

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

O balanço entre o desenvolvimento estrutural e o fisiológico de folhas de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) com distintos níveis de maturação

Gabriel Felisberto dos Santos

Orientadora: Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira (INBIO/UFU)

Coorientador: Dr. Vinicius Coelho Kuster (UFG-Jataí)

Uberlândia – MG

Junho/2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**O balanço entre o desenvolvimento estrutural e o fisiológico de folhas de *Eugenia
uniflora* (Myrtaceae) com distintos níveis de maturação**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Licenciatura em Ciências
Biológicas.

Homologado pela Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em ____/____/____.

Vanessa Stefani S. Moreira

Uberlândia – MG

Junho/2019

O balanço entre o desenvolvimento estrutural e o fisiológico de folhas de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) com distintos níveis de maturação

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas
da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Licenciatura em Ciências
Biológicas.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira/UFU

Prof^ª. Dra. Renata Carmo de Oliveira/UFU

M^ª. Uiara Costa Rezende/UFU

Uberlândia – MG

Junho/2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus e a Nossa Senhora da Aparecida, pois sem eles eu nada seria. Aos meus queridos e amados pais e minha avó (Tuta) por todo o amor, por cada conselho, por me incentivarem, pelo apoio, e por estarem ao meu lado sempre e não me deixarem desistir nunca. Ao meu namorado Douglas, pois não tenho palavras para agradecer tudo o que fez e faz por mim, pelo carinho, paciência, amor, forças, por me incentivar nos estudos e sempre acreditar em mim. À Prof.^a a Dr.^a Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira pela oportunidade de trabalhar em sua equipe, pela orientação, pela amizade, conselhos e todo o ensino, assim como também uma das mulheres mais fortes que conheci em minha jornada e que me disse que “tem coisas que vale a pena lutar, e que eu sou uma delas”. Ao meu grande Coorientador e amigo Dr. Vinicius Coelho Kuster, que viu potencial em mim que nem eu mesmo via, me encorajou de todos os modos a sempre continuar em frente e nunca olhar para trás. À todos os meus colegas do LAFIVE e LADEVI (Laboratório de Fisiologia Vegetal e Laboratório de Desenvolvimento Vegetal e Interações) pelo apoio e principalmente à Ana Flávia que por muitas e muitas vezes me ouviu, me abraçou, me fez rir e contribuiu muito para a minha não desistência na reta final, assim como me ajudou de forma especial neste trabalho. Luana (irmã de consideração), que desde o começo me ofereceu um lugar para morar, que compartilhou comigo momentos felizes e principalmente tristes, chorando comigo todas as lágrimas de angústia. À Prof. Dr.^a. Ana Paula Fernandes pela dedicação e cumplicidade, pela colaboração com as análises estatísticas e pelas conversas amigáveis de aconselhamento.

SUMÁRIO

1. <i>Resumo</i>	06
2. <i>Artigo científico</i>	08
<i>Abstract</i>	09
<i>Introdução</i>	10
<i>Material e métodos</i>	12
<i>Resultados</i>	15
<i>Discussão</i>	17
<i>Considerações finais</i>	22
<i>Referências</i>	23
<i>Tabelas</i>	28
<i>Figuras</i>	29
3. <i>Normas da Acta Botanica Brasilica</i>	34

RESUMO

A quantidade e qualidade de raios solares a qual a planta está exposta pode levar ao desencadeamento de vários processos fisiológicos como por exemplo: o estresse oxidativo, o qual podem gerar dano a planta, assim como pigmentos fotoprotetores (antocianinas e carotenoides), maior ou menor expansão foliar etc. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes respostas fisiológicas e estruturais nos tecidos de folhas com distintos níveis de maturação de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae). Foram encontradas menor espessura da lâmina foliar nas folhas juvenis, assim como a menor razão clorofila *a/b* e maior conteúdo de antocianinas. Espécies reativas de oxigênio (ERO) identificadas nos tecidos, mostrou-se distribuídas de forma homogênea entre o parênquima lacunoso e paliçádico, em consequência de sua imaturidade. Com o decorrer do amadurecimento tecidual, as folhas do 2° e 4° nós apresentaram-se em fase de alongamento e desenvolvimento por completo, com consequente aumento do conteúdo de pigmentos fotossintéticos e concentração de ERO nas cavidades secretoras, feixes vasculares e parênquima paliçádico. Nas folhas a partir do 4° nó, foi evidenciado uma maior razão clorofila/carotenoides e um aumento significativo do estresse oxidativo nos tecidos em fase final de desenvolvimento. A coloração avermelhada presente nas folhas jovens de *E. uniflora*, é decorrente de um maior acúmulo de pigmentos fotoprotetores. Estes pigmentos homogeneizam a distribuição de luz, o que levou a menor produção de malonaldeído em estágios iniciais de desenvolvimento das folhas, em contrapartida a presença de ERO nestes estágios iniciais revelam seu papel na morfogênese foliar. No final, a imaturidade foliar e menor proteção estrutural a luz não levaram ao aumento da fotoinibição ou redução do rendimento quântico, apenas ocasionando uma menor eficiência no transporte de elétrons.

Palavras chaves: antocianinas, carotenoides, estresse, fluorescência da clorofila, fotoproteção.

O balanço entre o desenvolvimento estrutural e o fisiológico de folhas de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) com distintos níveis de maturação

Gabriel Felisberto dos Santos^{1*}; Vinicius Coelho Kuster²; Ana Flávia de Melo Silva³; Ana Silvia Franco Pinheiro Moreira⁴

¹ Graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

² Instituto de Biologia, Universidade Federal de Goiás – campus Jataí, Jataí, GO, Brasil.

³ Pós-graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

⁴ Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

Abstract

The luminosity that reaches the plants vary according to the type of ecosystem that these individuals are inserted, affecting both directly and indirectly the development, energy production etc. The amount and quality of solar rays may trigger physiological processes such as oxidative stress, which can be harmful to the plant, as well as photoprotective pigments (anthocyanins and carotenoids). The objective of this work was to evaluate if young, transitional and mature leaves of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) with different levels of maturation would have modifications in the physiological and structural traits of their leaf tissues. During the foliar maturation, the 2nd and 4th nodes complete their elongation and development, consequently increasing the content of photosynthetic pigments, as well as the concentration of ROS in specific tissues. The reddish coloration in young leaves of *E. uniflora* is due to the greater accumulation of photoprotective pigments, homogenizing the distribution of light leading to the lower production of malonaldehyde in the initial stages of development. In the end, leaf maturity and less structural light scaling did not lead to increased photoinhibition or reduction of quantum yield, causing only a lower efficiency in electron transport.

Keywords: Anthocyanin, carotenoids, chlorophyll fluorescence, photoprotection, oxidative stress

Introdução

A quantidade e qualidade de luz a qual a planta está exposta pode levar ao desencadeamento de vários processos fisiológicos e estruturais, isto é, dependendo das interações com o meio ao qual estará inserida. Do ponto de vista abiótico, a posição do sol, a topografia local e a quantidade de nuvens influenciam a qualidade do ambiente lumínico (Ganeteg *et al.* 2004; Hirth *et al.* 2013; Moreira *et al.* 2013). Quanto aos fatores bióticos, a presença de uma vegetação em áreas com níveis distintos de densidade, o porte dos indivíduos, sua fenologia e o grau de herbivoria podem inferir na quantidade e qualidade da luz que chega aos diferentes estratos vegetais, como ocorre em áreas florestais (Olf *et al.* 1997; Bloor & Grubb 2004; Oliveira 2008; Morellato *et al.* 2016). Esta quantidade e qualidade de luz do ambiente irão regular distintamente o desenvolvimento, crescimento e distribuição das plantas (Murchie & Horton 1997; Bloor & Grubb 2003; Kelly *et al.* 2009). Além disso, em uma escala macro, a luminosidade será um dos fatores preponderantes para o gerenciamento da sucessão ecológica e evolução de comunidades de plantas (Valladares & Niinemets 2008; Zhang *et al.* 2012).

Características morfológicas e fisiológicas das plantas têm relação direta com a luminosidade do local onde crescem como visto em *Ruppia maritima*. Maior ou menor expansão foliar, mudanças na espessura e densidade dos tecidos, quantidade de tricomas e escleromorfismo são, por exemplo, respostas encontradas em espécies adaptadas à sombra ou expostas à pleno sol, a fim de maximizar seu *fitness* e evitar prejuízos aos seus fotossistemas (Rizzini 1976; Lüttge 1997; Colares *et al.* 2006). Assim, a quantidade de fótons que a planta recebe irá definir as taxas fotossintéticas ou a ocorrência de fotoinibição, refletindo na quantidade de matéria seca, no tamanho da planta, na razão entre parênquima paliçádico e lacunoso da folha, e nas concentrações de clorofila *a* e *b* e carotenoides (Armelin &

Mantovani 2001; Larcher 2006). As plantas expostas ao pleno sol apresentam mudanças nas concentrações de carotenoides, este sendo indicativo de estresse luminoso, em virtude desse pigmento possuir função fotoprotetora, evitando danos ao aparelho fotossintético e a ocorrência de fotoinibição. Por outro lado, maior proporção de clorofila *b* com relação à clorofila *a*, é indicativo de adaptação à sombra (Krause *et al.* 1995).

O excesso de luminosidade pode também aumentar significativamente o estresse oxidativo em órgãos vegetais, detectado pela alta produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Murata *et al.* 2012). Segundo Resende *et al.* (2003), as ERO são formadas por substâncias que não necessitam da entrada de energia para reação, tais como ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são produzidas pelo próprio metabolismo intrínseco da planta, como os decorrentes da atividade das mitocôndrias e dos cloroplastos (Ahmad 2014), porém podem ser hiperproduzidas em condições ambientais estressantes. Em contrapartida, o MDA é um subproduto da lipoxidação (Halliwell & Gutteridge 1999). Estas moléculas podem ser detectadas diretamente no tecido vegetal através de testes histoquímicos, como o 3,3'-diaminobenzidina - DAB (Rossetti & Bonnatti 2001). O malonaldeído também é um dos principais compostos produzidos pelo estresse oxidativo e por tal motivo também é um marcador regular de dano oxidativo (Mendes *et al.* 2009; Gad & Sayd 2015).

Folhas juvenis são particularmente mais vulneráveis ao excesso luminoso, levando à fotoinibição em virtude de sua imaturidade (Krause *et al.* 1995). É de se esperar que a imaturidade estrutural, e conseqüente susceptibilidade ao estresse luminoso, faça com que as folhas apresentem alternativas fisiológicas, como produção de pigmentos fotoprotetores, no combate a danos permanentes. Folhas são geralmente vermelhas quando juvenis (Lee 2002) em decorrência da presença de pigmentos como os carotenoides e as antocianinas (Lee 2010); Menzis *et al.* 2016). Desta forma, diferentes estágios de maturação foliar pode gerar um gradiente fisiológico e estrutural em plantas, desencadeado por alterações em seus processos

básicos, como a fotossíntese. Para avaliar este gradiente, *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) foi selecionada como modelo de estudo. Tal seleção baseou-se na diferenciação da coloração entre as folhas jovens (1° nó, vermelhas), folhas em transição (2° e 4° nós, verdes com bordas avermelhadas) e maduras (6° nó, totalmente verdes). A maturidade foliar em *E. uniflora* foi delimitada pelo local de inserção de suas folhas junto ao ramo, uma vez que para as folhas mais jovens sempre são localizadas na parte mais externa da planta mãe. Em contrapartida, as folhas mais velhas são localizadas em partes mais internas, dificultando a entrada de luz. A distinção marcante na coloração das folhas nos faz acreditar que as folhas jovens recorrem à produção de carotenoides e antocianinas por serem mais susceptíveis a danos decorrentes da alta luminosidade do ambiente. Frente a esse maior estresse luminoso, é possível que folhas jovens de *E. uniflora* apresentem as seguintes respostas: i) menor proteção estrutural à luz; ii) maior produção de ERO e malonaldeído, como resposta ao estresse luminoso; iii) maior fotoinibição e menor rendimento quântico devido à imaturidade do aparato fotossintético; e iv) maior concentração de pigmentos fotoprotetores, como carotenoides e antocianinas.

Material e métodos

Espécie modelo, área de estudo e delineamento experimental

Eugenia uniflora (Myrtaceae) é uma espécie sempre-verde nativa de florestas semidecíduais e restinga (Assis *et al.* 2004) e comumente cultivada em ambientes urbanos. Ocorre de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul e em regiões de clima subtropical (Araújo & Henriques 1984; Argôlo 2001; Lemos *et al.* 2001). Neste estudo, folhas jovens (1° nó, vermelhas), em transição (2° e 4° nós, verdes com bordas avermelhadas) e maduras (a partir do 6° nó, verdes) de 6 indivíduos foram coletadas no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, cidade de Uberlândia, Minas Gerais, e utilizadas para avaliações anatômicas e fisiológicas. A seleção do ramo procedeu-se de forma aleatória, sendo coletadas

duas folhas de cada nó. Foram selecionados para as análises os 1º, 2º, 4º e 6º nós (n=6 para cada estágio de desenvolvimento). Foram desconsiderados os 3º e 5º nós por já apresentarem coloração verde e textura semelhante aos 4º e 6º nós, respectivamente.

Caracterização anatômica

Fragmentos da região mediana da lâmina foliar de cada estágio de desenvolvimento foram fixados em FAA₅₀ (formaldeído, ácido acético, etanol 50%, 1:1:18 v/v/v) por 48 h e transferidos posteriormente para etanol 70% (Johansen. 1940). O material foi incluído em 2-hidroxietilmetacrilato conforme recomendações do fabricante (Historesin[®], Leica Instruments, Heidelberg), seccionado transversalmente em micrótomo rotativo (YD-315, China) a 5 µm, sendo os cortes corados com azul de toluidina 0.05%, pH 4.7 (O'Brien & McCully 1981). Cortes a mão livre utilizando lâmina de aço descartável foram realizados em folhas do 1º nó (imaturas) e 6º nó (totalmente maduras), sem aplicação de corantes ou clarificação, afim de evidenciar a diferença dos tecidos de acordo com o grau de maturidade.

Para caracterização micromorfométrica utilizou-se material incluído em historesina, com imagens obtidas com fotomicroscópio (Leica DM500[®], Alemanha), equipado com câmera digital acoplada (Leica[®] ICC50HD, Alemanha). Para medição da espessura da epiderme na face abaxial e adaxial das folhas, do parênquima paliádico e do parênquima lacunoso foi utilizado o software Image Pro-Plus[®] (versão 4.1 para Windows, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA), com seleção aleatória de 3 cortes por folha. A média dos 3 valores foi utilizada como referência para análises estatísticas.

Análises histoquímicas

Testes histoquímicos foram realizados para identificação de ERO (estresse oxidativo/peróxido de hidrogênio), em secções transversais de fragmentos foliares frescos e recém-coletados, com utilização de 3,3' diaminobenzidina a 0.5% - DAB Sigma (Rossetti & Bonnatti 2001).

Fluorescência da clorofila a e conteúdo de pigmentos fotossintéticos

O rendimento quântico potencial (Fv/Fm) e a taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) foram avaliados de 3 em 3 horas, das 8.00 às 17.00 h (exceto Fv/Fm que também foi avaliado no escuro (*pre-down*), usando um medidor de fluorescência modulada (MINI-PAM, Walz). Para determinação do Fv/Fm, as folhas foram adaptadas ao escuro por 30 minutos, sendo que Fm é a fluorescência máxima emitida após um pulso de luz saturante e Fv compreende a diferença entre Fm e F₀ (F₀ corresponde à mínima fluorescência da folha adaptada ao escuro) (Genty *et al.* 1989).

Os pigmentos fotossintéticos foram quantificados a partir de discos foliares de 0,4 cm² imersos em acetona 80% por 48 horas. As amostras foram centrifugadas a 1000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante levado para leitura da absorbância a 470, 646 e 663 nm em espectrofotômetro (SP-220, Biospectro, Curitiba). O cálculo da clorofila *a*, *b* e dos carotenoides foi realizado de acordo com Lichtenthaler & Wellburn (1983).

Extração de antocianina

Foram utilizados padrões de refletância espectral para avaliar os teores de antocianinas nas folhas dos diferentes nós (n=6), calculando o índice de reflectância de antocianinas (IRA) (*sensu* Gitelson *et al.* 2001). O IRA foi obtido pela diferença entre as refletâncias inversas de 550 (pico de absorção de antocianinas) e 700 nm (subtração do efeito de clorofilas) (Gitelson *et al.* 2001). As medidas de reflectância foram obtidas com um espectrômetro Handheld (UV-Vis JAZ, Ocean Optics®, USA). Foram realizadas medidas em triplicatas, utilizando a média dos valores para o cálculo do IRA.

Peroxidação lipídica por quantificação de malonaldeído

O nível de peroxidação lipídica foi determinado através da quantificação de malonaldeído (MDA). Para tal, foi utilizado o método de Heath & Packer (1968), associado com Hodges *et al.* (1999). As folhas foram coletadas e armazenadas em nitrogênio líquido

ainda em campo, sendo 0,2 g das amostras maceradas com adição de 0,02 g de polivinilpolipirrolidona. Em seguida, 2 mL de solução de ácido tricloroacético 1% (TCA) (m/v) foram adicionados às amostras, com posterior centrifugação a 12000 g durante 15 min a 4 °C. Retirou-se do sobrenadante 500 µL de solução e foi adicionado à 1,5 mL de solução com ácido tiobarbitúrico (TBA) e ácido tricloroacético (0,5% TBA, 20% TCA, m/v), com o material mantido em banho-maria a 90°C durante 20 minutos. A reação foi bloqueada através da imersão do material em gelo e as amostras novamente centrifugadas a 3000 rpm durante 4 minutos. Triplicatas de cada amostra foram lidas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 440, 532 e 600 nm, sendo as médias dos valores utilizadas para obtenção dos dados. Para remover leituras oriundas de compostos estruturalmente similares, os testes também foram realizados em solução com ausência do TBA.

Análise dos dados

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados de histometria foliar, conteúdo de pigmentos cloroplastídicos, antocianinas, malonaldeído e fluorescência da clorofila *a*. Parâmetros com dados de distribuição normal dos diferentes estágios de desenvolvimento (1°, 2°, 4° e 6° nós) (histometria e conteúdo de pigmentos cloroplastídicos) foram comparados por ANOVA, utilizando-se Tukey como pós teste. Dados não-paramétricos (antocianinas e malonaldeído) foram avaliados através do teste Kruskal-Wallis. Os dados referentes ao rendimento quântico potencial ao longo do dia foram analisados utilizando-se uma ANOVA de dois fatores (estágios de desenvolvimento e horas do dia). Todas as análises foram realizadas com o software JMP (SAS Institute, USA), considerando-se 5% de probabilidade.

Resultados

Alterações fisiológicas decorrentes da maturidade foliar

As folhas de *E. uniflora* são simples e inteiras. Quando jovens apresentam intensa coloração vermelha, sendo tal coloração substituída pela cor verde com o desenvolvimento foliar (completamente verdes no 4° nó) (Fig. 1A, 3A e B).

A menor espessura da lâmina foliar foi observada nas folhas do 1° nó (Fig. 1A). Nas folhas deste nó, a epiderme encontra-se achatada e com conformação retangular (Fig. 2B). Há uma camada de parênquima paliçádico em alongamento, parênquima lacunoso em expansão, feixes em diferenciação e cavidades secretoras com lume reduzido (Fig. 2B; 2C; 2D). A epiderme na face abaxial é o único tecido que já atinge sua espessura final no 1° nó (Fig. 2B; 2C; 2D, 2E). No 2° e 4° nós as folhas se espessam em decorrência da diferenciação dos tecidos, com expansão celular total ou parcialmente finalizada (Fig. 2C; 2D). Em virtude disso, o parênquima paliçádico e o lacunoso alcançam sua maior espessura nesses nós (Fig. 2C; 2D), com predominância do parênquima lacunoso, que ocupa cerca de 65% da espessura total. As cavidades secretoras apresentam lume amplo com idioblastos cristalíferos contendo drusas. No 6° nó ocorre redução da espessura final da lâmina foliar, decorrente da redução da espessura de todos os seus tecidos, com exceção da epiderme na face abaxial. Nesse estágio, o parênquima lacunoso apresenta células com amplos espaços intercelulares (Fig. 2E).

Alterações fisiológicas decorrentes da maturidade foliar

O maior conteúdo de pigmentos fotossintéticos foi encontrado nas folhas dos 4° e 6° nós, assim como a maior razão clorofila/carotenoides. Uma menor razão clorofila *a/b* foi encontrada apenas no 1° nó (Tabela 1), bem como maior conteúdo de antocianinas, segundo o índice de reflectância (Tabela 1).

As imagens das folhas do primeiro nó que mostram a histolocalização de ERO indicam uma distribuição mais homogênea do peróxido de hidrogênio entre o parênquima lacunoso e paliçádico (Fig. 3C). Com o amadurecimento das folhas, uma intensa coloração foi

observada no parênquima paliçádico (Fig. 3D), nas cavidades secretoras (Fig. 3D a H) e nos feixes vasculares (Fig 3E e G). As análises do conteúdo de malonaldeído confirmam um aumento do estresse oxidativo com a maturação das folhas, apresentando valores até 100% maiores nas folhas do 6° nó com relação as dos 1° e 2° nós (Tabela 2).

Não foram observadas diferenças entre o Fv/Fm mensurados no *predawn* entre as folhas nos diferentes estágios de desenvolvimento, com valores pouco inferiores a 0,8, indicando uma leve fotoinibição (Tabela 2). Entretanto, avaliando-se o comportamento diário de cada estágio de desenvolvimento, pode-se observar que as folhas mais jovens (1° nó) são as que apresentam maior estresse luminoso entre 12:00h até às 14:00h (Fig. 4A). Por outro lado, as folhas do 4° e 6° nós não sofrem redução significativa nos valores de rendimento quântico potencial ao longo do dia (Fig. 4A). De fato, se observarmos os dados de ETR, as folhas mais jovens apresentam menor inclinação da curva, indicando menor eficiência deste parâmetro (Fig. 4B).

Discussão

As folhas jovens de *Eugenia uniflora* apresentaram, em decorrência do seu aparato fotossintético imaturo, menor eficiência no transporte de elétrons, bem como maior estresse luminoso nos horários de pico de luz. Esses resultados mostram sua vulnerabilidade a elevada luminosidade ambiente, como destacado por Krause *et al.* (1995). Essa imaturidade foliar desencadeou diretamente um aumento na produção de antocianinas e baixa relação de clorofila/carotenoide, refletindo assim em uma maior concentração de pigmentos fotoprotetores principalmente nas folhas do 1 nó. Além disso, houve um acúmulo desses pigmentos no parênquima paliçádico nas folhas juvenis, reduzindo danos no aparato fotossintético nessa região e no parênquima lacunoso, confirmando nossa hipótese.

Desenvolvimento estrutural

A luminosidade é uma condição ambiental abiótica que desencadeia ajustes morfológicos e fisiológicos, além de determinar os níveis de adaptações das espécies vegetais (Oguchi et al. 2005; Reich 2014; Laanisto e Niinemets 2015). Esses ajustes ocorrem em nível genérico ou específico, nesse último caso em ramos dentro de cada indivíduo. Em *Ouratea castaneifolia* Engl. (Ochnaceae), por exemplo, houve modulações na espessura dos tecidos foliares em decorrência da diferença de luminosidade entre indivíduos ocorrentes em áreas de sub-bosque e borda do Cerrado (Barbosa-Campos et al. 2018). Para *E. uniflora*, as alterações morfológicas foram percebidas entre folhas de um mesmo ramo, indicando um nível específico de adaptação ao estresse luminoso.

A epiderme é revestida por uma cutícula, com funções relacionadas a redução da perda de água e barreira ao movimento de diferentes substâncias entre as células epidérmicas e a atmosfera (Riederer e Schreiber 2001), além de ser um filtro de luz (Dickison 2000). Em *E. uniflora*, a presença de uma cutícula delgada coloca em destaque o papel das células epidérmicas como filtro de luz, o que pode explicar a sua variação em espessura ao longo dos nós avaliados. Em *Byrsonima verbascifolia* e *Solanum lycocarpum*, a epiderme na face adaxial aumentou de espessura em decorrência da maior exposição de luz nas elevadas altitudes do Campo Rupestre, sem alteração na face abaxial (Kuster et al. 2016). Os autores relacionaram os resultados a maior duração da luz em áreas de alta altitude, com maior influência na espessura na face adaxial por ser a com maior exposição direta a luminosidade local. Resultados similares foram encontrados para *E. uniflora*, que alterou a espessura da epiderme ao longo da maturação foliar em ambas as faces da folha, tanto em virtude da diferença de luminosidade, mas principalmente quanto ao processo de expansão celular típico do desenvolvimento vegetal. Assim, a maior espessura na epiderme na face adaxial das folhas

de 2° nó de *E. uniflora* mostra um rápido amadurecimento deste tecido, auxiliando na redução de perda de água (Yeats and Rose 2013; Bi et al. 2017) e como filtro de luz (Dickison 2000).

O aumento da espessura da lâmina foliar geralmente é oriundo do alongamento do tecido foliar clorofiliano (Wyka *et al.* 2008; Calzavara *et al.* 2015; Barbosa-Campos *et al.* 2018). Esses resultados são compatíveis aos encontrados para *E. uniflora*, que obteve maior espessura da lâmina foliar decorrente das maiores médias para o parênquima paliçádico e lacunoso nas folhas posicionadas mais internamente na planta mãe. Isso demonstra uma capacidade de adaptação destas folhas com relação a luminosidade, se adequando e maximizando a absorção de luz em condições menos favorecidas. O alongamento do parênquima paliçádico permite a homogeneização da distribuição de luz, promovendo aumento da sua eficiência fotossintética (Vogelmann & Martin, 1993). Em contrapartida, o aumento da espessura do parênquima lacunoso leva a uma maior difusão de CO₂ no tecido vegetal (Tholen et al. 2012). Essa flexibilidade fenotípica específica em *E. uniflora* é de suma importância para subsistência e crescimento em ambientes heterodinâmicos (Mielke & Schaffer, 2010).

Níveis de estresse oxidativo e fotossintéticos vinculados a maturação foliar

O acúmulo destes compostos em tecidos vegetais pode promover modificações em seu DNA, resultando em mutações gênicas e/ou inativação do mesmo, desnaturação de moléculas e até mesmo degradação do tecido (Halliwell & Gutteridge 1999; Blokhina *et al.* 2003; Barreiros 2006; Oliveira & Schoffen, 2010). Em *E. uniflora*, as folhas jovens foram as que acumularam mais ERO, provavelmente pelo maior estresse luminoso observado nos horários de pico (12h às 14h) para as folhas do 1° e 2° nós. Além disso, esses resultados reforçam a ideia de que as ERO possuem atuação no desenvolvimento dos tecidos em fases juvenis. Nas folhas maduras, principalmente os tecidos com alta demanda metabólica mantiveram o

acúmulo de ERO, como nas cavidades secretoras. Esses resultados indicam que em folhas maduras de *E. uniflora* conseguem dissipar o estresse oxidativo. Contrário ao esperado, o estresse oxidativo inicial (avaliada via ERO) nas folhas jovens de *E. uniflora* não se concretizou em lipoxidação, ocorrendo malonaldeído predominantemente em folhas do 4 e 6º nós, ou seja, a quantidade de pigmentos fotoprotetores (carotenoides/antocianinas) encontrados nos tecidos de folhas jovens de *E. uniflora* promove um menor estresse acarretando em pouca produção de ERO e malonaldeído.

Com relação aos pigmentos vegetais, as antocianinas são responsáveis pela coloração laranja-azul em muitas flores, frutos, folhas e sementes (Tanaka et al., 2008; (Niyogi 2000; Karageorgou & Manetas 2006), podendo atuar na proteção contra altos níveis de radiação (Maskato *et al.*, 2014; Karageorgou & Manetas 2006). Para *E. uniflora*, a alta produção de antocianinas nas folhas do 1º nó parece estar relacionadas ao estresse luminoso a que essas folhas estão sujeitas, assim como mostrado por Albert *et al.* (2009) para espécies de *Petunia*. Maior presença de antocianinas em folhas jovens em comparação a folhas maduras já foram previamente reportadas (Ranjan, 2014; Godinho *et al.* 2016), mostrando que essa estratégia de hiperprodução de pigmentos fotoprotetores são frequentes em plantas ou órgãos de ambiente sujeitos a radiação solar.

Os carotenoides possuem funções fotoprotetoras durante a fotossíntese (Niyogi, 2000; (Havaux, M, 2014) e são frequentes os relatos de não alteração da concentração de carotenoides perante o aumento da intensidade luminosa em plantas (Franco et al. 2007; Barbosa-Campos *et al.* 2018). A menor concentração de carotenoides em folhas jovens de *E. uniflora*, o que não era esperado pela alta captação de luz nesse estágio de maturação. Em contrapartida, a razão entre clorofila/carotenoide demonstra que as folhas jovens contêm uma proporção que possibilita o destaque do pigmento carotenoide sobre a clorofila. Além disso, o acúmulo de pigmentos fotoprotetores no parênquima paliçádico em folhas jovens sugere uma

funcionalidade como barreira que reduz os danos oxidativos secundários nas folhas imaturas de *E. uniflora*. Assim, a localização dos pigmentos fotoprotetores nessas folhas podem explicar a menor síntese de malonaldeído nesses estágios de maturação.

Plantas em ambientes com presença intensa e constante de irradiância podem apresentar fotoinibição em suas folhas, diminuindo a sua capacidade fotossintética (Krause & Weiss 1991). Para *E. uniflora*, a maior radiação recebida pelas folhas jovens não promoveu uma elevada fotoinibição (*sensu* Lüttge, 1998). Os ajustes anatômicos e fisiológicos aqui citados para as folhas jovens de *E. uniflora*, como alteração da espessura dos tecidos foliares e maior produção de pigmentos fotoprotetores, podem explicar a similaridade no rendimento quântico entre folhas com diferentes níveis de maturação, não corroborando com o que era esperado (menor rendimento quântico nas folhas jovens). Resultados similares foram reportados para *Aspidosperma macrocarpon* em duas fitofisionomias do Cerrado com níveis distintos de luminosidade, com ajustes morfológicos relacionados a manutenção da eficiência fotossintética em indivíduos presentes em áreas a pleno sol (Valle et al. 2018). Associados a esses resultados, *E. uniflora* apresentou valores de F_v/F_m inferiores a 0,8 mesmo no *pre-dawn*, indicando uma leve fotoinibição (Lüttge 1998) e que *E. uniflora* é susceptível a danos na proteína D1 do centro de reação dos PSII mesmo em períodos mais amenos do dia. O ETR é outro bom parâmetro indicador da capacidade fotossintética das plantas (Genty et al. 1989), sendo geralmente maior em indivíduos expostos a uma elevada radiação (Barros et al. 2012). Para *E. uniflora*, os menores valores de ETR nas folhas jovens indicam a imaturidade do aparato fotossintético, mas a tênue variação reforça o eficiente sistema antioxidante protegendo este aparato.

Considerações finais

A coloração avermelhada das folhas jovens de *E. uniflora* é decorrente do maior acúmulo vacuolar de antocianinas, assim como de uma baixa proporção de clorofila/carotenoide. Destaca-se também um maior acúmulo de pigmentos fotoprotetores no parênquima paliçádico, que atua como filtro e homogeneizador da distribuição de luz, o que pode explicar a menor produção de malonaldeído em estágio iniciais de desenvolvimento das folhas de *E. uniflora*. A presença de ERO em todos os tecidos das folhas jovens evidenciam o seu papel na morfogênese foliar. Por fim, a imaturidade foliar e menor proteção estrutural à luz em folhas jovens de *E. uniflora*, não levaram ao aumento da fotoinibição ou redução do rendimento quântico, apenas ocasionando uma menor eficiência no transporte de elétrons.

Referências

- Ahmad P. 2014. Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling. Academic Press.
- Albert NW, Lewis DH, Zhang H, Irving LJ, Jamerson PE, Davies KM. 2009 Light-induced vegetative anthocyanin pigmentation in *Petunia*. *Journal of Experimental Botany* 60: 2191-2202.
- Barbosa-Campos MT, Castro, SAB, Kuster VC, Santos LN, Lemos-Filho JP, Vale FHA. 2018. How the long-life span leaves of *Ouratea castaneifolia* Engl. (Ochnaceae) differ in distinct light conditions. *Brazilian Journal of Botany* 41: 403–414.
- Barreiros ALBS, David JM, David JPDL. 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29: 113-123.
- Barros FDV, Goulart MF, Sá Telles SB, Lovato MB, Valladares F, Lemos-Filho JP. 2012. Phenotypic plasticity to light of two congeneric trees from contrasting habitats: Brazilian Atlantic Forest versus cerrado (savanna). *Plant Biology* 14: 208-215.
- Bloor JMG, Grubb PJ. 2004. Morphological plasticity of shade-tolerant tropical rainforest tree seedlings exposed to light changes. *Functional Ecology* 18: 337-348.
- Calzavara AK, Bianchini E, Mazzanatti T, Oliveira HC, Pimenta JA. 2015. Morphoanatomy and ecophysiology of tree seedlings in semideciduous forest during high-light acclimation in nursery. *Photosynthetica* 53: 597-608.
- Colares IG, Seeliger U. 2006. Influência da luz sobre o crescimento e a produção de biomassa de *Ruppia maritima* L. em cultivo experimental. *Acta Botânica Brasilica* 20: 31-36.
- Dickison WC. 2000. Integrative plant anatomy. San Diego, Academic press.
- Franco AC, Matsubara S, Orthen B. 2007. Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree physiology* 27: 717-725.

- Genty B, Briantais JM, Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta -General Subjects* 990: 87-92.
- Gitelson AA, Merzlyak MN, Chivkunova OB. 2001. Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. *Photochemistry and Photobiology* 74:, 38-45.
- Godinho BP, Rezende, UC, Queiroga DS, Carvalho MM, Suzin A, Oliveira DC, Nascimento AL. 2016. Variação na coloração foliar em *Myrcia variabilis*: fotossíntese vs defesa anti-herbivoria. In: Gudryan Jackson Barônio, Vanessa Stefani, Denis Coelho de Oliveira (org.). *Curso de Ecologia de campo 2016*. 1Ed. Uberlândia: 2016, v. 1, p. 13.
- Havaux M. 2014. Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *The Plant Journal* 79: 597-606.
- Karageorgou P, Manetas Y. 2006. The importance of being red when young: anthocyanins and the protection of young leaves of *Quercus coccifera* from insect herbivory and excess light. *Tree Physiology* 26: 613-621.
- Krause GH, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Biology* 42: 313-349.
- Kuster VC, de Castro SAB, Vale FHA. 2017. Photosynthetic and anatomical responses of three plant species at two altitudinal levels in the Neotropical savannah. *Australian Journal of Botany* 64: 696-703.
- Laanisto L, Niinemets Ü. 2015. Polytolerance to abiotic stresses: how universal is the shade–drought tolerance trade-off in woody species? *Global Ecology and Biogeography* 24: 571-580.
- Lee DW. 2002. Anthocyanins in autumn leaf senescence. *Advances in Botanical Research* 37: 147-165.

- Lee D. 2010. Nature's palette: the science of plant color. Chicago, University of Chicago Press.
- Lemos-Filho JP, Goulart MF, Lovato MB. 2004. Chlorophyll fluorescence parameters in populations of two legume trees: *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosoideae) and *Cassia ferruginea* (Schrad.) Schrad. ex DC. (Caesalpinoideae). *Brazilian Journal of Botany* 27: 527-532.
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592
- Maskato Y, Talal S, Keasar T, Gefen E. 2014. Red foliage color reliably indicates low host quality and increased metabolic load for development of an herbivorous insect. *Arthropod-Plant Interactions* 8: 285-292.
- Murchie EH, Horton P. 1997. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. *Plant, Cell & Environment* 20: 438-448.
- Niyogi KK. 2000. Safety valves for photosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 455-460.
- Oguchi R, Hikosaka K, Hirose T. 2005. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. *Plant, Cell & Environment* 28: 916-927.
- Oliveira MCD, Schoffen JPF. 2010. Oxidative stress action in cellular aging. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 1333-1342.
- Ranjan S, Singh R, Singh M, Pathre UV, Shirke PA. 2014. Characterizing photoinhibition and photosynthesis in juvenile-red versus mature-green leaves of *Jatropha curcas* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 79: 48-59.

- Reich PB. 2014. The world-wide ‘fast–slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* 102: 275-301.
- Resende MLV, Salgado SM, Chaves ZM. 2003. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. *Fitopatologia Brasileira* 28: 123-130.
- Riederer M, Schreiber L. 2001. Protecting against water loss: analysis of the barrier properties of plant cuticles. *Journal of Experimental Botany* 52: 2023-2032
- Tholen, D, Boom C, Zhu XG. 2012. Opinion: prospects for improving photosynthesis by altering leaf anatomy. *Plant Science* 197: 92-101.
- Valladares F, Niinemets Ü. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 39: 237-257.
- Valle ELV, Castro ACF, Viana JVA, Kuster VC, Faria AP. 2018. Plasticidade fisiológica e morfológica de *Aspidosperma macrocarpon* Mart. em duas fitofisionomias de Cerrado. In: Gudryan J. Barônio, Rafael R. Moura, Vanessa Stefani, Paulo Eugênio Oliveira. (Org.). *Curso de Ecologia de Campo 2017 Uberlândia, MG 2018*. 1ed. Uberlândia: Regência e Arte Editora, 2018, v. 1, p. 1-264.
- Vogelmann TC, Martin G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell & Environment* 16: 65-72.
- Wyka TP, Oleksyn J, Żytkowiak R, Karolewski P, Jagodziński AM, Reich PB. 2012. Responses of leaf structure and photosynthetic properties to intra-canopy light gradients: a common garden test with four broadleaf deciduous angiosperm and seven evergreen conifer tree species. *Oecologia* 170: 11-24.
- Yeats TH, Rose JK. 2013. The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiology* 163: 5-20.
- Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* 54: 733-749.

Zhu H, Zhang TJ, Zhang P, Peng CL. 2016. Pigment patterns and photoprotection of anthocyanins in the young leaves of four dominant subtropical forest tree species in two successional stages under contrasting light conditions. *Tree Physiology* 36: 1092-1104.

Tabelas

Tabela 1 – Quantificação de pigmentos cloroplastídicos e antocianinas encontrados em folhas jovens, de transição e maduras de *Eugenia uniflora*.

Nó	Clorofilas Totais ($\mu\text{g mm}^{-2}$)	Clorofilas a/b	Carotenoides ($\mu\text{g mm}^{-2}$)	Clorofilas/ Carotenoides	Antocianinas (Índice de reflectância)
1°	956,7 ± 386,9b	1,09 ± 0,17b	256,8 ± 85,7b	3,69 ± 0,27b	0,10±0,008a
2°	1088,2 ± 367,3b	1,59 ± 0,25a	272,1 ± 82,5b	3,98 ± 0,18ab	0,02±0,003b
4°	1561,6 ± 313,7a	1,43 ± 0,17a	381,4 ± 60,9a	4,07 ± 0,27a	0,00±0,002b
6°	1793,0 ± 196,5a	1,47 ± 0,10a	435,6 ± 45,1a	4,13 ± 0,29a	0,01±0,003b
	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0032	p<0,0001	p<0,001

*Letras indicam diferenças entre os estágios de maturação das folhas (nós) de acordo com a ANOVA a 0,5% de probabilidade. Para antocianinas, as diferenças representam resultados de acordo com Kurskal-Wallis.

Tabela 2 – Conteúdo de malonaldeído, Fv/Fm obtido no *predawn* encontrados nos diferentes estágios de desenvolvimento foliar de *Eugenia uniflora*.

Posição no ramo	Malonaldeído ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	Fv/Fm <i>Predawn</i>
1° nó	52,5 ± 12,6b	0,749 ± 0,02a
2° nó	52,0 ± 20,6b	0,785 ± 0,03a
4° nó	89,6 ± 25,3a	0,783 ± 0,02a
6° nó	107,1 ± 30,4a	0,782 ± 0,02a
p	<0,0001	>0,05

Figuras

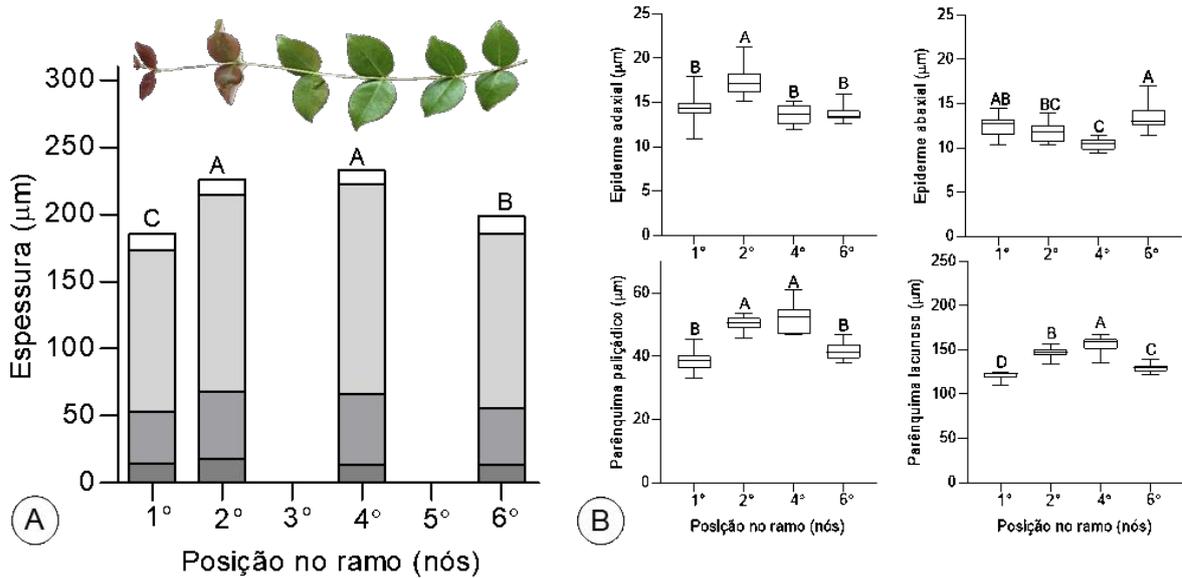


Figura 1 - Composição tecidual da lâmina foliar de *Eugenia uniflora* evidenciando o desenvolvimento dos tecidos conforme sua maturação (inserção nos nós) junto ao ramo planta mãe. (A) Espessura total da folha mostrando a composição tecidual em cada nó. (B) Desenvolvimento dos tecidos ao longo da maturação foliar. Foram mensuradas a espessura da epiderme na face adaxial (■), do parênquima paliádico (■), do parênquima lacunoso (■) e da epiderme na face abaxial da folha (□). As letras indicam diferenças entre a espessura das folhas (a) e a espessura dos tecidos (b) encontrados nos diferentes nós do ramo de acordo com ANOVA a 5% de probabilidade.

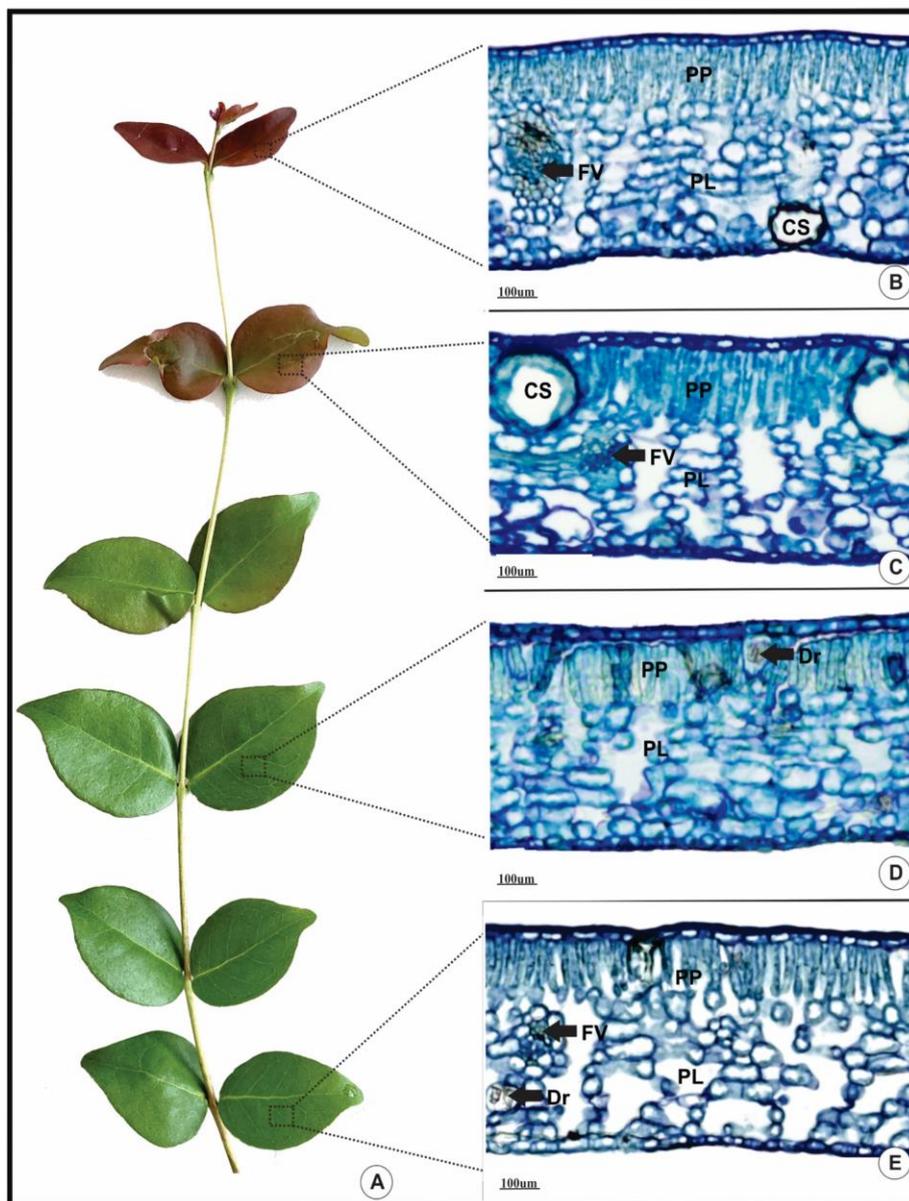


Figura 02 - Secções transversais das lâminas foliares de *Eugenia uniflora* em diferentes estágios de desenvolvimento. A) Vista geral de um ramo. B) 1º nó - com os tecidos pouco desenvolvidos. C) 2º nó - já apresentando um desenvolvimento imaturo, com pouca especificação do parênquima lacunoso. D) 4º nó - apresentando uma organização estrutural mais diferenciada, onde parênquima paliçádico se dispõe de melhor forma. E) 6º nó - folha madura, com as especificações dos tecidos completos, parênquima lacunoso com cavidades bem evidenciadas e paliçádico bem delimitado. Abreviações: CS- Cavidade secretora; PP- Parênquima paliçádico; PL- Parênquima lacunoso; FV- Feixe vascular; Dr- Drusa.

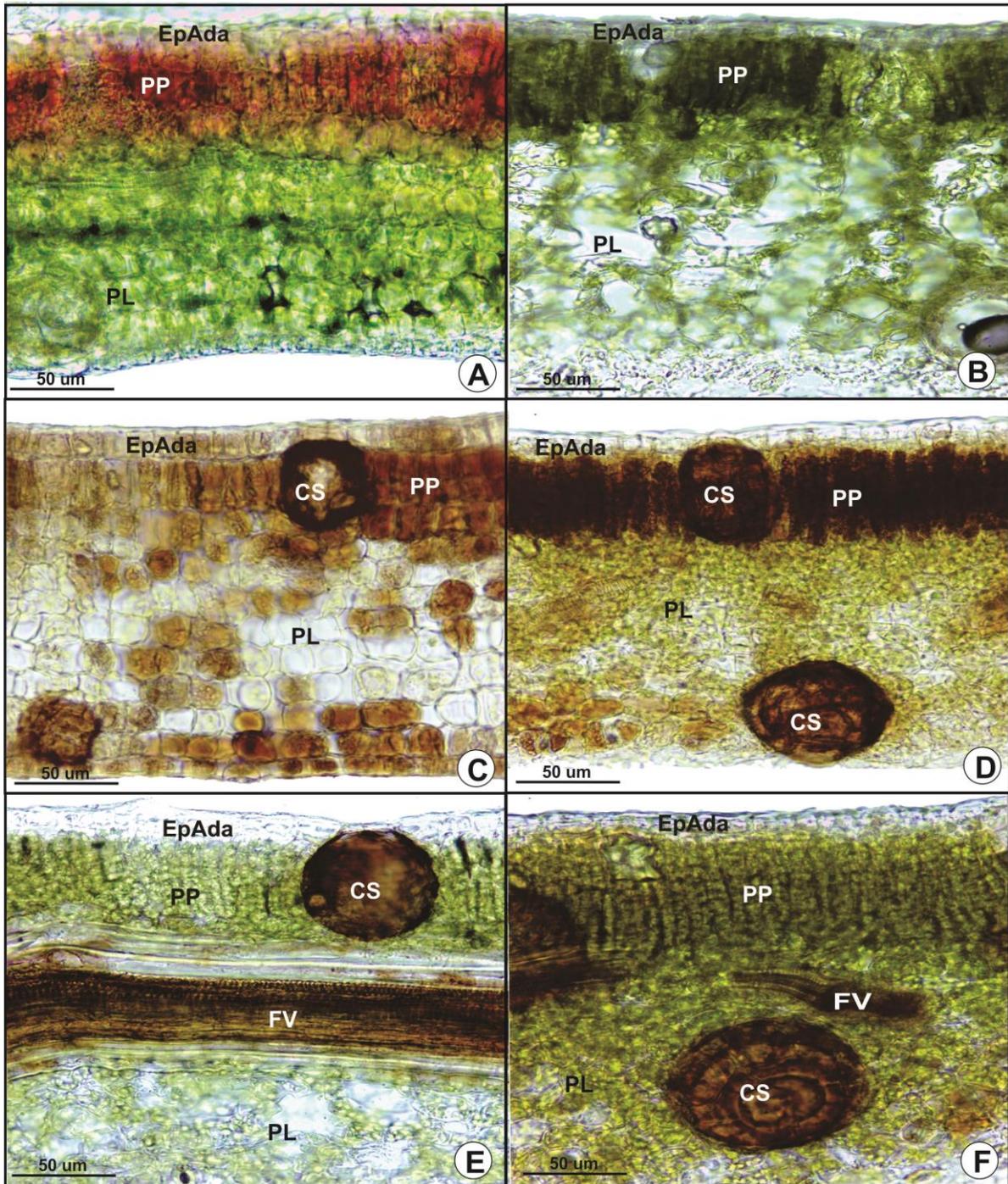


Figura 3 – Teste de ERO realizados em folhas de *Eugenia uniflora* nos diferentes níveis de maturação. A) Vista geral de um corte fresco evidenciando a presença acentuada de pigmentos com coloração avermelhada na região do parênquima paliçádico de folíolos jovens (foto do 1º nó) e B) Folíolo maduro sem tratamento, não sendo visualizado a pigmentação vermelha (6º nó), evidenciando a presença de cloroplastos concentrados no parênquima clorofiliano, porém distribuídos por todo o mesofilo. C) Corte transversal (1º nó – com tratamento) indicando presença de ERRO, com distribuição homogênea nos tecidos foliares. D) Coloração em resposta de ERO mais definida, de acordo com a maturação foliar, começa a ser concentrado na cavidade secretora e parênquima paliçádico, entretanto não sendo os tecidos predominantes (2º nó). E) Maturação foliar quase completa (4º nó), apresentando a concentração de ERO no feixe vascular e cavidade secretora e F) demonstrando uma maior concentração no feixe vascular e no parênquima paliçádico. G) Maturação foliar completa, coloração sendo mais concentrada na cavidade secretora e feixe vascular podendo haver pouca ou quase nenhuma concentração no parênquima lacunoso (H).

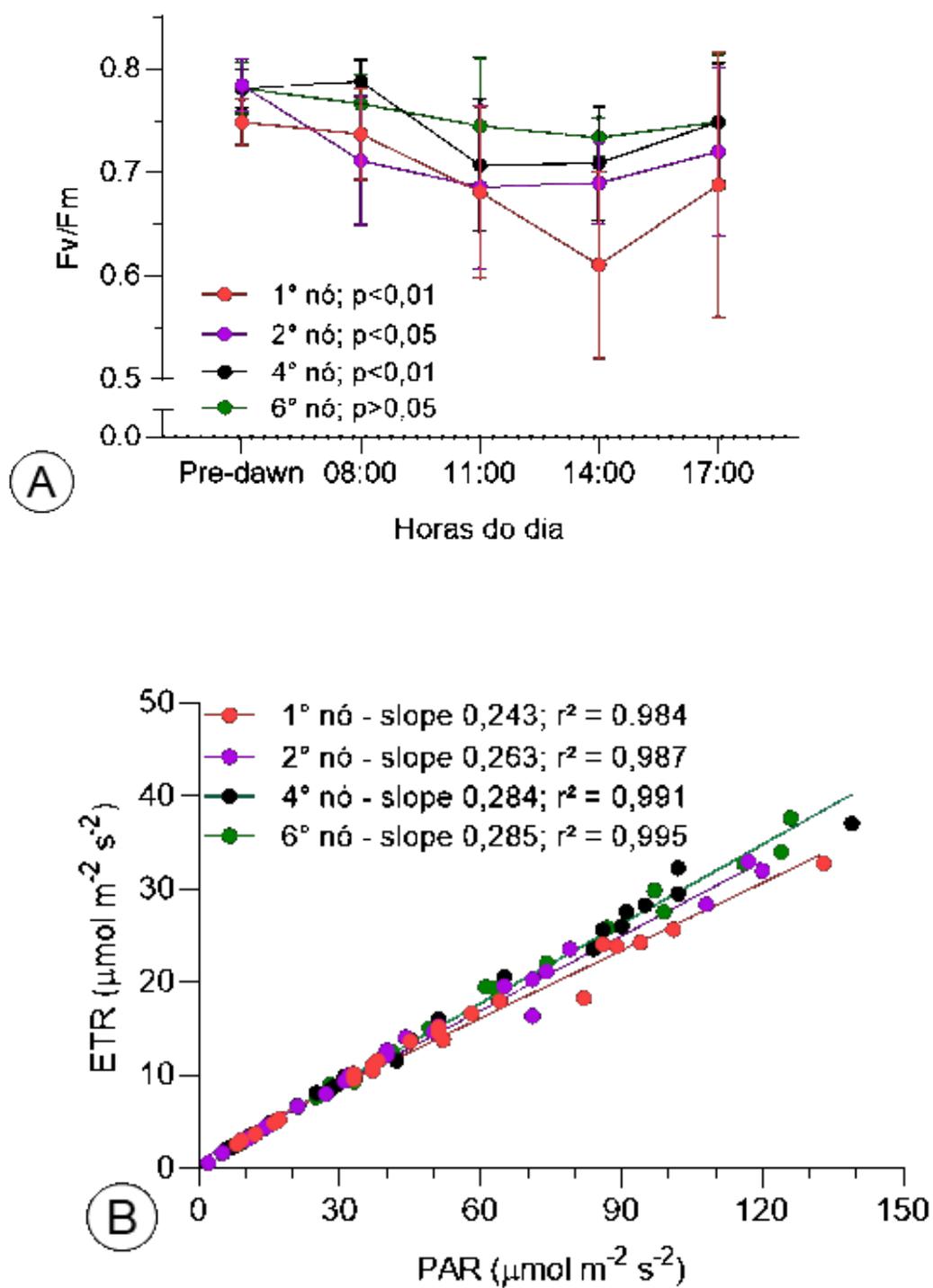


Figura 4 – Fluorescência da clorofila a em folhas de *Eugenia uniflora* nos diferentes estágios de desenvolvimento foliar conforme sua inserção junto ao ramo da planta mãe. (A) Rendimento quântico potencial. (B) Taxa relativa de transporte de elétrons.



ISSN 0102-3306 *printed version*
ISSN 1677-941X *online version*

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- [Scope of the journal](#)
- [Why publish in Acta Botanica Brasilica?](#)
- [Language editing](#)
- [Types of articles](#)
- [For Mycological Diversity Description \(MDD\)](#)
- [Summary of submission processes](#)
- [Cover letter](#)
- [Preparing the article file](#)
- [Preparing Figures, Tables and Supplementary material](#)
- [The review process](#)
- [Submitting a revised paper](#)
- [Publication and printing process](#)
- [Misconduct](#)

Scope of the journal

Experimental, theoretical and applied papers on all aspects of plant (including algae) and fungi biology are welcome. The submitted manuscript or its essential content must not have been published previously or be under consideration for publication elsewhere. Contributions should be substantial, written in English and show general interest. Manuscripts that report aspects of local interest are discouraged unless the implications of the findings are wide-reaching. Manuscripts with agronomic subjects are expected to contain a substantial amount of basic plant biology. Please see below some details for specific area.

Algae, cyanobacteria and fungi

Acta Botanica Brasilica considers studies on algae and cyanobacteria and all aspects of fungi and lichens. The main topics covered are biochemistry, cell and molecular biology, ecology (mainly interactions like mycorrhizas and endophytes), evolution, physiology and taxonomy. Hypothesis-driven papers and studies based on an interdisciplinary research are encouraged. The journal also welcome studies related to the development and test of new methodologies and those studies on practical themes, whose results are applicable, for example, in aquaculture or in environmental management and conservation. The manuscripts purely descriptive, such as those focused on species lists, are discouraged.

Mycological Diversity Description (MDD): the new modality for the publication of novel fungi diversity

Mycological Diversity Description (MDD) is a series of articles that describe new taxa (with or without keys), and new geographical, substrate and/or host records for fungi and related organisms. This series is intended to stimulate the publication of these discoveries using phylogenies based on morphological and molecular data.

Manuscripts submitted for MDD will be accumulated for up to 150 days, at which point they will be grouped together in a larger article, which will include the description of several taxa by numerous authors. The intention is to provide these taxa and the authors more visibility. The author of the first manuscript to be submitted will be the first author of the article, with the subsequent authors appearing in alphabetic order. The authorship of taxa will remain according to the submitted manuscripts, since the grouping of several authors will be limited to the entire article, not the individual descriptions of taxa.

Ecology

We welcome manuscripts spanning all ecological levels, from individuals to ecosystems. Experimental and observational studies with ecological basis/background of fungi, algae, and plant taxa from all biogeographic regions will be considered for publication. Interaction studies should be focused on the plants point of view. We encourage the submission of hypothesis-driven manuscripts that advance ecological knowledge, rather than submissions that describe particular cases that are too geographically or taxonomically-focused. Studies dealing with species conservation, management and restoration will also be considered for publication. Please define clearly the ecological context of the study, questions/hypotheses, scope and statistical methods reasoning, and advances obtained.

Ethnobotany

By recognizing ethnobotany as an area of interface between different fields of study, we welcome the submission of manuscripts where the botanical component is clearly present. Whenever appropriate, manuscripts should present information regarding prior informed consent and the procedures related to the access to the traditional knowledge associated with

biodiversity. Essentially descriptive and regional studies will not be accepted, such as lists of useful species. We strongly recommend manuscripts with a clear theoretical framework and with innovative combinations of qualitative and quantitative methodologies.

Plant Physiology

Acta Botanica Brasilica publishes manuscripts concerning plant physiological studies related to aspects of germination, growth and development, plant nutrition, plant water relations, plant molecular biology, plant metabolism and biochemistry, ecophysiology, plant-environment and plant-biotic interactions. Merely descriptive studies or simply agricultural approaches without a substantial physiological mechanism, will not be considered for publication.

Plant Structure (morphology and anatomy)

Acta Botanica Brasilica publishes original contributions on all aspects of plant structure (morphology and anatomy), including cell biology and palynology. Innovative research on plant structure, including studies related to evolution, ontogenesis (morphogenesis and embryogenesis) and taxonomy are welcomed. Illustrations must be of high quality for manuscripts to be considered. Purely descriptive manuscripts are discouraged.

Taxonomy and Systematics

Acta Botanica Brasilica publishes original papers related to systematics, taxonomy, floristics, nomenclature and phytogeography, including theoretical papers and methodology, phylogeny, short monographs, revisions, history of botanical explorations, analyses of characters, phytogeographic studies, descriptions of new taxa and typification. Floras may be accepted provided they be of general interest and combine the results in an integrative way with other issues, such as taxonomy, conservation, ecology or biogeography.

Why publish in Acta Botanica Brasilica?

- *Acta bot. bras.* is an indexed, open-access, peer-reviewed journal devoted to publishing high quality research in Plant Biology.
- There is no cost for publication.
- All manuscripts published by *Acta bot. bras.* are open-access, maximizing the impact of your research.
- The submissions are peer-reviewed by at least two experts who evaluate scientific quality and novelty.
- Our review process is very efficient. It will only take about two months for the first decision on your manuscript.
- The manuscripts are advertised to all members of the SBB, available in the journal website, in the SciELO database and in social media.
- *Acta bot. bras.* is indexed in Scopus and Web of Science among others.
- Increasing impact factor: *Acta bot. bras.* IF has been increasing in the last evaluations (from 0.374 in 2012 to 0.545 in 2014).

Language editing

If English is not your first language, it is strongly recommended to have your manuscript edited for language before submission. This is not a mandatory step, but may help to ensure that the academic content of your paper is fully understood by journal editors and reviewers. Language editing does not guarantee that your manuscript will be accepted for publication. Authors are liable for all costs associated with such services.

Types of articles

Original Articles

Reviews**Viewpoints****Methods****Short Communications****MDD*****For Mycological Diversity Description (MDD)***

Instructions for the text and figures for this publication follow all the currently established guidelines. The body of the text of descriptions of new taxa will include: taxon name, authorities (up to five), etymology, MycoBank number(s) (<http://www.mycobank.org/>), description, material examined (including holotype, culture ex-type, etc. deposited in reference herbarium and/or culture collections), notes, GenBank accession number(s) for DNA sequences, authors names (full name), e-mail addresses, affiliations, acknowledgements, references, and figure legend (mainly photo plates with macro- and/or microscopic characteristics and phylogeny. Other photos, such as of hosts, environments, etc., may be added upon pre-approval by the Editor). New records should follow the instructions for the description of new taxa, with the exception of the exclusion of an etymology and MycoBank number(s). For phylogenetic analyses, at least one region of the DNA should be used, but multilocus analyses are encouraged. Authors are requested to include, in the legend for the phylogeny, information about the analyses used to verify the phylogenetic relationships of the relevant taxon(a) and to use only black, grey and/or green for the layout of the tree. For the caption for images with macro- and/or microscopic characteristics, it is requested the addition of a brief methodology, such as reagents, culture media, etc. Please consult the most recent issue of Acta Botanica Brasilica for layout and style and access the journal's website to find a model.

Summary of submission processes

Submission management and evaluation of submitted manuscripts will involve the Journal's online manuscript submission system. The manuscript text should be prepared in English (see **PREPARING THE ARTICLE FILE** below for details) and submitted online (<http://mc04.manuscriptcentral.com/abb-scielo>). Figures, tables and other types of content should be organized into separate files for submission (see **Preparing Tables, Figures and Supplementary**

material below for details). If you are using the online submission system for the first time please go to the login page and generate a login name and password after clicking on the "**New user - register here**" link. If you are already registered but need to be reminded of your login name or password please go to the login page and inform your email in "**password help**". Please never create a new account if you are already registered.

If you are unable to access our web-based submission system, please contact the Editorial Office (acta@botanica.org.br)

Cover letter

All manuscripts must be submitted with a cover letter, which should include an approximately 80 word summary of the scientific strengths of the paper that the authors believe qualify it for consideration by *Acta Botanica Brasilica*. The cover letter should also include a statement declaring that the manuscript reports unpublished work that it is not under active consideration for publication elsewhere, nor been accepted for publication, nor been published in full or in part (except in abstract form).

Preparing the article file

(Please consult a last issue of **Acta Botanica Brasilica** for layout and style)

All manuscripts must follow these guidelines: the text should be in Times New Roman font, size 12, double-spaced throughout and with 25 mm margins; the paper size should be set to A4 (210 x 297 mm). All pages should be numbered sequentially. Each line of the text should also be numbered, with the top line of each page being line 1. For text files .doc, .docx and .rtf are the only acceptable formats. Files in Adobe® PDF format (.pdf files) will not be accepted. When appropriate, the article file should include a list of figure legends and table heads at the end. This article file should not include any illustrations or tables, all of which should be submitted in separate files. Do not include field code either.

The **first page** should state the type of article (Original Article, Review, Viewpoint, Method, Short communication or MDD) and provide a concise and informative full title followed by the names of all authors. Each name should be followed by the Orcid number an identifying superscript number (¹, ², ³ etc.) associated with the appropriate institutional address to be entered further down the page. Only one corresponding author should be indicated with an asterisk and should always be the submitting author. The institutional address(es) of each author should be listed next, each address being preceded by the superscript number where appropriate. The address must be synthetic and in English with institution, postal code, city, state and country. Do not translate laboratory, department and university. Titles and positions should not be mentioned. This information is followed by the e-mail address of the corresponding author.

The **second page** should contain a structured **Abstract** not exceeding 200 words in a single paragraph without references. The Abstract should outline the essential content of the manuscript, especially the results and discussion, highlighting the relevance of main findings.

The Abstract should be followed by between five and ten **Key words**. Note that essential words in the title should be repeated in the key words.

Original articles should be divided into sections presented in the following order:

Title page
Abstract
Introduction
Materials and methods
Results
Discussion
Acknowledgements
References
Tables and Figure legends
Supplementary Data (if applicable)

Material and methods and **Results** should be clear and concise. The **Discussion** section should avoid extensive repetition of the results and must finish with some conclusions. This section can be combined with results (**Results and discussion**), however, we recommend authors consult the Editorial Board for a previous evaluation.

Plant names must be written out in full in the abstract and again in the main text for every organism at first mention but the genus is only needed for the first species in a list within the same genus (e.g. *Hymenaea stigonocarpa* e *H. stilbocarpa*). The authority (e.g., L., Mill., Benth.) is required only in Material and Methods section. Use The International Plant Names Index (www.ipni.org) for correct plants names. Cultivars or varieties should be added to the scientific name (e.g. *Solanum lycopersicum* 'Jumbo'). Authors must include in Material and Methods a reference to voucher specimen(s) and voucher number(s) of the plants or other material examined.

Abbreviations must be avoided except for usual cases (see recent issues) and all terms must be written out in full when used to start a sentence. Non-conventional abbreviations should be spelled out at first mention.

Units of Measurement. *Acta bot. bras.* adopts the *Système International d'Unités* (SI). For volume, use the cubic metre (e.g. $1 \times 10^{-5} \text{ m}^3$) or the litre (e.g. 5 μL , 5 mL, 5 L). For concentrations, use μM , $\mu\text{mol L}^{-1}$ or mg L^{-1} . For size and distance use meters (cm, mm, μm , etc) and be consistent in the manuscript.

Numbers up to nine should be written out unless they are measurements. All numbers above ten should be in numerals unless they are starting sentences.

Citations in the text should take the form of Silva (2012) or Ribeiro & Furr (1975) or (Mayer & Wu 1987a; b; Gonzalez 2014; Sirano 2014) and be ordered chronologically. Papers by three or more authors, even on first mention, should be abbreviated to the name of the first author followed by *et al.* (e.g. Simmons *et al.* 2014). If two different authors have the same last name, and the article have the same year of publication, give their initials (e.g. JS Santos 2003). Only refer to papers as 'in press' if they have been accepted for publication in a named journal, otherwise use the terms 'unpubl. res.', giving the initials and last name of the person concerned (e.g., RA Santos unpubl. res.).

References should be arranged alphabetically based on the surname of the author(s). Where the same author(s) has two or more papers listed, these papers should be grouped in year order. Letters 'a', 'b', 'c', etc., should be added to the date of papers with the same citation in the text. Please provide DOI of 'in press' papers whenever possible.

For papers with **six** authors or fewer, please give the names of *all* the authors. For papers with **seven** authors or more, please give the names of the *first three* authors only, followed by *et al.*

Please follow the styles:

Books

Smith GM. 1938. Cryptogamic botany. Vol. II Bryophytes and Pteridophytes. 2nd. edn. New York, McGraw-Hill Book Company.

Chapters in books

Schupp EW, Feener DH. 1991. Phylogeny, lifeform, and habitat dependence of ant-defended plants in a Panamanian forest. In: Huxley CR, Cutler DC. (eds.) Ant-plant interactions. Oxford, Oxford University Press. p. 175-197.

Research papers

Alves MF, Duarte MO, Oliveira PEAM, Sampaio DS. 2013. Self-sterility in the hexaploid *Handroanthus serratifolius* (Bignoniaceae), the national flower of Brazil. Acta Botanica Brasilica 27: 714-722.

Papers in press (ahead of print)

Alves JJ, Sampaio MTY. 2015. Structure and evolution of flowers. Acta Botanica Brasilica (in press). doi: 10.1590/0102-33062015abb3339

Online-only journals

Wolkovich EM, Cleland EE. 2014. Phenological niches and the future of invaded ecosystems with climate change. AoB Plants 6: plu013 doi:10.1093/aobpla/plu013

Thesis (citation should be avoided)

Souza D. 2014. Plant growth regulators. PhD or MSc Thesis, University of Brazil, Brazil.

Websites and other sources (citation should be avoided)

Anonymous. 2011. Title of booklet, leaflet, report, etc. City, Publisher or other source, Country.

References to websites should be structured as: author(s) name author(s) initial(s). year. Full title of article. Full URL. 21 Oct. 2014 (Date of last successful access).

Acknowledgements should be preferably in fewer than 80 words. Be concise: "we thank..." is preferable to "The present authors would like to express their thanks to...". Funding information should be included in this section.

The following example should be followed:

We acknowledge the Center of Microscopy (UFMG) for providing the equipment and technical support for experiments involving electron microscopy. We also thank J.S. Santos for assistance with the statistical analyses. This work was supported through a research grant from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (ID number).

For **SHORT COMMUNICATIONS** note that the editorial guidelines applying to original papers must also applying here. In general, the difference between original papers and short communications is the **lack of subsections in the text** and limited space for illustrations in the latter. Figures and tables can be present, assuming that the overall size of the manuscript does not exceed the five printed page limit (supplementary material can be added). The abstract (as described for original articles) must be followed by a "running text" (a single section,

without subheadings), followed by the acknowledgments and references.

Preparing Figures, Tables and Supplementary material

All figures (photographs, maps, drawings, graphs, diagrams, etc.) and tables must be cited in the text, in ascending order. Citations of figures in the text should appear in an abbreviated, capitalized form (e.g., Fig. 1, Fig. 2A-D, Fig. 3A, Figs. 3A, 4C, Tab.1).

The maximum dimensions of individual figures should be 170 × 240 mm. The width of an individual component can be 170 mm or 85 mm, without exception, whereas the height can be ≤ 240 mm. For continuous tone images (e.g., photographs), please supply TIFF files at 300 dpi. More complex drawings, such as detailed botanical illustrations will not be redrawn and should be supplied as 600 dpi TIFF files.

Grouping of related graphics or images into a **single figure** (a plate) is strongly encouraged. When a block of illustrative material consists of several parts, each part should be labelled with sequential capital letters, in the order of their citation in the text (A, B, C, etc.). The letters that identify individual images should be inserted within white circles in the lower right-hand corner. For separate the grouped images, authors should insert white bars (1mm thickness).

Individual images (not grouped as a plate) should be identified with sequential Arabic numerals, in the order of their citation in the text (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, etc.), presented in the same manner as the letters identifying individual images (described above).

The number that identifies a grouped figure (e.g., Fig. 2) should not be inserted into the plate but should rather be referenced only in the figure caption and the text (e.g., Fig. 2A-C).

Scale bars, when required, should be positioned in the lower right-hand corner of the figure. The scale bar units should be given either at the end of the figure caption or, when a figure contains multiple scale bars with different units, above each bar.

Details within a figure can be indicated with arrows, letters or symbols, as appropriate.

Tables should be preceded by titles, indicated with sequential Arabic numerals (Table 1, 2, 3, etc.; do not abbreviate). Tables should be created using the Table function of Microsoft Word™. Columns and rows should be visible, although no dark lines should be used to separate them. Horizontal rules should be used only at the top (below the title) and bottom (below the final row) of the table. Do not use fills, shading or colors in the tables.

When appropriate, excess (but important) data can be submitted as Supplementary Files, which will be published online and will be made available as links. This might include additional figures, tables, or other materials that are necessary to fully document the research contained in the paper or to facilitate the readers' ability to understand the work.

Supplementary Materials are linked from the main article webpage. They can be cited using the same DOI as the paper.

Supplementary Materials should be presented in appropriate .doc file for text and tables and .tiff file at 300dpi for figures and graphics. The full title of the paper and author names should be included in the header. All supplementary figures and tables should be referred in the manuscript body as "Table S1" and/or "Figure S1".

Acta bot. bras. intends to maintain archives of Supplementary Materials but does not guarantee their permanent availability. *Acta bot. bras.* reserves the right to remove Supplementary Materials from a published article in the future.

The Review Process

All authors will receive an email acknowledging the submission of the manuscript, with its correspondent reference number. The Editor-in-Chief will evaluate manuscript adherence to instructions, quality and novelty and will decide on the suitability for peer reviewing. Manuscripts failing to adhere to the format will be returned to the authors. Manuscripts are sent to at least two anonymous referees that are given 21 days to return their reports.

Submitting a revised paper

After peer review, go to "click here to submit a revision" and upload the new manuscript version. Remember to delete the documents in duplicate.

Publication and printing process

After acceptance, a PDF proof will be sent to corresponding authors as an e-mail attachment. Corrected proofs should be returned within 72 h. It is the sole responsibility of the corresponding author to check for errors in the proof.

Each article is identified by a unique DOI (Digital Object Identifier), a code used in bibliographic referencing and searching.

The dates of submission and acceptance will be printed on each paper.

The corresponding author will receive a free PDF or URL that gives access to the article online and to a downloadable PDF.

The corresponding author is responsible for distributing this PDF or URL to any co-authors.

Misconduct

Misconduct on submitted manuscripts will lead to immediate rejection. Duplicate publication, plagiarism, figure manipulation, dual-submission, and any other fraudulent method will not be tolerated.

If misconduct is detected after the manuscript publication, the article will be retracted and a retraction note will be published.

Submitted manuscripts can be scanned to detect plagiarism and verify the papers' originality.

[\[Home\]](#) [\[About this journal\]](#) [\[Editorial board\]](#) [\[Subscription\]](#)



All the content of the journal, except where otherwise noted, is licensed under a [Creative Commons License](#)

Sociedade Botânica do Brasil
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627
Campus Pampulha UFMG
Biblioteca Central 300B
31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil
Phone (55 31) 3409 3960, (55 31) 3409 2683



acta@botanica.org.br