. https://doi.org/10.1590/s1676-06032006000300001
- Martins, A.R., Pütz, N., Soares, A.N., Bombo, A.B., da Glória, B.A., 2010. New approaches to underground systems in Brazilian Smilax species (Smilacaceae). J. Torrey Bot. Soc. 137, 220–235. https://doi.org/10.3159/10-RA-024R.1
- Melo, A.C.G., Durigan, G., 2011. Estação Ecológica de Santa Bárbara: plano de manejo. Instituto Florestal/SEMA, São Paulo.
- Moreira, B., Tormo, J., Pausas, J.G., 2012. To resprout or not to resprout: factors driving intraspecific variability in resprouting. Oikos 121, 1577–1584. https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.20258.x
- Mota, G.S., Sartori, C.J., Ferreira, J., Miranda, I., Quilhó, T., Mori, F.A., Pereira, H., 2016.
  Cellular structure and chemical composition of cork from *Plathymenia reticulata* occurring in the Brazilian Cerrado. Ind. Crops Prod. 90, 65–75. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.014
- Mota, G.S., Sartori, C.J., Miranda, I., Quilhó, T., Mori, F.A., Pereira, H., 2017. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. PLoS One 12, e0189263. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189263
- O'Gara, E., Howard, K., Colquhoun, I.J., Dell, B., McComb, J., Hardy, G.S.E.J., 2009. The development and characteristics of periderm and rhytidome in *Eucalyptus marginata*. Aust. J. Bot. 57, 221. https://doi.org/10.1071/BT08225
- Ott, J.P., Klimešová, J., Hartnett, D.C., 2019. The ecology and significance of below-ground bud banks in plants. Ann. Bot. 123, 1099–1118. https://doi.org/10.1093/aob/mcz051

- Paiva, E.A.S., 2019. Are calcium oxalate crystals a dynamic calcium store in plants? New Phytol. 223, 1707–1711. https://doi.org/10.1111/nph.15912
- Park, Y.K., Ikegai, M., Abreu, J.A. da S., Alcici, N.M.F., 1998. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. Ciência e Tecnol. Aliment. 18, 313–318. https://doi.org/10.1590/S0101-20611998000300011
- Parr, C.L., Lehmann, C.E.R., Bond, W.J., Hoffmann, W.A., Andersen, A.N., 2014. Tropical grassy biomes: misunderstood, neglected, and under threat. Trends Ecol. Evol. 29, 205–213. https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.02.004
- Pausas, J.G., 2015. Bark thickness and fire regime. Funct. Ecol. 29, 315–327. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12372
- Pausas, J.G., Lamont, B.B., Paula, S., Appezzato-da-Glória, B., Fidelis, A., 2018. Unearthing belowground bud banks in fire-prone ecosystems. New Phytol. 217, 1435–1448. https://doi.org/10.1111/nph.14982
- Pearse, A.E., 1953. Histochemistry: Theoretical and applied. Am. J. Med. Sci.
- Pilon, N.A.L., Cava, M.G.B., Hoffmann, W.A., Abreu, R.C.R., Fidelis, A., Durigan, G., 2021. The diversity of post-fire regeneration strategies in the cerrado ground layer. J. Ecol. 109, 154–166. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13456
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J.C., Peña-Claros, M., Sterck, F., Villegas, Z., Sass-Klaassen, U., 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. New Phytol. 185, 481–492. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03092.x
- Ribeiro, J.F., Almeida, S.P., Sano, S.M., 2008. Cerrado: Ecologia e Flora, 1st ed. Embrapa Cerrados, Brasília, DF.
- Rizzini, C.T., Heringer, E.P., 1966. Estudo sobre os sistemas subterrâneos difusos de plantas campestres. An. Acad. Bras. Cienc. 38, 85–112.
- Rizzini, C.T., Heringer, E.P., 1965. Estudos experimentais sobre o xilopódio e outros orgãos tuberosos de plantas do Cerrado. An. Acad. Bras. Cienc. 37, 87–113.
- Rizzini, C.T., Heringer, E.P., 1962. Studies on the underground organs of trees and shrurbs from some southern Brazilian savanas. An. Acad. Bras. Cienc. 34, 235–247.
- Rizzini, C.T., Heringer, E.P., 1961. Undergrouns organs of plants from some southern Brazilian savannas, with special reference to the xylopodium. Phyton (B. Aires). 17, 105–124.
- Sakai, W.S., 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using Toluidine Blue O. Stain Technol. 48, 247–249. https://doi.org/10.3109/10520297309116632

- Sano, E.E., Rosa, R., Brito, J.L.S., Ferreira, L.G., 2010. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. Environ. Monit. Assess. 166, 113–124. https://doi.org/10.1007/s10661-009-0988-4
- Santiago, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Fisher, J.B., Machado, K., Woodruff, D., Jones, T., 2004. Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. Oecologia 140, 543–550. https://doi.org/10.1007/s00442-004-1624-1
- Scholz, A., Klepsch, M., Karimi, Z., Jansen, S., 2013. How to quantify conduits in wood? Front. Plant Sci. 4. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00056
- Schuepp, P.H., 1993. Leaf boundary layers. New Phytol. 125, 477-507.
- Serra, O., Figueras, M., Franke, R., Prat, S., Molinas, M., 2010. Unraveling ferulate role in suberin and periderm biology by reverse genetics. Plant Signal. Behav. 5, 953–958. https://doi.org/10.4161/psb.5.8.12405
- Silva, C.J. da, Ribeiro, J.P.O., Meira, R.M.S.A., 2019. New registers of colleters in species of Myrtaceae from Brazilian Cerrado. Rodriguésia 70. https://doi.org/10.1590/2175-7860201970055
- Silva, G.S. DA, Ferraro, A., Ogando, F.I.B., Aguiar, C.L. DE, Appezzato-da-Glória, B., 2020. Structures related to resprouting potential of two Myrtaceae species from Cerrado: morphoanatomical and chemical studies. An. Acad. Bras. Cienc. 92. https://doi.org/10.1590/0001-3765202020180472
- Silva, T.M., Vilhalva, D.A.A., Moraes, M.G., Figueiredo-Ribeiro, R. de C.L., 2015. Anatomy and fructan distribution in vegetative organs of *Dimerostemma vestitum* (Asteraceae) from the campos rupestres. An. Acad. Bras. Cienc. 87, 797–812. https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140214
- Simon, M.F., Grether, R., de Queiroz, L.P., Skema, C., Pennington, R.T., Hughes, C.E., 2009. Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. Proc. Natl. Acad. Sci. 106, 20359–20364. https://doi.org/10.1073/pnas.0903410106
- Simon, M.F., Pennington, T., 2012. Evidence for adaptation to fire regimes in the tropical savannas of the Brazilian Cerrado. Int. J. Plant Sci. 173, 711–723. https://doi.org/10.1086/665973
- Soffiatti, P., Angyalossy-alfonso, V., Vliet, C. Van, Mundo, V., Wyk, A. Van, Atlântica, M., 1999. Estudo anatômico comparativo do lenho e da casca de duas espécies de *Eugenia* L ( Myrtaceae). Rev. Bras. Botânica 3, 175–184.

- Spicher, G., 1985. Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik Eine Einführung. 3., unveränderte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1984. 311 Seiten, mit 45 Abb., flexibles Taschenbuch DM 26,80. Starch - Stärke 37, 34–34. https://doi.org/10.1002/star.19850370120
- Sterck, F.J., Zweifel, R., Sass-Klaassen, U., Chowdhury, Q., 2008. Persisting soil drought reduces leaf specific conductivity in Scots pine (*Pinus sylvestris*) and pubescent oak (*Quercus pubescens*). Tree Physiol. 28, 529–536. https://doi.org/10.1093/treephys/28.4.529
- Stevens, N., Lehmann, C.E.R., Murphy, B.P., Durigan, G., 2017. Savanna woody encroachment is widespread across three continents. Glob. Chang. Biol. 23, 235–244. https://doi.org/10.1111/gcb.13409

Strasburguer, E., 1913. Handbook of practical botany. London: George Allen.

- Thomas, V., 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. Ann. Bot. 68, 287–305. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088256
- Tomazello Filho, M., Lisi, C.S., Hansen, N., Cury, G., 2004. Anatomical features of increment zones in different tree species in the State of São Paulo, Brazil. Sci. For. Sci. 46–55.
- Tresmondi, F., Canaveze, Y., Guimarães, E., Machado, S.R., 2017. Colleters in Rubiaceae from forest and savanna: the link between secretion and environment. Sci. Nat. 104, 17. https://doi.org/10.1007/s00114-017-1444-x
- Veldman, J.W., Buisson, E., Durigan, G., Fernandes, G.W., Le Stradic, S., Mahy, G., Negreiros, D., Overbeck, G.E., Veldman, R.G., Zaloumis, N.P., Putz, F.E., Bond, W.J., 2015. Toward an old-growth concept for grasslands, savannas, and woodlands. Front. Ecol. Environ. 13, 154–162. https://doi.org/10.1890/140270
- Vergílio, P.C.B., Marcati, C.R., 2017. Adaptive and diagnostic significance of the bark of *Stryphnodendron polyphyllum* (Leguminosae) from the Cerrado. Aust. J. Bot. 65, 157. https://doi.org/10.1071/BT16212
- Vesk, P.A., Westoby, M., 2004. Funding the bud bank: a review of the costs of buds. Oikos 106, 200–208. https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.13204.x
- Zanzarini, V., Zanchetta, D., Fidelis, A., 2019. Do we need intervention after pine tree removal? The use of different management techniques to enhance Cerrado natural regeneration. Perspect. Ecol. Conserv. 17, 146–150. https://doi.org/10.1016/j.pecon.2019.07.001