



JOSELINE DE FÁTIMA ANTUNES

**PADRÕES DE DESENVOLVIMENTO E EXPANSÃO
FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE *Baccharis* (ASTERACEAE):
UMA ANÁLISE FUNCIONAL DE COMPONENTES DA PAREDE
CELULAR**

LAVRAS – MG

2021

JOSELINE DE FÁTIMA ANTUNES

**PADRÕES DE DESENVOLVIMENTO E EXPANSÃO
FOLIAR DE DUAS ESPÉCIES DE *Baccharis*
(ASTERACEAE): UMA ANÁLISE FUNCIONAL DE
COMPONENTES DA PAREDE CELULAR**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Botânica Aplicada, para a obtenção
do título de Mestre.

Prof. Dr. Denis Coelho de Oliveira

Orientador

Prof. Dr. Thiago Alves Magalhães

Co-orientador

LAVRAS – MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Antunes, Joseline de Fátima.

Padrões de desenvolvimento e expansão foliar de duas espécies de *Baccharis* (Asteraceae): uma análise funcional de componentes da parede celular / Joseline de Fátima Antunes. - 2021.

43 p. : il.

Orientador(a): Denis Coelho de Oliveira.

Coorientador(a): Thiago Alves Magalhães.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Ontogênese foliar. 2. Homogalacturonanos. 3. Metil-esterificação. I. Oliveira, Denis Coelho de. II. Magalhães, Thiago Alves. III. Título.

JOSELINE DE FÁTIMA ANTUNES

**PADRÕES DE DESENVOLVIMENTO E EXPANSÃO FOLIAR DE DUAS
ESPÉCIES DE *Baccharis* (ASTERACEAE): UMA ANÁLISE FUNCIONAL DE
COMPONENTES DA PAREDE CELULAR**

**PATTERNS OF FOLIAR DEVELOPMENT AND EXPANSION OF TWO
Baccharis SPECIES (ASTERACEAE): A FUNCIONAL ANALISYS OF CELL
WALL COMPONENTS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Botânica Aplicada, para a obtenção
do título de Mestre.

APROVADA em 30 de agosto de 2021

Prof. Dr^a. Marines Ferreira Pires Lira – UFLA

Prof. Dr. Vinícius Coelho Kuster – UFJ

Prof. Dr. Denis Coelho de Oliveira

Orientador

Prof. Dr. Thiago Alves Magalhães

Co-orientador

LAVRAS – MG

2021

Agradecimentos

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada pela estrutura e oportunidade.

À Universidade Federal de Uberlândia por fornecer suporte e auxílio para que fosse possível concluir a etapa de imunocitoquímica deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Denis Coelho de Oliveira pela orientação, ensinamentos e auxílio ao longo de todo o processo de escrita da dissertação, além de disponibilizar o auxílio e materiais essenciais à segunda etapa deste projeto.

Ao Prof. Dr. Thiago Alves Magalhães pela co-orientação, pelo auxílio nas análises taxonômicas e em todo o processo do trabalho.

Ao Prof. Dr. Vinícius Politti Duarte pelo auxílio no laboratório e disponibilidade para me ajudar.

Ao Prof. Dr. Vinícius Kuster por me auxiliar na construção das pranchas e análises dos resultados.

Ao meu marido pelo apoio sempre, companheirismo, amor e carinho.

À minha grande amiga e também irmã por sempre me ajudar e acolher.

À minha mãe pela confiança e compreensão.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Profissional de Nível Superior – Brasil (CAPES), por ter propiciado a realização deste trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente e auxiliaram para que eu possa cumprir mais esta etapa em minha vida, o meu muito obrigada

Resumo

A parede celular tem um papel primordial no crescimento do vegetal, que é regulado pelas microfibrilas de celulose, proteínas e pectinas. O grau de metil-esterificação das pectinas do tipo HGs (homogalacturonanos), mediado pelas pectinas metil-esterases (PMEs) e microfibrilas de celulose, impacta no desenvolvimento da parede celular durante a ontogênese foliar. Neste estudo foram avaliadas a composição e ocorrência dos componentes da parede celular durante a expansão foliar de *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis platypoda* e foi feito um comparativo entre as duas espécies para detectar o padrão durante desenvolvimento das folhas. Amostras de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e *Baccharis platypoda* DC (Asteraceae) foram coletadas na região de campo rupestre, no município de Lavras, no Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito, Minas Gerais, Brasil. As folhas das duas espécies estudadas foram fixadas em FAA e preparadas conforme o protocolo para análises anatômicas e imunocitoquímicas utilizando anticorpos monoclonais (JIM 5, JIM 7, LM5 e LM6). Ambas as espécies de *Baccharis* apresentaram padrões de expansão foliar similares, bem como a detecção de compostos da parede celular pelos anticorpos monoclonais. Algumas variações foram detectadas, como a ausência de marcação nos primórdios foliares do meristema apical por JIM5, no sexto nó por LM5 e em todos os nós por LM6 em *Baccharis dracunculifolia* e primórdios da região apical por JIM7 e terceiro e sexto nós por LM6 de *Baccharis platypoda*, que indica que apesar da variabilidade dos componentes pécnicos, o padrão de expansão das folhas não apresenta uma grande discrepância, se comparado entre espécies da mesma família. Nas análises anatômicas as espécies apresentaram uma variação no estágio de desenvolvimento, sendo que as folhas de *Baccharis platypoda* expandiram-se mais cedo, a partir do quarto nó, o que influenciou na ocorrência e variação dos componentes da parede celular.

Palavras-chave: Ontogênese foliar. Homogalacturonanos. Pectinas metil-esterases. Metil-esterificação. Anticorpos monoclonais.

Abstract

The cell wall plays a primary role in plant growth, which is regulated by cellulose microfibrils, proteins and pectins. The methyl-esterification degree of pectins type HGs (homogalacturonans), mediated by pectin methyl-esterases (PMEs) and cellulose microfibrils, impacts on cell wall development during the leaf ontogenesis. In this study, the composition and occurrence of cell wall components during leaf expansion of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis platypoda* was evaluated and a comparison was made between the two species to detect similarities and possible variations during leaf development. Samples of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) and *Baccharis platypoda* DC (Asteraceae) were collected in the campo rupestre, in Lavras County, in the Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito, Minas Gerais, Brazil. The leaves of the two species studied were fixed in FAA and prepared according to the protocol for anatomical and immunocytochemical analyses using monoclonal antibodies (JIM 5, JIM 7, LM5 and LM6). Both species of *Baccharis* showed similar leaf expansion patterns, as well as the detection of cell wall compounds by monoclonal antibodies. Some variations were detected, such as the absence of marking in the leaf primordium of apical meristem by JIM5, in the sixth node by LM5 and in all nodes by LM6 in *Baccharis dracunculifolia* and primordium of the apical region by JIM7 and third and sixth nodes by LM6 of *Baccharis platypoda*, which indicates that despite the variability of the pectic components, the pattern of leaf expansion does not present a large discrepancy, when compared between species of the same family. In the anatomical analyses, the species showed a variation in the stage of development, and the leaves of *Baccharis platypoda* expanded earlier, starting from the fourth node, which influenced the occurrence and variation of cell wall components.

Keywords: Leaf ontogenesis. Homogalacturonans. Pectin methyl-esterases. Methyl-esterification. Monoclonal antibodies.

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO	9
2.1 Asteraceae: <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC e <i>Baccharis platypoda</i> DC.....	9
2.2 Expansão foliar	10
2.3 Parede celular vegetal	11
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Sistema de estudo	13
3.2 Análises estruturais.....	14
3.3 Análises de imunocitoquímica	14
4 RESULTADOS	15
4.1 Desenvolvimento anatômico – do primórdio à folha expandida – <i>Baccharis dracunculifolia</i>	15
4.2 Descrição anatômica – primórdio à folha expandida – <i>Baccharis platypoda</i>	17
4.3 Análise Imunocitoquímica	18
4.3.1 <i>Baccharis dracunculifolia</i>	18
4.3.2 <i>Baccharis platypoda</i>	19
5 DISCUSSÃO.....	28
5.1 Características foliares e sua relação com o ambiente.....	28
5.2. Variação da composição péctica da parede celular.....	30
6 CONCLUSÕES.....	31
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Os campos rupestres são ambientes conspícuos que podem refletir na estrutura foliar das espécies ali adaptadas. A estrutura foliar proporciona uma via de mão dupla no que diz respeito à plasticidade e à taxonomia, se por um lado apresenta uma estrutura que possibilita a identificação taxonômica, por outro possui características que conferem uma maior adaptabilidade às condições ambientais (KALVE *et al.* 2014). O desenvolvimento da folha é um processo dinâmico e coordenado, que compreende uma transição do primórdio para a folha expandida e é regulado por dois processos: a divisão e expansão celular (BEEMSTER *et al.*, 2005; BREUNINGER; LENHARD, 2010; GONZALEZ *et al.* 2012; KALVE *et al.*, 2014), os quais ocorrem em períodos e níveis diferentes, resultando em uma complexa e coordenada modulação espacial e temporal (GONZALEZ *et al.* 2012). Durante o desenvolvimento dos órgãos vegetais, importantes processos como divisão, expansão e diferenciação celulares modulam o crescimento, distribuição dos tecidos, e, conseqüentemente, sua morfologia externa, refletindo em processos de adaptações aos diferentes ambientes (STEEVES; SUSSEX, 1989; BECK, 2005; TSUKAYA, 2006; OBROUCHEVA, 2008; TOWNSLEY; SINHA, 2012).

Durante a expansão foliar, uma ação coordenada por fatores de transcrição e genes promotores, que ocorrem nas zonas abaxial e adaxial das folhas, os quais determinam sua polaridade e arranjo dorsiventral, para que ela atinja sua expansão completa e a máxima absorção de luz. A iniciação da folha ocorre na zona periférica do meristema apical, posteriormente, folhas assimétricas emergem (HUSBANDS *et al.* 2009) e, durante este processo a dinâmica da deposição de componente da parede celular é de crucial importância e pode refletir os passos adaptativos das plantas aos mais diversos ambientes.

A dinâmica dos componentes da parede celular dita as adaptações e funcionalidades das células durante a diferenciação de tecidos e órgãos (ALBERSHEIM *et al.*, 2011). Assim sendo, celulose, pectinas e proteínas assumem papel significativo no crescimento vegetal, possibilitando a divisão, o alongamento e a adesão celular (COSGROVE, 1997; BEN AMAR *et al.*, 2010; ALBERSHEIM *et al.*, 2011). As pectinas e as microfibrilas de celulose têm papel regulador no alongamento

e aquisição da forma da célula (ALBERSHEIM *et al.*, 2011). A orientação das microfibrilas nas células das folhas determina a formação dos parênquimas paliçádico e esponjoso durante o desenvolvimento deste órgão (SILVA *et al.*, 2019). As pectinas são os polissacarídeos mais complexos estruturalmente, sendo representados pelos homogalacturonanos (HGs), xylogalacturonanos (XGs), rhamnogalacturonanos I (RG-I), rhamnogalacturonanos II (RG II) e apiogalacturonanos (AP) (SEYMOUR ; KNOX, 2002; CAFFALL ; MOHNEN 2009; WOLF *et al.*, 2009; ALBERSHEIM *et al.*, 2011).

Os HGs são os polímeros pécticos mais abundantes na parede celular das eudicotiledôneas (VORAGEN *et al.*, 2009) e tem como funções principais, a depender do grau de metil-esterificação, proporcionar à parede extensibilidade, afrouxamento, enrijecimento e porosidade (WOLF *et al.*, 2009; CHEBLI; GEITMANN, 2017). O grau de metil-esterificação das pectinas depende essencialmente da atividade das pectinas metil-esterases (PMEs), enzimas que agem sobre os HGs (IRIBE; BUEN, 2013). Assim, a ação das PMEs no processo de de-metil-esterificação dos HGs podem promover modificações nos padrões estruturais da parede celular durante o desenvolvimento vegetal e assim, controlar o crescimento celular e alterar suas funções (HONGO *et al.*, 2012). Durante a expansão foliar, a alta metil-esterificação na parede celular, torna o tecido mais maleável e capaz de expandir-se; quando a expansão cessa, ocorre uma remoção dos grupos metil e a degradação de pectinas, aumentando a rigidez no tecido e diminuindo sua capacidade de expansão e crescimento (PÉREZ-PÉREZ *et al.*, 2019; REEM *et al.*, 2020).

Dentre as espécies encontradas no campo rupestre e que carecem de estudos de ontogenia foliar e especialmente composição de parede celular podemos destacar aquelas do gênero *Baccharis*, um dos maiores da família Asteraceae, com mais de 500 espécies onde 120 são encontradas no Brasil e estão distribuídas por ambientes tropicais e temperados do Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México e é encontrado principalmente no Cerrado brasileiro (VERDI *et al.*, 2005; ABAD; BERMEJO, 2007). *Baccharis dracunculifolia* DC é conhecido no Brasil por nomes populares como “vassoura” ou “Alecrim-do-campo”, apresenta hábito arbustivo, perene e lenhoso, pode atingir em média 2-3 metros de altura, com caule bastante ramificado e folhas densamente cobertas por tricomas (SANTOS *et al.*, 2012). *Baccharis platypoda* DC é uma espécie arbustiva dioica, pertencente à família Asteraceae e pode atingir até dois

metros de altura. (BARROSO, 1976; BORGES; FORZZA, 2008). Assim, o presente trabalho traz como objetivos comparar os padrões de expansão foliar e ontogênese das folhas de *B. dracunculifolia* e *B. platypoda*, analisando e descrevendo o desenvolvimento anatômico e a composição péctica da parede celular, a fim de constatar se há uma diferença entre os padrões de expansão das duas espécies de *Baccharis* e, se isto for constatado, se estas modificações irão influir na disposição dos componentes da parede celular e na sua ocorrência.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Asteraceae: *Baccharis dracunculifolia* DC e *Baccharis platypoda* DC

A família Asteraceae inclui cerca de 1.600 gêneros e 23.000 espécies, dentre estas, uma grande parcela apresenta características utilizadas no âmbito medicinal, ornamental e para propósitos econômicos (GAO *et al.*, 2010). Além disso, destaca-se a importância da espécie *Baccharis dracunculifolia* DC como uma das principais fontes de própolis no Brasil (SFORCIN *et al.*, 2012). *Baccharis* é um gênero amplo na família Asteraceae, com mais de 500 espécies presentes em ambientes tropicais e temperados (ABAD; BERMEJO, 2007), com grande importância na produção de óleos essenciais (LOAYZA *et al.*, 1994), na indústria farmacológica, tendo papel bactericida, fungicida, antioxidante e anti-inflamatório, devido à presença de flavonoides, compostos fenólicos, diterpenoides e componentes voláteis (ABAD, BERMEJO, 2007) além da utilização dos óleos essenciais de *Baccharis platypoda* DC no tratamento de doenças como Leishmaniose (MOREIRA *et al.*, 2014).

As espécies que serão usadas aqui como modelos de estudos são *Baccharis platypoda*, apresenta hábito arbustivo, tricomas, lâmina foliar peciolada, pinada e com venações, margens inteiras ou denteadas, presença de tricomas glandulares em ambos os lados das folhas, vasos condutores secundários que se destacam da lâmina foliar, canais secretores associados a vasos condutores e mesofilo isobilateral, com uma faixa compacta de parênquima esponjoso no centro da folha (GIULIANO, 2005; ORNELLAS *et al.*, 2019); e *B. dracunculifolia* que apresenta folhas simples, inteiras, alternas, sésseis, uninérveas, verdes e membranáceas, com formato lanceolado,

ápice agudo e tricomas glandulares pluricelulares. Seus primórdios foliares apresentam densa camada de tricomas, que são escassos em folhas adultas. As folhas são anfiestomáticas, com mesofilo predominantemente composto de parênquima paliçádico e uma estreita faixa de parênquima esponjoso, além de canais secretores associados ao floema (OLIVEIRA; BASTOS, 1999; BUDEL *et al.*, 2004). Sua ocorrência engloba países da América Latina, além de estar presente em diversos Estados brasileiros, dentre eles, Minas Gerais (HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

2.2 Expansão foliar

O crescimento das células vegetais é regulado de uma forma dinâmica e complexa, a qual envolve pressão de turgor e a resistência da parede celular. (COSGROVE, 2005), levando ao desenvolvimento de todos os órgãos vegetais, incluindo as folhas. As folhas têm seu processo de desenvolvimento coordenado por divisões celulares, expansão e diferenciação celular, bem como fatores genéticos (TOWNSLEY; SINHA, 2012). São essenciais para o processo fotossintético, além disso estão estritamente relacionadas com as funções que o vegetal desempenha e as adaptações mediante as mudanças ambientais e condições climáticas (LIU *et al.*, 2017)

A formação do fenótipo da folha tem importância funcional e adaptativa, atuando em processos de captura de luz e gás carbônico, na transpiração e na fotossíntese. Seu crescimento envolve fatores genéticos, os quais são influenciados pela interação com o ambiente, culminando no aumento ou diminuição da área foliar (VOLKENBURGH, 1999). Estas alterações passam por mudanças a nível celular e na estrutura da parede celular, dependentes da indução e controle do estresse oxidativo. Este estresse leva ao alongamento celular, distendendo a parede, o qual é mediado pelos microtúbulos e favorecido pela elasticidade das células, promovendo o alongamento e expansão dos órgãos vegetais (ZHAO *et al.*, 2020).

Embora os mecanismos genéticos de controle de desenvolvimento foliar tenham sido discutidos na literatura usando especialmente *Arabidopsis thaliana* L. Heynh (RODRIGUEZ *et al.*, 2014), estudos de ontogenia chamam a atenção de pesquisadores, uma vez que estes nos permitem entender os padrões de expressão

gênica e formação do fenótipo foliar (KRISHNAMURTHY *et al.*, 2015). A morfogênese foliar em eudicotiledôneas é baseada em três diferentes estágios: o primeiro com formação do primórdio a partir de divisões, que levam a formação de um eixo foliar; o segundo, com a diferenciação dos meristemas marginais e submarginais; e o terceiro, com processo de expansão foliar e morfogênese secundária (FHAN, 1985; BECK, 2005). Resta saber quais são as alterações que ocorrem na parede celular, especialmente aquelas relacionadas ao grau de metil-esterificação de compostos pécnicos.

2.3 Parede celular vegetal

A celulose é o componente mais abundante das paredes celulares vegetais, sendo constituída por complexos dinâmicos que se movimentam do interior da membrana plasmática, enquanto a deposição de celulose é direcionada na parede (LEROUXEL *et al.*, 2006). As células em crescimento primário apresentam paredes maleáveis, o qual é mediado pela pressão de turgor, elementos do citoesqueleto e reações bioquímicas, as quais modificam os padrões de deposição da celulose e afrouxam as microfibrilas, possibilitando sua movimentação e expansão celular (TSUGE *et al.*, 1996; BASKIN, 2005; MAGALHÃES *et al.*, 2014). Entretanto, a dinâmica funcional da parede celular também depende de componente não celulósicos, como as pectinas (ALBERSHEIM *et al.*, 2011).

A diferenciação da parede celular ocorre por modificações em sua constituição, dentre elas as variações na composição pécnica, com a participação de enzimas, como esterases, que regulam o grau de metil-esterificação das pectinas e pode estar diretamente relacionada às características ambientais (CUTSEM; MESSIAEN, 1996), tais como baixas temperaturas (BILSKA-KOS *et al.*, 2017), calor excessivo (WU *et al.*, 2018), déficit hídrico (MOORE *et al.*, 2008), estresse salino (MILEWSKA-HENDEL *et al.*, 2017), metais pesados (JIA *et al.*, 2019), deficiência nutricional (WU *et al.*, 2017) e patógenos (ENGELSDORF *et al.*, 2016; BETHKE; GLAZEBROOK, 2019). A estrutura dos polissacarídeos que compõe a parede celular varia de acordo com os tecidos da planta e entre as diferentes espécies de vegetais (ALBERSHEIM *et al.*, 1996).

O crescimento da parede sofre influência de polissacarídeos distintos pertencentes à classe das pectinas, entre os quais se destaca os homogalacturonanos (HGs), e a ação das pectinas metil-esterase (PMEs) (WOLF; GREINER, 2012). As pectinas são os polissacarídeos mais complexos estruturalmente e funcionalmente encontrados nas paredes celulares vegetais (EVERT, 2006) e participam do crescimento, morfologia, desenvolvimento, defesa, além de serem polímeros estabilizantes e gelatinosos nas paredes celulares (MOHNEN, 2008). São heteropolissacarídeos estruturais largamente utilizados na indústria alimentícia na forma de geleias e estabilizantes, além de ter seu papel farmacológico explorado no tratamento e prevenção de algumas doenças, tais como o câncer (NAQASH *et al.*, 2017).

As pectinas atuam no controle da porosidade, na proteção contra patógenos e na estabilidade da parede celular (JONES *et al.*, 1997; WILLATS *et al.*, 2001; ALBERSHEIM *et al.*, 2011; WOLF; GREINER 2012). As pectinas são constituídas por quatro grupos distintos denominados homogalacturonanos (HGs), rhamnogalacturonanos-I (RG-I), rhamnogalacturonanos-II (RG-II) e xylogalacturonanos (XGA), os quais ligam-se de forma covalente (YAPO, 2011). Homogalacturonanos são compostos formados por ligações de ácido galacturônico, que pode ser em parte metil-esterificado (BRETT; WALDRON, 1996), sendo que arabinanos e galactanos desempenham um papel importante na extensibilidade da parede celular (JONES *et al.*, 1997).

Durante a ontogênese dos órgãos vegetais, a extensibilidade da parede celular está relacionada com a modulação de enzimas e os graus de metil-esterificação dos homogalacturonanos (HGs) da parede, por intermédio das pectinas metilesterases (PMEs) (WILLATS *et al.*, 2001).

Os polissacarídeos de origem pécica apresentam papel relevante na adesão celular que é diretamente influenciada pelo grau de metil-esterificação no tecido vegetal (McCARTNEY; KNOX, 2003), sendo que as ligações cruzadas entre estes compostos e o cálcio contribuem para a adesão celular (McCARTNEY; KNOX, 2002). O ácido galacturônico, maior componente da rede de pectina, pode se apresentar esterificado ou formando ligações cruzadas com o cálcio (Ca^{2+}), sendo que quando ocorre um afrouxamento nestas ligações a célula apresenta-se mais maleável e capaz

de aumentar de tamanho (BENNING *et al.*, 1996). As pectinas metil-esterases (PMEs) são enzimas com funções diversas e importantes durante o processo de desenvolvimento vegetal (JOLIE *et al.*, 2010). As PMEs modificam o grau de metil-esterificação das pectinas, que ocorre em seus grupos carboxílicos, sofrendo um decréscimo neste grau de metil-esterificação e, conseqüentemente, alterando suas propriedades físico-químicas (CHAM *et al.*, 2017).

As alterações na metil-esterificação das pectinas podem impactar a função que estas desempenham no vegetal (PELLOUX *et al.*, 2007), influenciando na adesão celular, plasticidade, pH e defesa contra patógenos. De fato, a avaliação do grau de metil-esterificação das pectinas por intermédio de análises imunocitoquímicas podem auxiliar na compreensão da dinâmica da parede celular durante a ontogênese foliar e a ação da PMEs (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Sistema de estudo

Amostras de folhas *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis platypoda* foram coletadas na região de Lavras, no Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito (Figura 1 - A), Minas Gerais, Brasil (21°19'44" S, 44°58'6" O), localizado ao sul do município de Lavras. O clima da região é do tipo Cwb, segundo o mapa da classificação de Köppen para o Brasil, proposto por Alvares *et al.* (2013), contendo verões brandos e invernos secos. A precipitação anual média é de cerca de 1500 mm, com temperatura anual média de 19,6°C (BRASIL, 1992). O Parque apresenta quatro tipos fitofisionômicos - floresta, cerrado, campo rupestre e campo de altitude (DALANESI *et al.*, 2004), sendo que o material para o presente estudo foi coletado em uma área de campo rupestre. Os ápices caulinares, folhas jovens e folhas expandidas foram coletadas (n = 10), fixadas em FAA (formalina, ácido acético, etanol a 50%, 1:1:18 v/v/v) (JOHANSEN, 1940) e em glutaraldeído (2,5% em tampão fosfato 0.1M pH 7.2) (KARNOVSKY, 1965 modificado) para subseqüentes análises estruturais e de imunocitoquímicas, onde foram avaliados a gema e os primórdios foliares, terceiro e sexto nós.

3.2 Análises estruturais

Amostras fixadas de ápices caulinares (gema e primórdios foliares), folhas jovens (primeiro ao quarto nó) e folhas expandidas (quinto, sexto e nono nós) (n = 10) foram desidratadas em etanol, embebidas em 2-hydroxyetilmethacrilato (Historesin Leica Wetzlar, Germany), seccionadas transversalmente com auxílio de micrótomo rotativo semiautomático, em espessura de 8 µm. Posteriormente as lâminas foram coradas com azul de toluidina pH 6,7 (O'BRIEN *et al.*, 1965) e montadas em verniz vitral (PAIVA *et al.* 2006). As secções foram analisadas e fotografados com auxílio do microscópio Nykon Eclipse E100 com câmera digital acoplada (Lumenera Infinity 13.1 mp).

3.3 Análises de imunocitoquímica

Amostras de gemas e primórdios foliares juntamente com folhas do terceiro e sexto nós foram desidratadas em série etanólica (70, 80, 90 e 100%), e infiltradas em Historresina[®] com subsequente emblocamento, sem a etapa de coloração. Seções do material foram feitas com auxílio de micrótomo rotativo semiautomático. Em seguida, as amostras foram embebidas em uma solução bloqueadora de proteína de leite Molico[®]/ tampão fosfato-salino (PBS), durante 30 minutos. A incubação em anticorpos primários monoclonais JIM5, JIM7, LM5, LM6 (Centre for Plant Sciences, University of Leeds, UK), (Tabela 1), diluídos 1:10 em leite / PBS, ocorreu em sequência e por 2 horas. Os cortes, então, foram lavados em PBS, com posterior incubação em anticorpo secundário FITC (1:100 em 3% leite/PBS), por 2 horas na ausência de luz. O controle foi obtido através da supressão da incubação com o anticorpo primário. As amostras foram montadas em glicerina 50%, após nova lavagem dos cortes em PBS, e avaliadas em microscópio de fluorescência (DM4000B LED, Leica, Alemanha) acoplado com câmera monocromática HD (DFC3000 G), com comprimento de onda de excitação de 450–490 nm e filtro de emissão de 515 nm. O filtro DAPI foi usado como controle de autofluorescência. Resultados positivos (+) foram marcados com a coloração verde, enquanto que os negativos (-) com a azul.

Tabela 1. Anticorpos monoclonais, epítopos e respectivas referências.

ANTICORPOS	EPÍTOPOS	REFERÊNCIAS
MONOCLONAIS		
Homogalacturananos (HGs)		
JIM 5	Baixa metil-esterificação	Vanderbosch <i>et al.</i> (1989), Knox <i>et al.</i> (1990), Willats <i>et al.</i> (2000), Clausen <i>et al.</i> 2003)
JIM 7	Metil-esterificado (referido aqui como alta metil-esterificação)	Knox <i>et al.</i> (1990), Willats <i>et al.</i> (2000), Clausen <i>et al.</i> (2003)
Rhamnogalacturonanos (RGIs)		
LM 5	(1 → 4) β-D-galactano	Jones <i>et al.</i> (1997)
LM 6	(1 → 5) α-L-arabinanos	Willats <i>et al.</i> (1998)

4 RESULTADOS

4.1 Desenvolvimento anatômico – do primórdio à folha expandida – *Baccharis dracunculifolia*

As folhas de *Baccharis dracunculifolia* (Figura 2), apresentam uma filotaxia alterna espiralada (Figura 1 - B) e são pequenas e lanceoladas (Figura 1 - B) e possuem tricomas na região do meristema apical. No primeiro e segundo nós ocorre uma pequena diferenciação e perda de tricomas. O terceiro e quarto nós apresentam-se em estágio de transição entre tecidos meristemáticos e já diferenciados; e no quinto e sexto nós as folhas já atingiram o estágio de expansão total.

No primórdio foliar da gema, as células apresentam-se em condição meristemática, com formato arredondado, as quais compõe a protoderme (pd) com apenas uma camada, o meristema fundamental (mf) e o procâmbio (pr) (Figura 2 – A, B). O arranjo das células é compacto e os núcleos são grandes e densos, além de haver uma grande densidade de tricomas glandulares e tectores (Figura 2 - A). Na região do procâmbio observa-se um início de organização com formação de cavidades secretoras (Figura 2 - A). Ocorre a formação de células subsidiárias e pequenos espaços que serão futuramente as câmaras subestomáticas em algumas regiões do primórdio foliar (Figura 2 – A, B).

No primeiro nó (Figura 2 – C, D) a região do mesofilo apresenta-se ainda indiferenciada, com células do meristema fundamental dividindo-se de forma anticlinal e alongando o eixo da folha. Na nervura central, já pode ser observado um arranjo organizado do xilema e floema primários, os quais estão circundados por células de parênquima arredondadas, formando uma bainha que envolve o tecido condutor (Figura 2 – C). Nesta etapa, observam-se diferenciação de várias células epidérmicas em células-guarda e surgem também as câmaras subestomáticas em estágio inicial, que se localizam nas duas faces da folha (Figura 2 – C, D). O segundo nó (Figura 2 – E, F) não difere drasticamente do primeiro nó, apresentando as mesmas características, com núcleos ainda bastante conspícuos e sinais de divisão celular. Ocorre apenas uma aparente diminuição no número de tricomas na epiderme, que se arranjam em grupos separados como no primeiro nó (Figura 2 – E).

No terceiro nó (Figura 2 – G, H) e quarto (Figura 2 – I, J) nota-se uma clara distinção entre parênquimas paliçádico e esponjoso, o arranjo das células permanece bastante compacto, ocorrem 3-4 camadas de parênquima paliçádico nas faces adaxial e abaxial, as quais apresentam formato alongado. O parênquima esponjoso está restrito a uma estreita faixa mediana (2-3 camadas), de células braciiformes, que muitas vezes circundam os feixes vasculares e canais secretores ao longo do mesofilo (Figura 2 – I, J). As câmaras subestomáticas são bastante visíveis nas faces abaxial e adaxial da folha e as células-guarda são grandes e facilmente identificáveis (Figura 1 - J). Os tricomas são menos frequentes em comparação aos primórdios foliares.

No quinto nó (Figura 2 – K, L) as células do parênquima paliçádico são mais alongadas e o parênquima esponjoso está destacado no centro do mesofilo, podendo circundar os feixes vasculares adjacentes. Alguns tricomas ainda são observados (Figura 2 – K). No sexto nó (Figura 2 – M, N) o parênquima paliçádico apresenta células bastante alongadas e justapostas, seu arranjo permanece compacto, com espaços apenas na região das câmaras subestomáticas. Neste estágio a folha é considerada expandida, apresenta a diferenciação completa dos tecidos. Os tricomas glandulares na epiderme ainda são visíveis (Figura 2 – M).

No nono nó (Figura 2 – O, P) não há diferenciação em comparação com o 6º nó, as células do parênquima paliçádico conservam-se alongadas, formando três camadas distintas nas duas faces da folha. O parênquima esponjoso limita-se a uma

estreia faixa de duas camadas no centro da folha, com formato braciforme. Ocorrem feixes vasculares secundários e cavidades secretoras circundados por parênquima, além de muitas câmaras subestomáticas ao longo de toda a lâmina foliar (Figura 2 – P).

4.2 Descrição anatômica – primórdio à folha expandida – *Baccharis platypoda*

Os estágios de desenvolvimento das folhas de *Baccharis platypoda* (Figura 3) são similares aos de *Baccharis dracunculifolia*. A filotaxia é alterna espiralada (Figura 1 - C), as folhas são grandes e com margens denteadas (Figura 1 – B). A delimitação de estágios de desenvolvimento semelhante a *Baccharis dracunculifolia*. Na região meristemática, o primeiro e o segundo nós estão indiferenciados, o terceiro nó já apresenta uma diferenciação clara entre os parênquimas paliádico e esponjoso e a partir do quarto nó a folha já se encontra expandida.

O primórdio foliar da gema de *Baccharis platypoda* é formado por uma nervura central desenvolvida, com um arranjo pequeno de feixes de protofloema e protoxilema (Figura 3 – A, B). O mesofilo contém células arredondadas e com arranjo compacto, os núcleos são grandes e densos e a epiderme possui um grande número de tricomas glandulares e tectores (Figura 3 – A, B). O mesofilo é delgado e há feixes vasculares dispostos ao longo da folha, que formam nervuras secundárias menos calibrosas (Figura 3 – B). Neste estágio já é possível observar estômatos e pequenas câmaras subestomáticas na face abaxial da folha (Figura 3 - A).

No primeiro nó (Figura 3 – C, D) a epiderme adaxial apresenta células arredondadas, grandes e de formato irregular, já na região abaxial estas células são menores e arredondadas. Os estômatos encontram-se apenas na face abaxial das folhas (Figura 3 - C). Neste estágio, as folhas também apresentam tricomas, porém em menor quantidade (Figura 3 – C, D). Ao longo da lâmina foliar ocorrem cavidades secretoras e feixes vasculares adjacentes (Figura 3 - D). O mesofilo está indiferenciado e compacto, suas células apresentam núcleos densos e inúmeras divisões anticlinais são observadas. No segundo nó (Figura 3 – E, F) não ocorrem mudanças drásticas em comparação com o primeiro nó, as células do mesofilo encontram-se um pouco mais alongadas, mas ainda indiferenciadas e com núcleos

densos (Figura 3 – F). Há uma diminuição no indumento, mas ainda é possível observar alguns tricomas ao longo da lâmina foliar (Figura 3 – E).

No terceiro nó (Figura 3 – G, H), é visível uma separação entre os parênquimas paliádico e esponjoso e a epiderme está praticamente sem indumento. Ocorre um leve espessamento nas células do colênquima na região inferior da nervura central (Figura 3 – G). No quarto nó (Figura 3 – I, J), a diferenciação está completa, as células do parênquima paliádico estão em um arranjo compacto. As células do colênquima estão espessadas ao longo de toda nervura central e alguns tricomas ainda são observados na epiderme (Figura 3 – I).

No quinto (Figura 3 – K, L) e sexto nós (Figura 3 – M, N), o parênquima paliádico apresenta-se em duas camadas compactas e justapostas, sendo que a primeira camada na face adaxial apresenta células mais alongadas em relação à região abaxial (Figura 3 – N). O parênquima esponjoso apresenta duas camadas de células braciiformes. As células da epiderme adaxial são grandes e de formato arredondado e as células da epiderme abaxial são pequenas na nervura central (Figura 3 – M), com pouca ocorrência de tricomas. No nono nó (Figura 3 – O, P) ocorre um espessamento do colênquima e aumento de volume do feixe vascular na nervura central (Figura 3 – O).

4.3 Análise Imunocitoquímica

4.3.1 *Baccharis dracunculifolia*

Epitopos de HGs metil-esterificados, reconhecidos pelo anticorpo JIM7, marcaram de forma fraca algumas células dos primórdios foliares na região apical (Figura 4 - A). Nas folhas de primeiro nó houve marcação fraca no colênquima, ainda em formação, na região da nervura mediana (Figura 4 – B, tabela 2). Na lâmina foliar nota-se uma marcação generalizada, deste a epiderme, tecido fundamental e floema dos feixes vasculares (Figura 4 - C, tabela 2). No terceiro nó, nota-se uma marcação moderada dos epitopos reconhecidos pelo JIM7 no colênquima e floema da nervura mediana (Figura 4 - D, tabela 2), assim como na parede periclinal interna da epiderme, parênquima clorofiliano e células do epitélio secretor (Figura 4 - E, tabela 2).

Resultados semelhantes são encontrados na folha expandida do sexto nó, entretanto, com marcação do epitopo reconhecido pelo JIM7 em maior intensidade junto ao colênquima, epiderme, mesofilo e floema (Figura 4 - F, G, tabela 2). Epitopos de HGs com baixa metil-esterificação, reconhecidos pelo JIM5, não foram localizados nos primórdios foliares do meristema apical (Figura 5 - A, tabela 2) contudo, apresentaram marcação fraca nas células do colênquima da nervura mediana no primeiro nó (Figura 5 - B, tabela 2). No limbo foliar nota-se uma marcação na epiderme, tecido fundamental e floema dos feixes vasculares (Figura 5 - C, tabela 2). No terceiro e sexto nós nota-se marcação mais intensa dos epitopos reconhecidos pelo JIM5 junto ao colênquima da nervura mediana, epiderme, mesofilo e floema das nervuras medianas e de menor calibre (Figura 5 - D, G, tabela 2).

Epitopos de (1→4) β -D-galactano, reconhecidos pelo LM5, foram detectados na protoderme, meristema fundamental e procâmbio dos primórdios foliares nas gemas (Figura 6 - A, tabela 2). Nas folhas de primeiro nó, epitopos reconhecidos pelo LM5 foram detectados na nervura mediana, especialmente células do colênquima (Figura 6 - B, tabela 2), floema, epiderme e tecido clorofiliano. No terceiro nó, nota-se uma perda da intensidade da marcação em todos os tecidos, mantendo-se principalmente no floema (Figura 6 - C, tabela 2). Epitopos de (1→4) β -D-galactano não foram marcados nas folhas do sexto nó. Epitopos de (1 → 5) α -L-arabinanos, reconhecidos pelo LM6, não foram detectados em nenhum dos estágios avaliados.

4.3.2 *Baccharis platypoda*

Epitopos de HGs metil-esterificados, reconhecidos pelo anticorpo JIM7, não foram marcados nas células dos primórdios foliares na região apical (Figura 4 - H, tabela 3). Nas folhas de primeiro nó houve marcação intensa no colênquima, ainda em formação (Figura 4 - I, tabela 3), na epiderme, incluindo complexo estomático, tecidos fundamentais (Figura 4 - J, tabela 3) e feixe vasculares.

No terceiro nó, nota-se uma marcação moderada dos epitopos reconhecidos pelo JIM7 no colênquima da nervura mediana (Figura 4 - K, tabela 3), assim como na epiderme, parênquima clorofiliano e feixes vasculares (Figura 4 - L, tabela 3). Resultados semelhantes são encontrados na folha expandida do sexto nó, entretanto,

com marcação do epitopo reconhecido pelo JIM7 em maior intensidade junto ao colênquima (Figura 4 - M, tabela 3). Epitopos de HGs com baixa metil-esterificação, reconhecidos pelo JIM5, foram localizados nos primórdios foliares do meristema apical, de forma dispersa em todos os meristemas primários (Figura 5 - H, tabela 3).

O primeiro nó apresentou marcação fraca no colênquima da nervura mediana (Figura 5 - I, tabela 3), bem como nas paredes celulares da epiderme e no tecido fundamental (Figura 5 - J, tabela 3). No terceiro e sexto nós nota-se marcação dos epitopos reconhecidos pelo JIM5 junto ao colênquima da nervura mediana, epiderme e epitélio dos canais secretores (Figura 5 - K, N, tabela 3).

Epitopos de (1→4) β -D-galactano, reconhecidos pelo LM5, foram detectados na protoderme, meristema fundamental e procâmbio dos primórdios foliares no meristema apical (Figura 6 - D, E, tabela 3). Nas folhas de primeiro nó, epitopos reconhecidos pelo LM5 foram detectados na nervura mediana, especialmente células do colênquima e floema (Figura 6 - F, tabela 3), no limbo foliar epitopos reconhecidos pelo LM5 foram detectados na epiderme e feixes vasculares (Figura 6 - G, tabela 3). No terceiro e sexto nós, epitopos reconhecidos pelo LM5 foram marcados na parede do colênquima (Figura 6 - H), bem como na parede periclinal interna da epiderme e células da bainha vascular (Figura 6 - J, tabela 3). Epitopos de (1 → 5) α -L-arabinanos, reconhecidos pelo LM6, foram detectados somente no colênquima das folhas do terceiro e sexto nós (Figura 6 - I, K, tabela 3).

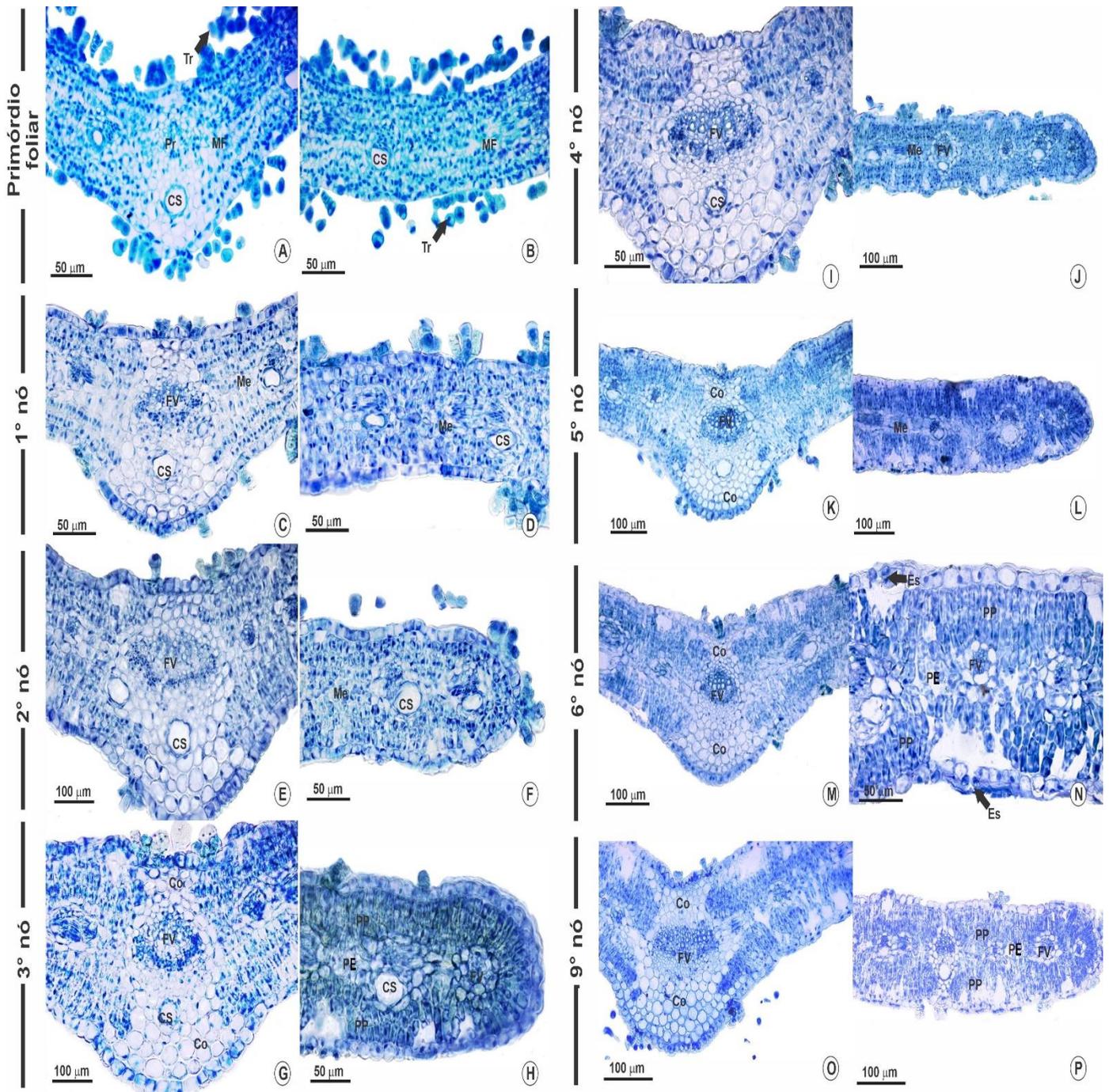
Figura 1 – Local de coleta e espécies coletadas



A – Vista do Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito. B- *Baccharis dracunculifolia*; C – *Baccharis platypoda*.

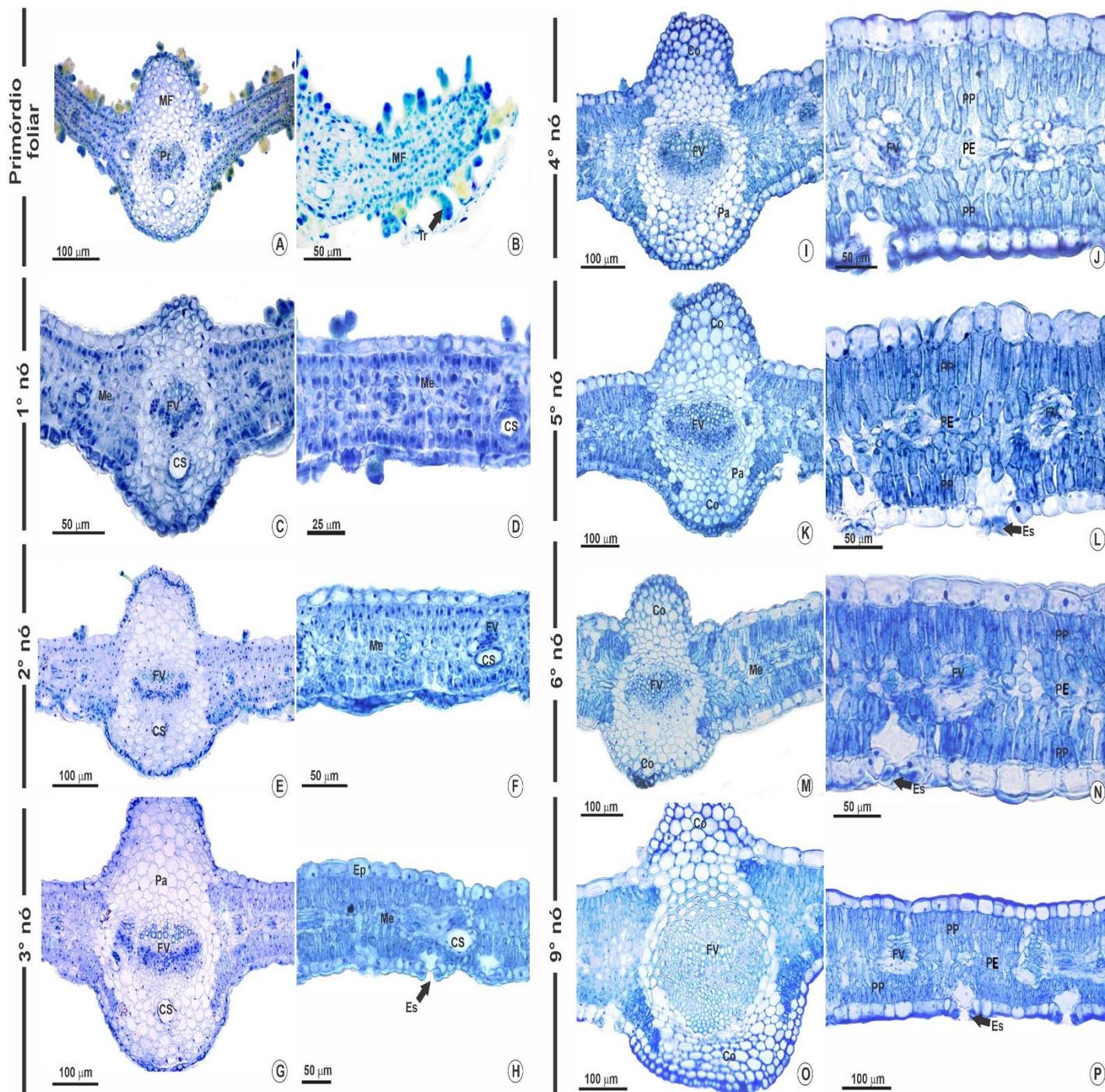
Fonte: Do autor (2019)

Figura 2. Vista frontal dos cortes transversais das folhas de *Baccharis dracunculifolia* (A – P).



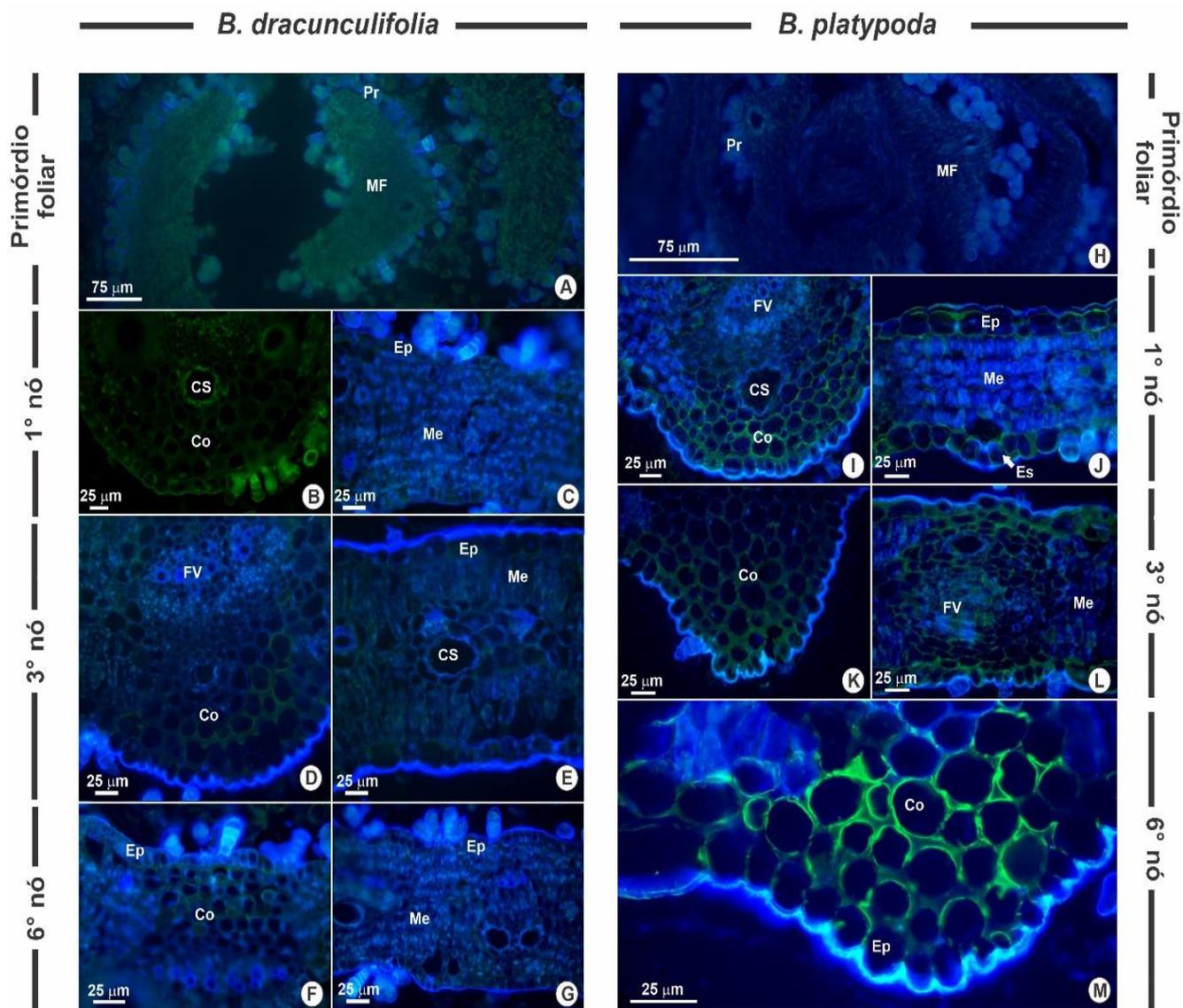
Secção da nervura central (A, C, E, G, I, K, M, O) e secção do mesófilo (B, D, F, H, J, L, H, P). tr (tricoma); pr (procâmbio); mf (meristema fundamental); cs (cavidade secretora); me (mesófilo); es (estômato); fv (feixe vascular); pp (parênquima paliçádico); pe (parênquima esponjoso); co (colênquima). As setas indicam estômatos e tricomas.

Figura 3. Vista frontal dos cortes transversais das folhas de *Baccharis platypoda* (A – P).



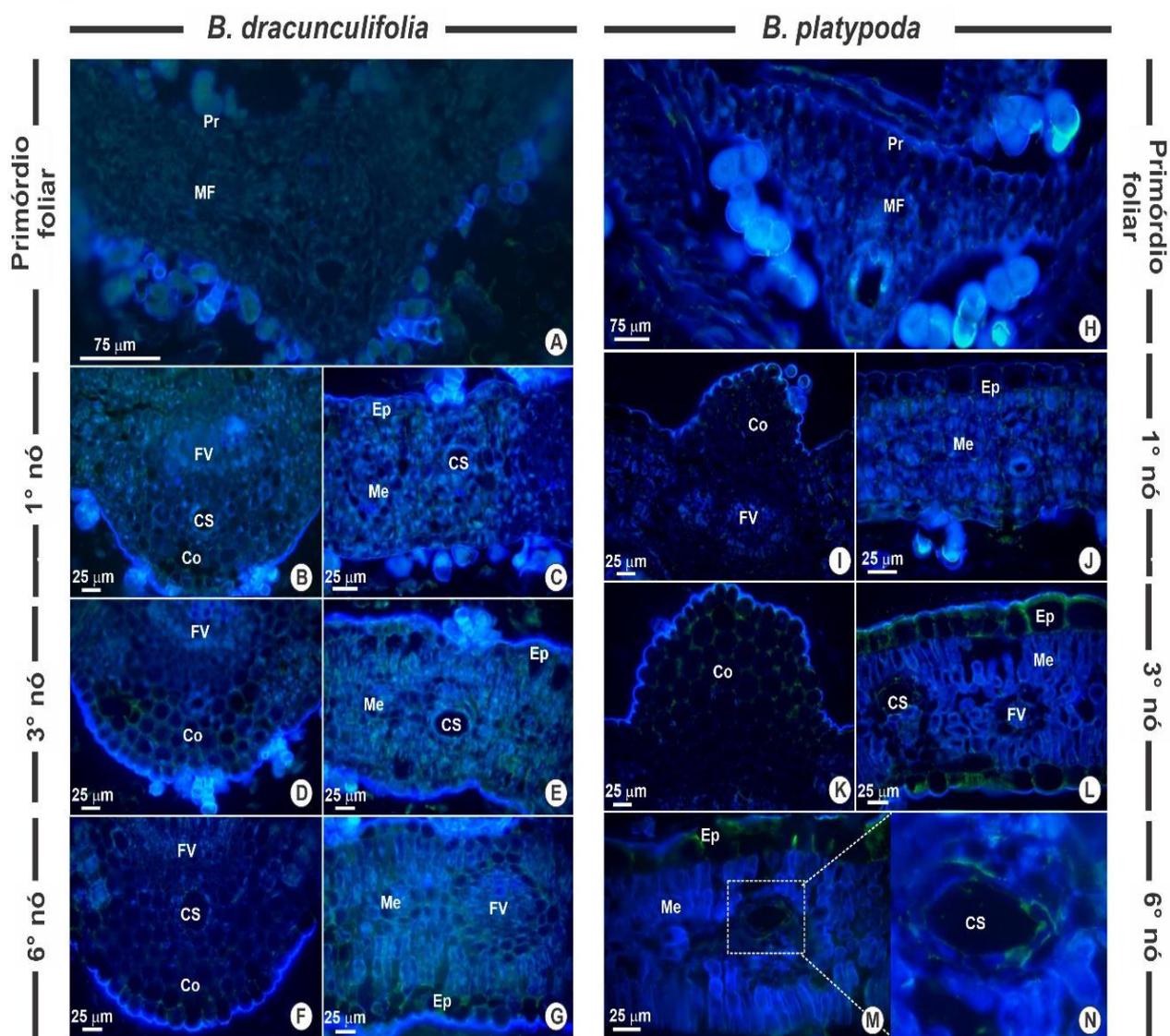
Secção da nervura central (A, C, E, G, I, K, M, O) e secção do mesofilo (B, D, F, H, J, L, H, P). pr (procâmbio); tr (tricoma); cs (cavidade secretora); me (mesofilo); mf (meristema fundamental); ep (epiderme); es (estômato); pa (parênquima); fv (feixe vascular), pp (parênquima paliçádico); pe (parênquima esponjoso); co (colênquima); as setas indicam estômatos e tricomas.

Figura 4. Distribuição de HGs de alta metil-esterificação, marcados por anticorpos monoclonais JIM7, durante a ontogênese foliar em *Baccharis dracunculifolia* (A-G) e *Baccharis platypoda* (H-M). Resultados em verde indicação marcação positiva e em azul negativo.



Abreviações: Pr- Protoderme; MF- Meristema fundamental; Co- Colênquima; CS- canal secretor; Ep- Epiderme; Me- Mesofilo; FV- Feixe vascular; Es- Estômato.

Figura 5. Distribuição de HGs de baixa metil-esterificação, marcados por anticorpos monoclonais JIM5, durante a ontogênese foliar em *Baccharis dracunculifolia* (A-G) e *Baccharis platypoda* (H-N). Resultados em verde indicação marcação positiva e em azul negativo.



Abreviações: Pr- Protoderme; MF- Meristema fundamental; Co- Colênquima; CS- canal secretor secretora; Ep- Epiderme; Me- Mesofilo; FV- Feixe vascular.

Figura 6. Distribuição de RGIs, marcados por anticorpos monoclonais LM5 (A-H, J) e LM6 (I, K), durante a ontogênese foliar em *Baccharis dracunculifolia* (A-C) e *Baccharis platypoda* (D-K). Resultados em verde indicação marcação positiva e em azul negativo.

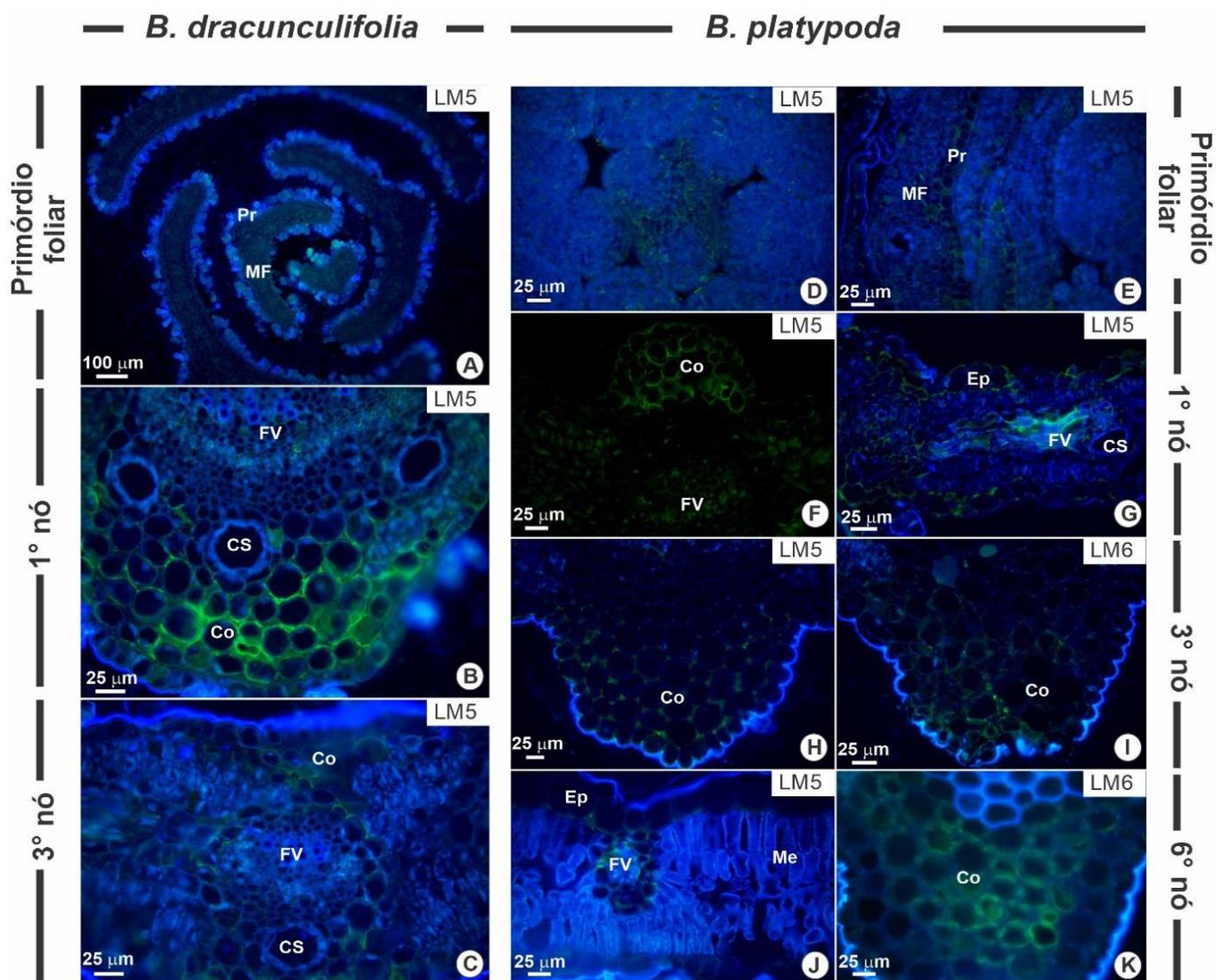


Tabela 2: Intensidade de marcação das pectinas por anticorpos monoclonais primários em diferentes tecidos durante a ontogênese foliar de *Baccharis dracunculifolia*.

Anticorpos monoclonais	Tecidos																			
	Protoderme			Mesofilo			Epiderme			Meristema apical	Parênquima			Colênquima			Floema		Epitélio secretor	
	PF	FJ	FM	PF	FJ	FM	PF	FJ	FM	PF	FJ	FM	FJ	FM	FJ	FM	FJ	FM	FJ	FM
		1º	3º	6º		1º	3º	6º		1º	3º	6º	1º	3º	6º	1º	3º	6º	3º	6º
JIM5		+	+++	+++	+	+	+++	+++		+	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+++		+
JIM7	+	+	++	+++	+	+	++	+++	+	+	++	++	+	++	+++	+	++	+++	++	
LM5	+	++	+		++	++	+		+	++	+		+++	++		++	+			
LM6																				

A intensidade de marcação é indicada por: vazio: sem reação; +, fraco; ++, moderado e +++, intenso. Abreviações: PF: primórdio foliar; FJ: folha jovem (1º e 3º nós); FM: folha madura (6º nó).

Tabela 3: Intensidade de marcação das pectinas por anticorpos monoclonais primários em diferentes tecidos durante a ontogênese foliar de *Baccharis platypoda*.

Anticorpos monoclonais	Tecidos																			
	Protoderme			Mesofilo			Epiderme			Meristema apical	Parênquima			Colênquima			Floema		Epitélio secretor	
	PF	FJ	FM	PF	FJ	FM	PF	FJ	FM	PF	FJ	FM	FJ	FM	FJ	FM	FJ	FM	FJ	FM
		1º	3º	6º		1º	3º	6º		1º	3º	6º	1º	3º	6º	1º	3º	6º	3º	6º
JIM5	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
JIM7		+++	++		+++	++	++			+++	++		+++	++	+++	+++	++			
LM5	+	+	+	+	++	++	++	+	++				+++	+++	+++	++	++	++		
LM6														++	++					

A intensidade de marcação é indicada por: vazio: sem reação; +, fraco; ++, moderado e +++, intenso. Abreviações: PF: primórdio foliar; FJ: folha jovem (1º e 3º nós); FM: folha madura (6º nó).

5 DISCUSSÃO

O processo de ontogênese foliar em *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis platypoda* é similar aos padrões descritos na literatura para folhas de Angiospermas (AVERY, 1933), embora as Asteraceae apresentem alta variabilidade morfológica e anatômica nas folhas, o que possibilita a este grupo colonizar ambientes diversos, incluindo os xéricos (RIVERA *et al.*, 2017) como os campos rupestres. A dinâmica da composição da parede celular desempenha um papel fundamental no estabelecimento dos tecidos durante o desenvolvimento das folhas de *B. dracunculifolia* e *B. platypoda*. A distribuição diferencial de epitopos de homogalacturonanos (HGs) com alta e baixa metil-esterificação, reconhecidos respectivamente por JIM7 e JIM5, e epitopos de (1→4) β-D-galactanos e (1 → 5) α-L-arabinanos, reconhecidos por LM5 e LM6, são essenciais para garantir os processos de diferenciação e estabelecimento funcional dos tecidos durante a ontogênese foliar.

5.1 Características foliares e sua relação com o ambiente

As folhas de *B. dracunculifolia* e *B. platypoda* apresentam uma filotaxia alterna espiralada e as folhas de *Baccharis dracunculifolia* são pequenas e lanceoladas, uma estratégia que pode estar associada à alta incidência luminosa (LACERDA *et al.*, 2010; JARDIM *et al.*, 2018). Em *B. dracunculifolia* o incremento na espessura do parênquima paliçádico melhora a captação e aproveitamento da luz direta e a grande ocorrência de estômatos, com grandes câmaras subestomáticas, nas faces abaxial e adaxial, diminuem a perda de água, maximizam a fotossíntese e a condutância estomática em ambientes com alta incidência de luz (MOTT *et al.*, 1982; PEARCE *et al.*, 2006; GALMES *et al.*, 2007; LACERDA *et al.*, 2010; MELO JÚNIOR *et al.*, 2018).

A folha de *Baccharis platypoda* apresenta estômatos apenas na face abaxial, que pode estar relacionado com a diminuição da perda de água e exposição à luminosidade excessiva (EVERT, 2006). Porém Ornellas *et al.* 2019, observou em regiões de alta altitude a presença de estômatos nas duas faces da epiderme em *B. platypoda*.

Indumento abundante recobre as folhas de *B. dracunculifolia* e de *B. platypoda* nos estágios iniciais de desenvolvimento, sendo escassos a partir do segundo nó, característica comum na família Asteraceae (MARTINS *et al.*, 2006; EMPINOTTI; DUARTE, 2008; MOREIRA; CAVALCANTI, 2020). A presença destes tricomas é uma característica que pode estar relacionada à proteção da gema, uma região tenra e mais vulnerável da planta, já que estes evitam ataques de predadores, perda excessiva de água, manutenção da temperatura e refração do excesso de luz (FAHN, 1985; WAGNER *et al.*, 2004; EVERT, 2013).

Além de tricomas secretores, canais associados aos vasos condutores ocorrem em ambas as espécies, fato que é comum em espécies do gênero *Baccharis*, bem como na família Asteraceae (LERSTEN *et al.*, 2006; MILLAN *et al.*, 2006; DA SILVA *et al.*, 2014; FILARTIGA *et al.*, 2016; FORMIGA *et al.*, 2014; ORNELLAS *et al.*, 2019). As substâncias produzidas por estes canais e pelos tricomas, podem estar relacionadas com reserva energética, adaptação às variações de temperatura, além de defesa e resposta contra o ataque de patógenos (PIHAKASKI *et al.*, 1987; LERSTEN *et al.*, 2006; SHIMADA *et al.*, 2014).

O mesofilo de ambas as espécies é isobilateral, característico de plantas xéricas e as células do parênquima paliçádico apresentam mais camadas justapostas quando comparadas com as do parênquima esponjoso. Este fato pode garantir uma maior eficiência fotossintética, uma vez que o parênquima paliçádico é capaz de aproveitar melhor a luz direta, enquanto que o parênquima esponjoso ocupa-se de dispersar a luz pelo mesofilo de forma mais uniforme (GIVINISH, 1988; TAIZ; ZEIGER, 2004; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2006; JARDIM *et al.*, 2018; MELO JÚNIOR *et al.*, 2018)

Durante o desenvolvimento dos órgão vegetais, uma série de eventos coordenados como crescimento, divisão e alongamento, culminam no formato final dos tecidos (OBROUCHEVA, 2008). Ao longo do processo de expansão foliar das duas espécies de *Baccharis* estudadas, foi observada uma variação nos componentes pécticos da parede celular, que afetarão padrões de diferenciação dos tecidos no corpo da planta (ALBERSHEIM *et al.*, 2011). Além disso, os diferentes graus de metil-esterificação das pectinas observados ao longo do processo de expansão foliar, promovem modificações na estrutura da parede celular, tornando-a mais ou menos maleável de acordo com o estágio em que se encontra o tecido (HONGO *et al.*, 2012,

PEREZ *et al.*, 2019; REEM *et al.*, 2020). Assim sendo, o formato final do órgão depende da variação de componentes da parede celular, os quais são modificados de forma química e mecânica (CHEBLI; GEITMANN, 2017).

5.2. Variação da composição pécica da parede celular

Pectinas com diferentes graus de metil-esterificação foram observados durante a expansão foliar em ambas as espécies *B. dracunculifolia* e *B. platypoda*, com padrão de desenvolvimento e composição de parede celular similares. A deposição de HGs metil-esterificados se tornou intensa à medida que as folhas se desenvolveram, especialmente no colênquima das nervuras médias que apresentaram forte marcação.

Embora as HGs de baixa metil-esterificação tenham sido detectadas de forma fraca nos primórdios foliares de *B. platypoda*, a marcação foi mais intensa nos tecidos mais maduros em ambas as espécies. De fato, a avaliação da presença de pectinas de alta e baixa metil-esterificação usando técnicas imunocitoquímicas são importantes para discussão da atividade das PMEs (OLIVEIRA *et al.*, 2014, SILVA *et al.*, 2019), além de avaliar como o estado das HGs influenciam nas propriedades da parede durante a organogênese (CHEBLI; GEITMAN, 2017).

Quanto às HGs com alto grau de metil-esterificação, foi observado que sua ocorrência variava conforme a expansão foliar avançava, isto pôde ser constatado nas folhas de *Baccharis platypoda*, que após o primeiro nó já apresentava marcação para este epitopo, o que pode estar relacionado com a sua estrutura foliar e também com o fato de que suas folhas expandiram-se já a partir do quarto nó, enquanto que em *Baccharis dracunculifolia* esta ocorrência foi bem sutil ao longo dos estágios de expansão, sendo detectada com mais facilidade no sexto nó, uma vez que foi constatada sua expansão a partir do quinto nó, além disso, sua estrutura foliar diverge de *B. platypoda*, influenciando na ocorrência de epitopos com maior grau de metil-esterificação, uma vez que folhas maiores necessitam de um suporte maior (JONES *et al.*, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Aqui, epitopos de (1→4) β -D-galactanos foram identificados nos estágios intermediários de desenvolvimento de ambas as espécies e podem estar envolvidos no processo de proliferação, diferenciação e principalmente alongamento celular

(SALA *et al.*, 2017). Além de estarem associados ao processo de sinalização e diferenciação de células de xilema e floema (SALA *et al.*, 2013). Na epiderme, os epitopos de (1 → 5) α -L-arabinanos localizados principalmente no colênquima das folhas de podem auxiliar no processo de adesão celular em folhas já expandidas, como observado em folhas de *Lavoisiera mucorifera* e pericarpo de tomates (VERHERTBRUGGEN *et al.*, 2009, SILVA *et al.*, 2014).

Arabinanos foram detectados somente em *Baccharis platypoda*, no colênquima do 3º e 6º nós, o que pode estar relacionado à adesão celular, fornecendo à região do colênquima na nervura central uma maior resistência, ocasionada pelo estresse mecânico (COSGROVE, 1999; GUILLON *et al.*, 2017; LESZCZUK *et al.*, 2018). A ausência de marcação de Arabinanos em *Baccharis dracunculifolia* em todos os estágios pode se dever ao fato de que sua ocorrência é bastante variável, até mesmo nos tecidos que compõe o corpo vegetal, o que pode ser influenciado pelo ambiente, estágio de desenvolvimento e idade da planta (MAKAROVA *et al.*, 2018).

Em síntese, a ocorrência de epitopos de (1 → 5) α -L-arabinanos, (1 → 4) β -D-galactanos, HGs de alta e baixa metil-esterificação, provavelmente contribuem para a dinâmica da composição da parede celular durante a divisão celular, alongamento e crescimento, promovendo uma série de alterações funcionais nos tecidos foliares, durante a ontogênese de *B. platypoda* e *B. dracunculifolia*.

6 CONCLUSÕES

Durante as análises realizadas nas duas espécies de *Baccharis* observou-se uma semelhança entre os padrões de expansão foliar e uma pequena variação na ocorrência dos componentes da parede celular. A dinâmica destes componentes pécnicos, com menor ou maior grau de metil-esterificação, associados ao desenvolvimento dos tecidos, conferem maior estabilidade à folha enquanto ocorre a expansão foliar. A dinâmica observada das pectinas analisadas neste estudo nos tecidos das folhas de *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis platypoda*, conferem características adequadas ao desenvolvimento celular, como uma maior maleabilidade dos tecidos, associada à presença das HGs com menor grau de metil-

esterificação. Regiões com maior ocorrência de HGs com alto grau de metil-esterificação localizaram-se no colênquima da nervura central das folhas, o que pode conferir maior estabilidade durante a expansão foliar.

REFERÊNCIAS

- ABAD, M. J.; BERMEJO, P. **Baccharis (Compositae): a review update.** ARKIVOC, volume 7, p. 76-96, 2007.
- ALBERSHEIM, P.; A.G. DARVILL, A. G.; O'NEILL, M. A.; H.A. SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. **An Hypothesis: The Same Six Polysaccharides are Components of the Primary Cell Walls of All Higher Plants.** Elsevier Science, p. 47-55, 1996.
- ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.; ROBERTS, K.; SEDEROFF, A.; STAEHELIN, A. **'Plant cell walls'.** Garland Science, Taylor & Francis Group: New York, 2011.
- ALVARES, A. C.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. **Köppen's climate classification map for Brazil.** Meteorologische Zeitschrift, Stuttgart, volume 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AVERY, G.S. **Structure and development of the tabaco leaf.** American Journal of Botany, volume 20, p. 565–592, 1933.
- BARROSO, G. M. **Compositae - Subtribo Baccharidinae Hoffmann - Estudo das espécies ocorrentes no Brasil.** Rodriguésia, volume 28, p. 1-273, 1976.
- BASKIN, T. I. **Anisotropic Expansion of the plant cell wall.** Annual Review of Cell and Developmental Biology. Volume 21, p. 203 – 222, 2005.
- BECK, C. B. **Meristems of the shoot and their role in plant growth and development. In: An introduction to plant structure and development.** Cambridge: Cambridge University Press, capítulo 5, p. 81-103, 2005.
- BEEMSTER, G. T. S.; DE VEYLDER, L.; VERCRUYSSSE, S.; WEST, G.; ROMBAUT, D.; VAN HUMMELEN, P.; GALICHET, A.; GRUISSEM, W.; INZÉ, D.; VUYLSTEKE, M. **Genome-Wide Analysis of Gene Expression Profiles Associated with Cell Cycle Transitions in Growing Organs of Arabidopsis.** Plant Physiology, volume 138 (2), p. 734–743, 2005.
- BEN AMAR, A.; P. COBANOV, P.; GHORBEL, A.; MLIKI, A.; REUSTLE, G. M. **Involvement of arabinogalactan proteins in the control of cell proliferation of Cucurbita pepo suspension cultures.** Biologia Plantarum, volume 54 (2), p. 321-324, 2010.
- BENNING, S. H.; EHWALD, R.; WILLMITZER, L.; FISAHN, J. **Cell wall properties of transgenic tobacco plants that express a yeast derived acid invertase in their vacuole.** Progress in Biotechnology, p. 667 – 671, 1996.
- BETHKE, G.; GLAZEBROOK, J. **Measuring pectin properties to track cell wall alterations during plant–pathogen interactions.** Plant Innate Immunity, 55–60, 2019.

BILSKA-KOS, A.; SOLECKA, D.; DZIEWULSKA, A.; OCHODZKI, P.; JOŃCZYK, M.; BILSKI, H.; SOWIŃSKI, P. **Low temperature caused modifications in the arrangement of cell wall pectins due to changes of osmotic potential of cells of maize leaves (*Zea mays* L.)**. *Protoplasma*, volume 254, p. 713–724, 2017.

BORGES, R. A. X.; FORZZA, R. C. **A tribo Astereae (Asteraceae) no parque estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil**. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, Department of Botany at Universidade de São Paulo*, volume 26 (2), p. 131-154, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais Climatológicas: 1961-1990**. Brasília, 1992. 84 p.

BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls**. 2ª edição, Cambridge – Great Britain: Chapman and Hall, 1996.

BREUNINGER H, LENHARD M. **Control of tissue and organ growth in plants. Plant Development**. Volume 91, p. 185–220, 2010.

BUDEL, J. M.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M.; FARAGO, P. V. **Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC. Asteraceae**. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, volume 23 (4), p. 477-83, 2004.

CAFFALL, K. H.; MOHNEN, D. **The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides**. *Carbohydrate Research*, volume 344(14), p. 1879–1900, 2009.

CETIN, M.; SEVIK, H.; YIGIT, H. **Climate type-related changes in the leaf micromorphological characters of certain landscape plants**. *Environmental Monitoring and Assessment*, volume 190(7), 2018.

CHAN, S. Y.; CHOOA, W. S.; YOUNGA, D. J.; LOH, X. J. **Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology**. *Carbohydrate Polymers*, volume 161, p. 118–139, 2017.

CHEBLI, Y.; GEITMANN, A. **Cellular growth in plants requires regulation of cell wall biochemistry**. *Current Opinion in Cell Biology*, volume 44, p. 28–35, 2017.

CLAUSEN, M. H.; WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P. **Synthetic methyl hexagalacturonate haptens inhibitors of anti-homogalacturonan monoclonal antibodies LM7, JIM5 and JIM7**. *Carbohydrate Research*, volume 338, p. 1797–1800, 2003.

COLLI-SILVA, M.; VASCONCELOS, T. N. C.; PIRANI, J. R. **Outstanding plant endemism levels strongly support the recognition of campo rupestre provinces in mountaintops of eastern South America**. *Journal of Biogeography*, 2019.

COSGROVE, D. J. **Relaxation in a high-stress environment: The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement.** *Plant Cell*, volume 9, p. 1031–1041, 1997.

COSGROVE, D. J. **Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility.** *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, volume 50, p. 391–417, 1999.

COSGROVE, D. J. **Growth of the plant cell wall.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, volume 6(11), p. 850–861, 2005.

CUTSEM, P. V.; MESSIAEN, J. **Cell wall pectins: from immunochemical characterization to biological activity.** Elsevier Science, p. 135 -149, 1996.

DA SILVA, E. M. S.; HAYASHI, A. H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. **Anatomy of vegetative organs in *Aldama tenuifolia* and *A. kunthiana* (Asteraceae: Heliantheae).** *Brazilian Journal of Botany*, volume 37(4), p. 505–517, 2014.

DALANESI, P. E.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. **Flora e estrutura do componente arbóreo da floresta do Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito, Lavras, MG, e correlações entre a distribuição das espécies e variáveis ambientais.** *Acta Botânica Brasilica*, volume 18(4), p. 737-757, 2004.

EMPINOTTI, C. B.; DUARTE, M. R. **Estudo anatômico de folha e caule de *Elephantopus mollis* Kunth (Asteraceae).** *Revista Brasileira de farmacognosia. João Pessoa*, volume 18(1), p. 108-116, 2008.

ENGELSDORF, T.; WILL, C.; HOFMANN, J.; SCHMITT, C.; MERRITT, B. B.; RIEGER, L.; FRENGER, M. F.; MARSCHALL, A.; FRANKE, R. B.; PATTATHIL, S.; VOLL, L. M. **Cell wall composition and penetration resistance against the fungal pathogen *Colletotrichum higginsianum* are affected by impaired starch turnover in *Arabidopsis* mutants.** *Journal of Experimental Botany*, erw434, 2016.

EVERT, R. F. **Esau's plant anatomy. Meristems, cells and tissues of the plant body – their structure function and development.** Wiley- Interscience: New Jersey, 2006.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau: Meristemas, células e tecidos do corpo da planta – sua estrutura, função e desenvolvimento.** Blucher, 2013.

FAHN, A. **Anatomia Vegetal.** 3ª ed. Madrid-Espanha: Ediciones Pirámide S. A. 1985.

FILARTIGA, A. L.; BOMBO, A. B.; GARCIA, V. L.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. **Leaf and stem anatomy and essential oil composition of four Brazilian *Aldama* species (Asteraceae) and their taxonomic significance.** *Brazilian Journal of Botany*, volume 40(2), p. 503–516, 2016.

- FORMIGA, A. T.; SILVEIRA, F. A. O.; FERNANDES, G. W.; ISAIAS, R. M. S. **Phenotypic plasticity and similarity among gall morphotypes on a superhost, *Baccharis reticularia* (Asteraceae).** *Plant Biology*, volume 17(2), p. 512–521, 2014.
- GALMES, J.; FLEXAS, J.; SAVE, H. & MEDRANO, H. **Water relation and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery.** *Plant Soil*, volume 290, p. 139–155, 2007.
- GAO, T.; HUI, Y.; JINGYUAN, S.; YINGJIE, Z.; CHANG, L.; SHILIN, C. **Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family.** *Evolutionary Biology*, volume 10 (324), 2010.
- GIULIANO, D. A. **New Infragenera in *Baccharis* (Asteraceae, Astereae).** *Novon*, volume, 15(4), p. 534-541, 2005.
- GIVNISH, T. J. **Adaptations to sun shade: a whole-plant perspective.** *Australian Journal of Plant Physiology*, volume 15, p. 63-92, 1988.
- GONZALEZ, N., VANHAEREN, H.; INZÉ, D. **Leaf size control: complex coordination of cell division and expansion.** *Trends in Plant Science*, volume 17(6), p. 332–340, 2012.
- GUILLON, F.; MOÏSE, A. QUEMENER, B.; BOUCHET, B.; DEVAUX, M. F.; ALVARADO, C.; LAHAYE, M. **Remodeling of pectin and hemicelluloses in tomato pericarp during fruit growth.** *Plant Science*. Volume 257, p. 48–62, 2017.
- HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N. **A família Asteraceae na estação de pesquisa e desenvolvimento ambiental Galheiro, Perdizes, Minas Gerais, Brasil.** *Rodriguésia*, 2008, volume 59(4), p. 687-749, 2008.
- HONGO, S.; SATO, K.; YOKOYAMA, R.; NISHITANI, K. **Demethylesterification of the Primary Wall by PECTIN METHYLESTERASE35 Provides Mechanical Support to the Arabidopsis Stem.** *Plant Cell*, p. 1-11, 2012.
- HUSBANDS, A. Y.; CHITWOOD, D. H.; PLAVSKIN, Y.; TIMMERMANS, M. C. P. **Signals and prepatterns: new insights into organ polarity in plants.** *Genes & Development*, volume 23, p. 1986–1997, 2009.
- IRIBE, A. S.; BUEN, A. G. **Importancia de las pectinas en la dinámica de la pared celular durante el desarrollo vegetal.** *Revista Educación Bioquímica*, volume 32(2), p. 67-75, 2013.
- JARDIM, R. I. L.; SILVA, M. M.; JÚNIOR, J. C. F. M. **Efeito do Gradiente de Luminosidade sobre Respostas Estruturais de *Hyeronima alchorneoides* (Phyllanthaceae) em Ambiente Florestal.** *Revista Brasileira de Geografia Física*. Volume 11 (03), p. 913-923, 2018.

JIA, H.; WANG, X.; WEI, T.; ZHOU, R.; MUHAMMAD, H.; HUA, L.; REN, X.; GUO, J.; DING, Y. **Accumulation and fixation of Cd by tomato cell wall pectin under Cd stress.** *Environmental and Experimental Botany*, 103829, 2019.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill Book, 1940.

JOLIE, R. P.; DUVETTER, T.; LOEY, A. M. V.; HENDRICKX, M. E. **Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review.** *Carbohydrate Research*, volume 345, p. 2583–2595, 2010.

JONES, L.; SEYMOUR G. B.; KNOX, J. P. **Localization of pectic galactan in tomato cell walls using amonoclonal antibody specific to (1→4) β-d galactan.** *Plant Physiology*, volume 113, p. 1405 – 1412, 1997.

KALVE, S.; DE VOS, D.; FOTSCHKI, J.; BEEKMAN, T.; VISSENBERG, K.; BEEMSTER, G. T. S. **Three-dimensional patterns of cell division and expansion throughout the development of *Arabidopsis thaliana* leaves.** *Journal of Experimental Botany*, Volume 65(22), p. 6385–6397, 2014.

KARNOVSKY, M.J. **A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy.** *The Journal of Cell Biology* volume 27, p. 137–138, 1965.

KNOX, J. P. **The use of antibodies to study the architecture and developmental regulation of plant cell walls.** *International Review of Cytology*, volume 171, p.79-120, 1997.

KRISHNAMURTHY, K. V.; BAHADUR, B.; ADAMS, S. J., VENKATASUBRAMANIAN, P. **Origin, Development and Differentiation of Leaves. Plant Biology and Biotechnology.** India: Springer India, capítulo 5, p. 153-175, 2015.

LACERDA, C. F.; VIEIRA, M. R.; CARVALHO, C. M.; NOBRE, J. G. A.; NEVES, A. L. R.; RODRIGUES, C. F. **Análise de crescimento de milho e feijão sob diferentes condições de sombreamento.** *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. Volume 5 (1), p.18-24, 2010.

LE STRADIC, S.; HERNANDEZ, P.; FERNANDES, G. W.; BUISSON, E. **Regeneration after fire in campo rupestre: Short- and long-term vegetation dynamics.** *Flora*, volume 238, p. 191–200, 2018.

LEROUXEL, O.; CAVALIER, D. M.; LIEPMAN, A. H.; KEEGSTRA, K. **Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides — a complex process.** *Science Direct*, volume 9, p. 621–630, 2006.

LERSTEN, N. L.; CZLAPINSKI, A. R.; CURTIS, J. D.; FRECKMANN, R.; HORNER, H. T. **Oil bodies in leaf mesophyll cells of angiosperms: overview and a selected survey.** *American Journal of Botany*, volume 93(12), p 1731–1739, 2006.

LESZCZUK, A.; CHYLIŃSKA, M.; ZIĘBA, E.; SKRZYPEK, T.; SZCZUKA, E.; ZDUNEK, A. **Structural network of arabinogalactan proteins (AGPs) and pectins in apple fruit during ripening and senescence processes.** Plant Science, volume 275, p. 36–48, 2018.

LIMA JR., E. C.; A. A. ALVARENGA; E. M. CASTRO; C. V. VIEIRA; J. P. R. A. D. BARBOSA. **Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento.** Revista Árvore, volume 30(1), p. 33-41, 2006.

LIU, Z.; ZHU, Y.; LI, F.; JIN, G. **Non-destructively predicting leaf area, leaf mass and specific leaf area based on a linear mixed-effect model for broadleaf species.** Ecological Indicators, volume 78, p. 340–350, 2017.

LOAYZA, I.; ABUJDER, D.; ARANDA, R.; JAKUPOVIC, J.; GUY COLLIN, G.; DESLAURIERS, H.; JEAND, F. **Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *B. Latifolia* and *B. Dracunculifolia*.** Phytochemistry, Volume 38 (2), p. 381-389, 1995.

LOPES, A.S.; GUIMARÃES G. L.R. **Chapter One - A Career Perspective on Soil Management in the Cerrado Region of Brazil.**Advances in Agronomy. Volume 137, p. 1-72, 2016.

MAGALHÃES, T. A.; OLIVEIRA, D. C.; SUZUKI, A. Y. M.; ISAIAS, R. M. S. **Patterns of cell elongation in the determination of the final shape in galls of *Bachharopelma dracunculifoliae* (Psillidae) on *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae).** Protoplasma, volume 251, p. 747 – 753, 2014.

MAKAROVA, E. N.; SHAKHMATOV, E. G.; BELYY, V. A. (2018). **Structural studies of water-extractable pectic polysaccharides and arabinogalactan proteins from *Picea abies* greenery.** Carbohydrate Polymers, volume 195, p. 207–217.

MARTINS, L. R. R.; MOURÃO, K. S. M.; ALBIERO, A. L. M.; DIÓGENES A. GARCIA CORTEZ, D. A. G.; DIAS-FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V. **Estudo morfoanatômico preliminar do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae).** João Pessoa: Revista Brasileira Farmacognosia, volume 16 (1), p. 42-52, 2006.

MCCARTNEY, L.; KNOX, J. P. **Regulation of pectic polysaccharide domains in relation to cell development and cell properties in the pea testa.** Journal of Experimental Botany, volume 53, p. 707–713, 2002.

MCCARTNEY, L.; STEELE-KING, C. G.; JORDAN, E.; KNOX, J. P. (2003). **Cell wall pectic (1 → 4) - β -d-galactan marks the acceleration of cell elongation in the *Arabidopsis* seedling root meristema.** Plant Journal, volume 33, p. 447–454, 2013.

- MELO JÚNIOR, J. C. F.; BOEGER, M. R. T.; VIEIRA, W.; MATILDE-SILVA, M. **Leaf morphological variability between stages of growth of *Allophylus edulis* and *Cupania vernalis* (Sapindaceae) of araucaria forest.** Acta Biológica Catarinense, volume 5(2), p. 80-8, 2018.
- MILAN, P.; HAYASHI, A. H.; APEPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. **Comparative leaf morphology and anatomy of three Asteraceae species.** Brazilian Archives of Biology and Technology, volume 49, p. 135-144, 2006.
- MILEWSKA-HENDEL, A., BACZEWSKA, A. H., SALA, K., DMUCHOWSKI, W., BRĄGOSZEWSKA, P., GOZDOWSKI, D., JOZWIAK, A.; CHOJNACKI, T.; SWIEZEWSKA, E.; KURCZYNSKA, E. **Quantitative and qualitative characteristics of cell wall components and prenyl lipids in the leaves of *Tilia x euchlora* trees growing under salt stress.** PLOS ONE, volume 12(2), e0172682, 2017.
- MOHNEN, D. **Pectin structure and biosynthesis.** Current Opinion in Plant Biology, volume 11, p. 266–277, 2008.
- MOORE, J. P.; FARRANT, J. M.; DRIOUICH, A. **A role for pectin-associated arabinans in maintaining the flexibility of the plant cell wall during water deficit stress.** Plant Signaling & Behavior, volume 3(2), p. 102–104, 2008.
- MORAIS, V. A.; FERREIRA, G. W. D.; DE MELLO, J. M.; SILVA, C. A.; DE MELLO, C. R., ARAÚJO, E. J. G.; HASSAN, C. D.; DA SILVA, A. C.; SCOLFORO, J. R. S. **Spatial distribution of soil carbon stocks in the Cerrado biome of Minas Gerais, Brazil.** CATENA, volume 185, 104285, 2020.
- MOREIRA, C. P. S.; OLIVEIRA, D. M.; SANTOS, C. N.; ZANI, C. L.; ALVES, T. M. A. **Platypodiol a novel clerodane diterpene from *Baccharis platypoda*.** Tetrahedron Letters, 2014. 10 p. 2014.
- MORELLATO, L. P. C.; SILVEIRA, F. A. O. **Plant life in campo rupestre: New lessons from an ancient biodiversity hotspot.** Flora, volume 238, p. 1–10, 2018.
- MOTT, K. A.; GIBSON, A. C.; O'LEARY, J. E. **The adaptative significance of amphistomatic leaves.** Plant Cell and Environment, volume 5(6), p. 455-460, 1982.
- NAQASH, F.; MASOODI, F. A.; RATHER, S. A.; S.M. WANI, S. M.; GANI, A. **Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin—A Review.** Carbohydrate Polymers, p. 227–239, 2017.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. **Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue.** Protoplasma, volume 59, p. 368-73, 1995.
- OBROUCHEVA, N.V. **Cell elongation as an inseparable component of growth interrestrial plants.** Russian Journal of Developmental Biology, volume 39, p. 13-24, 2008.

- OLIVEIRA, V. C.; BASTOS, E. M. **Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* dc. (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis.** Acta Botânica Brasílica, volume 12(3), p. 431-439, 1999.
- OLIVEIRA, D. C.; MAGALHÃES, T. A.; FERREIRA, B. G.; TEIXEIRA, C. T.; FORMIGA, A. T.; FERNANDES, G. W.; ISAIAS, R. M.S. **Variation in the degree of pectin methylesterification during the development of *Baccharis dracunculifolia* kidney-shaped gall.** PLoS One, volume 9, e94588, 2014.
- ORNELLAS, T; HEIDEN, T; LUNA, B. N.; BARROS, C. F. **Comparative leaf anatomy of *Baccharis* (Asteraceae) from high-altitude grasslands in Brazil: taxonomic and ecological implications.** NRC Research Press. Botany, volume 97, p. 615–626, 2019.
- PAIVA, J. G. A.; FANK-DE-CARVALHO; S. M.; MAGALHÃES; M. P.; GRACIANO-RIBEIRO, D. **Verniz vitral incolor 500â: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável.** Acta Botânica Brasílica, volume 20(2), p. 257-264, 2006.
- PEARCE, D.W.; MILLARD, S.; BRAY, D.F.; ROOD, S.R. (2006). **Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment.** Tree Physiology, volume 26, p. 211-218, 2006.
- PELLOUX, J.; RUSTERÚCCI, C.; MELLEROWICZ, E. J. **New insights intopectin methyl-esterase structure and function.** Science Direct, p. 267-277, 2007.
- PÉREZ-PÉREZ, Y.; CARNEROS, E.; BERENQUER, E.; SOLÍS, M. T.; BÁRÁNY, I., PINTOS, B.; GÓMEZ-GARAY, A.; RISUEÑO, M. C.; TESTILLANO, P. S. **Pectin demethylesterification and AGP increase promote cell wall remodeling and are required during somatic embryogenesis of *Quercus suber*.** Frontiers in Plant Science, volume 9, p. 1-17, 2019.
- PIHAKASKI, K.; PIHAKASKI, S.; KARUNEN, P.; AND KALLIO, P. **Seasonal changes in leaf lipids of *Diapensia lapponica*, with special reference to storage lipid bodies.** Nordic Journal of Botany, volume 7(3), p. 281–292, 1987.
- REEM, N. T.; CHAMBERS, R.; ZHANG, N.; ABDULLAH, S. F.; CHEN, Y.; FENG, G.; GAO, S.; SOTO-BURGOS, J.; PAGORELKO, G.; BASSHAM, D. C.; ANDERSON, C. T.; WALLEY, J. W.; ZABOTINA, O. A. **Post-synthetic reduction of pectin methylesterification causes morphological abnormalities and alterations to stress response in *Arabidopsis thaliana*.** Plants, volume 9 (1558), 2020.
- RIDLEY, B.; O'NEIL M. A.; MOHNEN, D. **Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling.** Phytochemistry, volume 57, p. 929–967, 2001.
- RODRIGUEZ, R. E.; DEBERNARDI, J. M.; PALATNIK, J. F. **Morphogenesis of simple leaves: regulation of leaf size and shape.** WIREs Developmental Biology, volume 3, p. 41–57, 2014.

- ROLAND, J. C.; VIAN, B. **General preparation and staining of thin sections.** In: Hall JL, Hawes C (eds) *Electron microscopy of plant cells*. New York: Academic Press, p. 1-66, 1991.
- ROSS, J. L. S. **Geografia do Brasil.** 5ª edição, São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 2005.
- SALA, K.; POTOCKA, I.; KURCZYNSKA, E. **Spatio-temporal distribution and methylesterification of pectic epitopes provide evidence of developmental regulation of pectins during somatic embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*.** *Biology Plant*, volume 57, p. 410–6, 2013.
- SALA, K.; MALARZ, K.; BARLOW, P. W.; KURCZYŃSKA, E. U. **Distribution of some pectic and arabinogalactan protein epitopes during *Solanum lycopersicum* (L.) adventitious root development.** *BMC Plant Biology*, volume 17, 25 p. 2017.
- SANTOS, F. C.; NOVAK, E. **Plantas nativas do cerrado e possibilidade em fitorremediação.** *Ciências Ambientais*, Canoas, volume 7 (1), p. 68-77, 2013.
- SANTOS, R. F. ISOBE, M. T. C.; LALLA, J. G.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; MING, L. C. **Composição química e produtividade dos principais componentes do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica.** *Revista brasileira de plantas medicinais*, volume 14, p. 224-234, 2012.
- SEYMOUR, G. B.; KNOX, J. B. **Pectins and Their Manipulation.** 1ª edição, Canada: CRC Press, 2002.
- SFORCIN, J. M.; SOUSA, J. P. B.; FILHO, A. A. S.; BASTOS, J. K.; BÚFALO, M. C.; TONUSSI, L. R. S. ***Baccharis dracunculifolia*: uma das fontes vegetais da própolis brasileira.** São Paulo: Editora UNESP, 103 p. 2012.
- SHIMADA, T.L., TAKANO, Y., SHIMADA, T., FUJIWARA, M., FUKAO, Y., MORI, M.; OKAZAKI, Y.; SAITO, K.; SASAKI, R.; AOKI, K.; HARA-NISHIMURA, I. **Leaf oil body functions as a subcellular factory for the production of a phytoalexin in *Arabidopsis*.** *Plant Physiology*, volume 164(1), p. 105–118, 2014.
- SILVA, J. F.; FARINAS, M. R.; FELFILI, J. M.; KLINK, C. A. **Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil.** *Journal of Biogeography*, volume 33(3), p. 536–548, 2006.
- SILVA, K. R.; OLIVEIRA, D. C. **Leaf ontogenesis in *Lavoisiera mucorifera* MART. & SCHRANK EX DC. (Melastomataceae).** *Uberlândia: Bioscience Journal*, volume 30 (4), p. 1241-1251, 2014.
- SILVA, R. K.; KUSTER, V. C; SILVA, A. F. M.; OLIVEIRA, D. C. **Remodeling the cell wall composition during leaf development in *Lavoisiera mucurifera* (Melastomataceae).** *Australian Journal of Botany*, 2019.

STEEVES, T. A.; SUSSEX, I. M. **Patterns in plant development**. Cambridge: University Press, 388 p. 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Atmed, 719 p. 2004

TOWNSLEY, B. T.; SINHA, N. R. **A new development: evolving concepts in leaf ontogeny**. *The Annual Review of Plant Biology*, volume 63, p. 535-562, 2012.

TSUGE, T.; TSUKAYA, H.; UCHIMIYA, H. **Two independent and polarized processes of cell elongation regulate leaf blade expansion in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.** *Development* 1, volume 122 (5), p. 1589–1600, 1996.

TSUKAYA, H. **Mechanism of leaf-shape determination**. *Annual Review of Plant Biology*, volume 57, p. 477–496, 2006.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. **Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos**. *Química Nova* [online], volume 28 (1), p. 85-94, 2005.

VERHERTBRUGGEN, Y.; MARCUS, S. E.; HAEGER, A.; ORDAZ-ORTIZ, J. J. KNOX, J. P. **An extended set of monoclonal antibodies to pectichomogalacturonan**. *Carbohydrate Research*, volume 344, p. 1858–1862, 2009.

VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G. J.; VERHOEF, RP. **Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls**. *Structural Chemistry*, volume 20, p. 263–275, 2009.

WAGNER, G. J.; WANG, E.; SHEPHERD, R. W. **New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome**. *Annals of Botany*, volume 93(1), p. 3-11, 2004.

WILLATS, W. G. T.; MARCUS, S. E.; KNOX, J. P. **Generation of a monoclonal antibody specific to (1→5) - α -L-arabinan**. *Carbohydrate Research*, volume 308, p. 149–152, 1998.

WILLATS, W. G. A.; LIMBERG, G.; BUCHHOLT, H. C.; VANALEBEECK, G. J.; BENEN, J.; CHRISTENSEN, T. M. I. E.; VISSER, J.; VORAGEN, A.; MIKKELSEN, J. D.; KNOX, J. P. **Analysis of pectic epitopes recognised by hybridoma and phage display monoclonal antibodies using defines oligosaccharides, polysaccharides, and enzymatic degradation**. *Carbohydrate Research*, volume 327, p. 309-320, 2000.

WILLATS, W. G. T.; MCCARTNEY, L.; MACKIE, W.; KNOX, J. P. 2001. **Pectin cell biology and prospects for functional analysis**. *Plant Molecular Biology*, volume 47, p. 9-27, 2001.

WILLATS, W. G. T.; ORFILA, C.; LIMBERG, G.; BUCHHOLT, H. C.; VAN ALEBEEK, G. J. W. M.; VORAGEN, A. G. J.; MARCUS, S. E.; CHRISTENSEN T.; MIKKELSEN, J. D.; MURRAY, B. S.; KNOX, J. P. **Modulation of the degree and pattern of methylesterification of pectichomogalacturonan in plant cell walls. Implications for pectin methyl esterase action, matrix properties, and cell adhesion.** *Journal of Biological Chemistry*, volume 276, p. 19404–19413, 2001.

WOLF, S.; MOUILLE, G.; PELLOUX, J. **Homogalacturonan methylesterification and plant development.** *Molecular Plant*, volume 2, p. 851–860, 2009.

WOLF, S.; GREINER, S. **Growth control by cell wall pectins.** *Protoplasma*, volume 249, p. 169–175, 2012.

WU, H. C.; BULGAKOV, V. P.; JINN, T. L. **Pectin Methylesterases: Cell Wall Remodeling Proteins Are Required for Plant Response to Heat Stress.** *Frontiers in Plant Science*, volume 9, 2018.

WU, X.; RIAZ, M.; YAN, L.; DU, C.; LIU, Y.; JIANG, C. **Boron Deficiency in Trifoliate Orange Induces Changes in Pectin Composition and Architecture of Components in Root Cell Walls.** *Frontiers in Plant Science*, volume 8, 2017.

YAPO, B. M. **Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins—A new hypothetical model.** *Carbohydrate Polymers*, volume 86, p. 373–385, 2011.

ZAPPI, D. C.; MORO, M. F.; WALKER, B.; MEAGHER, T.; VIANA, P. L.; MOTA, N. F. O.; NIC LUGHADHA, E. **Plotting a future for Amazonian canga vegetation in a campo rupestre context.** *Plos One*, volume 14(8), e0219753, 2019.

ZHAO, F.; FEI DU, F.; OLIVERI, H.; ZHOU, L.; ALI, O.; CHEN, W.; FENG, S.; WANG, Q.; LÜ, S.; LONG, M.; SCHNEIDER, R.; SAMPATHKUMAR, A.; GODIN, C.; TRAAS, J.; JIAO, Y. **A microtubule-mediated mechanical feedback controls leaf blade development in three dimensions.** *Current biology*, volume 30, issue 20, p. 3972-3985.e6, 2020.