

JONATHAN HENRIQUE DA SILVA

**Anatomia, histoquímica e
compostos de reserva de espécies de *Dioscorea*
L. (Dioscoreaceae)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E
MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de
Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2017

JONATHAN HENRIQUE DA SILVA

**Anatomia, histoquímica e
compostos de reserva de espécies de *Dioscorea*
L. (Dioscoreaceae)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADORA: DRA. EDENISE SEGALA ALVES

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Silva, Jonathan Henrique

S586a Anatomia, histoquímica e compostos de reserva de espécies de *Dioscorea* L.

(Dioscoreaceae) / Jonathan Henrique da Silva -- São Paulo, 2017.

93 p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2017

Bibliografia.

1. Dioscoreaceae. 2. Anatomia do eixo vegetativo aéreo e subterrâneo. 3. Bioquímica.

I. Título

CDU: 582.572.7

À Profa. Dra. Mizue Kirizawa, com carinho dedico.

“Nothing in life is to be feared. It is only to be
understood.”

Marya Sklodowska Curie

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente por viabilizar a realização da presente dissertação, em especial, à coordenadora Dra. Célia Leite Sant'Anna e ao vice-coordenador Dr. Armando Reis Tavares, por todas as facilidades oferecidas.

À CAPES pela concessão da bolsa.

À Dra. Adriana Hissae Hayashi, Pesquisadora Científica do Núcleo de Pesquisa em Anatomia do Instituto de Botânica, pela orientação, dedicação, confiança, ética e, principalmente, por sempre transmitir conhecimento de forma segura e crítica que guiaram os meus passos na pesquisa. Sou grato também por ser uma figura sempre presente, disponível e disposta a ajudar, sendo minha referência profissional.

À Dra. Edenise Segala Alves, Pesquisadora Científica do Núcleo de Pesquisa em Anatomia do Instituto de Botânica, pelo apoio, compreensão, paciência e sempre me incentivar com uma atitude positiva inigualável.

Ao Dr. Edison Paulo Chu e Dra. Rita de Cássia Leone Figueiredo Ribeiro, Pesquisadores Científicos do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica, por toda a dedicação, empolgação, conhecimento, cuidado durante o desenvolvimento do estudo bioquímico dos compostos de reserva e pelas ideias sensacionais que me inspiraram a melhorar o meu trabalho.

À minha eterna e querida orientadora, Dra. Mizue Kirizawa, Pesquisadora Associada do Instituto de Botânica, especialista do gênero *Dioscorea*, que me despertou a curiosidade em conhecer o universo das *Dioscorea* e acreditou em meu potencial de uma forma a que eu não acreditava ser capaz de corresponder, por todo cuidado diário, conhecimento compartilhado e pelo livre acesso à sua biblioteca particular de inestimável valor científico. Não tenho palavras que descrevam minha felicidade e carinho pela senhora, professora!

Agradeço imensamente o cuidado e a ajuda prestados a mim pelos técnicos do laboratório do Núcleo de Pesquisa em Anatomia, Maria Manoel e Nilton de Jesus Ribeiro, por serem peças-chave no desenvolvimento desta dissertação.

À Dra. Poliana Cardoso-Gustavson (UFABC), a quem muito admiro, por sempre tornar cada conversa algo valioso e sempre me transmitir conhecimento. Sou muito grato por sempre esclarecer minhas dúvidas, sobretudo, pelas valiosas dicas durante o desenvolvimento de minha dissertação. Agradeço também por realizar a microscopia eletrônica de varredura de uma das espécies estudadas no presente trabalho.

Aos meus amigos do Núcleo de Pesquisa em Anatomia, em especial à doutoranda Francine Faia Fernandes, sou grato por tudo, menos pelos apuros em que me colocou! Obrigado por me acompanhar em uma de minhas coletas em Paranapiacaba, pelas discussões construtivas, por sua amizade sincera e ensinamentos transmitidos. Agradeço também à Dra. Agnes Elisete Luchi, Pesquisadora Científica do Núcleo de Pesquisa em Anatomia, pela companhia diária agradável.

Aos amigos do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, em especial, aos doutorandos Athos Poli Rigui e Emanuela de Oliveira Joaquim, pela disposição e responsabilidade que se prestaram ao auxiliar nas análises bioquímicas do projeto com admirável seriedade e comprometimento.

Ao SISBIO – Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade, pela concessão das licenças para coleta de material botânico e pesquisa em Unidades de Conservação Federais.

A todos os companheiros de viagens de coleta, em especial, ao Guilherme Marques de Medeiros, pelo indispensável auxílio ao acompanhar nossa expedição a campo. À Analista Ambiental Katyucha Von Kossel de Andrade Silva, por ter, com sua desenvoltura e competência, feito a viagem ao Parque Nacional da Tijuca (Setor Floresta da Tijuca) acontecer. À gestão do Parque Nacional da Tijuca, pela receptividade e pelo apoio institucional durante as coletas. Ao Dr. Ricardo Couto e mestrandia Fernanda Fraga por auxiliarem na localização e coleta de *D. ovata*, meu muito obrigado.

Ao Dr. Eduardo Pereira Cabral Gomes, Pesquisador Científico do Núcleo de Pesquisa Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba e Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, pela concessão da licença de coleta de material botânico na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba.

À Dra. Luciana Retz de Carvalho, Pesquisadora Associada do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia, pelo empréstimo do liofilizador, e ao químico Victor França, pelo cuidado durante o processamento de minhas amostras.

À Dra. Luciana Benjamim Benatti, Assistente Técnico de Pesquisa Científica do Instituto de Botânica, pela atenção, cuidado e apoio no processamento das amostras para as análises ultraestruturais ao microscópio eletrônico de varredura.

À Dra. Rosângela Simão Bianchini, Pesquisadora Científica do Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário SP, pelo empréstimo da lupa com captura de imagem, e a doutoranda Fernanda Satori Petrongari pelo auxílio na captura das imagens e pela disposição em ajudar quando foi necessário.

À professora Dra. Vera Fátima Gomes Alves Pereira Lima, por ceder artigos de suma importância para meus estudos e desenvolvimento da dissertação, sobretudo, por ser sempre muito doce e gentil comigo durante a graduação. A senhora foi a responsável pela minha empolgação e fascínio inicial pela anatomia vegetal. Obrigado.

À professora Dra. Amélia Vera Guimarães, por sua excelente didática e paciência emérita em tirar todas as minhas dúvidas, inclusive durante os horários de almoço.

Aos funcionários da Biblioteca, pelo eficiente auxílio quando necessário.

Aos meus amigos e companheiros da Pós-Graduação, em especial: Andrea Nunes, Beleta Lima, Cibelle Françoso, Débora Pinheiro, Dimas Marchi, Giovanna Boccuzzi, Giselle Pedrosa, Marcela Silva, Michele Silva, Vanessa Palermo, Vitor Almeida, Zedenil Rodrigues, que por vezes estiveram ao meu lado e sempre me auxiliaram de alguma forma.

Aos meus amados e fiéis amigos Lia Barbuglio e Lucas Marques. Considero-me afortunado pela amizade e cumplicidade de vocês. Sou grato por cada cuidado diário, cada risada, pela paciência com minha personalidade forte e por serem figuras sempre presentes.

Aos meus pais, Almir e Cristiane, agradeço todo o suporte, tanto emocional quanto financeiro, sem o qual eu não teria alcançado os meus objetivos. Acredito que boa parte, quiçá a totalidade, do que somos, deve-se aos exemplos que tivemos em nossas vidas, e eu tive os melhores. Obrigado por serem minha referência em integridade, determinação, amor e família. Amo-vos imensamente.

À todas as pessoas que de alguma forma possibilitaram a realização desta etapa e que, porventura, não foram citadas, mas que com carinho serão sempre lembradas.

A todos, muito obrigado.

RESUMO

Dioscoreaceae é a família mais representativa da ordem Dioscoreales e caracteriza-se por possuir hábito trepador, folhas com venação secundária reticulada, pecíolos com pulvinos basais e apicais e sistemas subterrâneos espessados. *Dioscorea* é o maior e mais diverso gênero da família, representado por mais de 600 espécies no mundo. No Brasil ocorrem 141 espécies, várias delas com problemas taxonômicos que dificultam a delimitação específica. São escassos os estudos morfológicos e estruturais que forneçam caracteres capazes de elucidar a posição taxonômica das espécies nativas deste gênero. A importância econômica de *Dioscorea* baseia-se no consumo dos órgãos subterrâneos espessados, sendo algumas espécies utilizadas como fonte alimentícia devido aos altos teores de amido. Outras são fontes de substâncias com importância farmacológica e medicinal, sendo utilizadas de maneira vasta como hormônios sintéticos, antiinflamatórios e até como contraceptivos orais. Pedralli (2004) sinonimizou 13 táxons em *D. ovata*; contudo, trabalhos posteriores discordaram disso e ressaltam a necessidade de estudos que reavaliem esta sinonimização. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar os órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos de *Dioscorea delicata* R. Knuth, *D. tauriglossum* R. Knuth e *D. ovata* Vell. a fim de levantar caracteres diagnósticos para auxiliar na delimitação dessas espécies sinonimizadas por Pedralli (2004). Paralelamente, este trabalho também objetivou quantificar e analisar comparativamente os compostos de reserva dos órgãos subterrâneos espessado para subsidiar estudos sobre o potencial alimentício dessas três espécies nativas. Para tanto, utilizaram-se técnicas usuais de microscopia de luz e eletrônica de varredura para estudo estrutural dos órgãos vegetativos (raiz, órgão subterrâneo espessado, caule e folha), a diafanização das folhas para o estudo da venação, além da realização de análises bioquímicas como a extração e quantificação de carboidratos solúveis, insolúveis e proteínas solúveis de acordo com metodologias específicas dos órgãos subterrâneos espessados. Para a separação das espécies, foram encontrados caracteres relevantes na folha (constituição tecidual da lâmina foliar, ornamentação da cutícula,

esclerificação do parênquima interfascicular do pecíolo), no caule (forma, ornamentação cuticular e tricomas), nas raízes (idioblastos fenólicos e periciclo com diferentes estratificações) e nos sistemas subterrâneos espessados (idioblastos rafídicos e raios parenquimáticos). Portanto, essas diferenças estruturais encontradas em todos os órgãos das plantas mostram que *D. delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata* não constituem um mesmo táxon, e sim, três táxons diferentes. Em relação às análises bioquímicas, as quantidades significativas de amido nos sistemas subterrâneos de *D. delicata* evidenciaram o potencial alimentício dessa espécie nativa.

Palavras-chave: carás, carboidratos, órgãos vegetativos, taxonomia

ABSTRACT

Dioscoreaceae is the most representative family of the Dioscoreales order and is characterized by a climbing habit, leaves with reticulated secondary venation, petioles with basal and apical pulvinus, and thickened underground systems. *Dioscorea* is the largest and most diverse genus, represented by more than 600 species in the world. Occur 141 species in Brazil, many of them with taxonomic problems that difficult the specific delimitation. There are few morphological and structural studies that provide characters capable of elucidating the taxonomic position of the genus native species. The *Dioscorea* economic importance is based on the consumption of the thickened underground organs, being some of them used as food source due to the high starch contents. Others are sources of substances with pharmacological and medicinal importance, being widely used as synthetic hormones, anti-inflammatories and even as oral contraceptives. Pedralli (2004) synonymized 13 taxa in *D. ovata*; however, later works disagreed with this and emphasized the need for studies that reevaluate this synonymization. Therefore, the aim of the present work was to characterize the vegetative aerial and subterranean organs of *Dioscorea delicata* R. Knuth, *D. tauriglossum* R. Knuth and *D. ovata* Vell. in order to raise diagnostic characters to help in the delimitation of these species by Pedralli (2004). In parallel, this work also aimed to quantify and comparatively analyze the reserve compounds of thickened underground organs to support studies on the food potential of these three native species. In order to do so, we used the usual techniques of light microscopy and scanning electron microscopy for structural study of the vegetative organs (root, thickened underground organ, stem and leaf), the leaves diaphanization for the venation study, besides the biochemical analysis as the extraction and quantification of soluble carbohydrates, insoluble and soluble proteins according to specific methodologies of the thickened underground system. For species delimitation, relevant characters were found in the leaf (leaf blade tissue constitution, cuticle ornamentation and the petiole interphasicular parenchyma sclerification), in the stem (shape, cuticular ornamentation and trichomes), in the roots (phenolic idioblasts and pericycle with different stratifications) and thickened underground systems

(raphydic idioblasts and parenchyma rays). Therefore, these structural differences found in all organs of plants show that *D. delicata*, *D. tauriglossum* and *D. ovata* do not constitute the same taxon, but three different taxa. In relation to the biochemical analyzes, the significant amounts of starch in the underground systems of *D. delicata* evidenced the food potential of this native species.

Key words: carás, carbohydrates, taxonomy, vegetative organs

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A-C. Folhas diafanizadas de *Dioscorea delicata* (A-D), *D. tauriglossum* (E-H) e *D. ovata* (I-L). A, E, I. Aspecto geral. B, F, J. Ápice. C, G, K. Bordo. D, H, L. Base. NL: Nervura lateral; NLS: Nervura lateral submarginal; NM: Nervura mediana; V: Vênula; 2: Nervura de segunda ordem; 3: Nervura de terceira ordem; 4: Nervura de quarta ordem; Elipse: Aréola. Barras = 1 mm.

Figura 2. Vista geral dos órgãos vegetativos aéreos de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*, respectivamente. Face adaxial (D, F, H) e abaxial (E, G, I) das folhas de *D. delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*, respectivamente. Barras = 1cm.

Figura 3. Eletromicrografias (A, B, E, F, H, I) e seções transversais (C, D, G, J) da região entre nervura mediana e bordo de *Dioscorea delicata* (A-D), *D. tauriglossum* (E-G) e *D. ovata* (H-J). A, E, H. Face adaxial. B, F, I. Face abaxial. D. Tricoma glandular com mucilagem evidenciada pelo vermelho de rutênio E: estômato; EC: estrias cuticulares; EP: epiderme; IF: idioblasto fenólico; IR: idioblasto rafídico; PC: parênquima clorofiliano; TG: tricoma glandular; cabeça de seta: feixe vascular. Barras: A e F = 100 µm; B = 20 µm; C, E, G e J = 50 µm; D = 25 µm; H = 400 µm; I = 300 µm.

Figura 4. Eletromicrografias da superfície do bordo foliar de *Dioscorea delicata* (A-C), *D. tauriglossum* (D-G) e *D. ovata* (H-J). A, D, E, H, I. Face adaxial. B, C, F, G, J. Face abaxial. E: estômato; NL: nervura lateral; NLS: nervura lateral submarginal, REN: região entre nervuras; TG: tricoma glandular. Barras: A, D e F = 200 µm; B e H = 100 µm; C e E = 20 µm; G = 50 µm; I = 400 µm; J = 500 µm.

Figura 5. Seções transversais da região do bordo foliar de *Dioscorea delicata* (A), *D. tauriglossum* (B-D) e *D. ovata* (E e F). C. Idioblasto contendo polissacarídeos neutros evidenciados pelo PAS (asterisco). D. Idioblasto rafídico portando substância mucilagínosa evidenciada pelo vermelho de rutênio. F. Idioblastos fenólicos evidenciados pelo cloreto férrico. E: estômato; EP: epiderme; IF: idioblasto fenólico; IR: idioblasto rafídico; PC: parênquima clorofiliano; PL: parênquima lacunoso; cabeça de seta: feixe vascular. Barras = 50 µm.

Figura 6. Eletromicrografias das nervuras medianas de *Dioscorea delicata* (A-C), *D. tauriglossum* (D-F) e *D. ovata* (G-I). A, D, G. Face adaxial. B, E, H. Face abaxial. E: estômato; TG: tricoma glandular. Barras: A, E e G = 200 µm; B, C, D e F = 100 µm; H = 20 µm; I = 500 µm; J e L = 300 µm; K = 1 mm.

Figura 7. Seções transversais da nervura mediana de *Dioscorea delicata* (A, B), *D. tauriglossum* (C, D, H) e *D. ovata* (E-G). G. Idioblastos fenólicos evidenciados pelo cloreto férrico. H. Cutícula estriada evidenciada pelo Sudan IV. CE: cutícula estriada; CO: colênquima; EP: epiderme; F: floema; IF: idioblasto fenólico; PC: parênquima clorofiliano; X: xilema. Barras: A, C e E = 100 µm; B, D e F = 50 µm; G = 25 µm; H = 10 µm.

Figura 8. Seções transversais (A, C, D, G, I, J, K, M) e eletromicrografias (B, E, F, H, L) do pecíolo de *Dioscorea delicata* (A-F), *D. tauriglossum* (G-J) e *D. ovata* (K-M). D. Idioblastos fenólicos evidenciados pelo cloreto férrico. C: córtex; CE: calota esclerenquimática; CO: colênquima; E: estômato; EP: epiderme; F: floema; IF: idioblasto fenólico; IR: idioblasto rafídico; M: medula; PC: parênquima clorofiliano; PI: parênquima interfascicular; TG: tricoma glandular; X: xilema; Cabeça de seta: feixe vascular. Barras: A, D, E, G, I, J, L e M = 100 µm; B = 25 µm; C, F, H e K = 50 µm.

Figura 9. Eletromicrografias do caule entre o quarto e o quinto nó de *Dioscorea delicata* (**A, B**), *D. tauriglossum* (**C, D**) e *D. ovata* (**E-H**). **A e B.** Tricomas tectores de base larga ordenados em fileiras no sentido do maior eixo do órgão. **D.** Deposição da cutícula em forma de estrias e grânulos formando faixas intercaladas. Barras: A e C = 500 μm ; B, D e H = 200 μm ; E = 1 mm; F = 300 μm ; G = 50 μm .

Figura 10. Seções transversais do caule entre o quarto e o quinto nó de *Dioscorea delicata* (**A-C**), *D. tauriglossum* (**D, E**) e *D. ovata* (**F, G**). **C.** Canal secretor (CS) contendo mucilagem evidenciado pelo vermelho de rutênio. C: córtex; CO: colênquima; EN: endoderme; EP: epiderme; F: floema; M: medula; X: xilema; PC: parênquima clorofiliano; PL: periciclo lignificado; Elipse amarela: feixe maior; Círculo vermelho: feixe menor. Barras: A, D e F = 100 μm ; B, E e G = 50 μm ; C = 25 μm .

Figura 11. Seções transversais do caule próximo ao solo de *D. delicata* (**A, B**), *D. tauriglossum* (**C**) e *D. ovata* (**D, E, F**). **B.** Cutícula estriada mostrando reação positiva ao Sudan IV. **D.** Idioblastos fenólicos evidenciados pelo cloreto férrico. C: córtex; CE: cutícula estriada; CO: colênquima; CS: canal secretor; EN: endoderme; EP: epiderme; F: floema; IF: idioblasto fenólico; M: medula; X: xilema; PC: parênquima clorofiliano; PL: periciclo lignificado; Elipse amarela: feixe maior; Círculo vermelho: feixe menor. Barras: A, C e E = 100 μm ; B = 25 μm ; D e F = 50 μm .

Figura 12. **A-C.** Vista geral do rizóforo de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*, respectivamente. Seções transversais (**D-H, J**) e eletromicrografia (**I**) do rizóforo de *D. delicata* (**D, H, I, J**), *D. tauriglossum* (**G**) e *D. ovata* (**E, F**). **F.** Súber estratificado mostrando reação positiva com o cloreto férrico. **H.** Grãos de amido mostrando reação positiva com o lugol. C:

córtex; G: gema; MES: meristema de espessamento secundário; RP: raios parenquimáticos; SE: súber estratificado; Cabeça de seta: feixe vascular. Barras: A = 10 cm; B e C = 1 cm; D, E, G e H = 100 µm; F = 200 µm; I = 400 µm; H e J = 50 µm.

Figura 13. Seções transversais das raízes claras (**A, B, C, F**) e escuras (**D, E**) de *Dioscorea delicata* (**A**), *D. tauriglossum* (**B, D, E**) e *D. ovata* (**C, F**). **F.** Camada parenquimática com parede espessada adjacente à endoderme mostrando reação positiva ao cloreto férrico. C: córtex; EN: endoderme; EP: epiderme; F: floema; IF: idioblasto fenólico; M: medula; P: periciclo; PR: pelo radicular; X: xilema. Barras: A, B e C = 100 µm; D e E = 50 µm; F = 25 µm.

Figura 14. Aspecto geral da secção longitudinal dos rizóforos de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*, respectivamente. Barras = 1cm.

Figura 15. Perfil cromatográfico por HPAEC/PAD de carboidratos solúveis totais dos rizóforos de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*. F: fructose; G: glucose; P: pentoses; S: sacarose.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Corantes e reagentes específicos para a identificação da natureza e tipos de compostos presentes em *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*.

Tabela 2: Resumo dos caracteres distintivos dos órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*.

Tabela 3: Teores dos compostos de reserva em porcentagem (%) com base na massa seca dos rizóforos de espécies de *Dioscorea*.

SUMÁRIO

Introdução	01
Considerações sobre o gênero <i>Dioscorea</i> L.	01
Morfologia e anatomia dos órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos de <i>Dioscorea</i> L.	02
Importância econômica de <i>Dioscorea</i> L.	06
Material e métodos	09
Material botânico e áreas de coleta	09
Venação foliar	09
Análises anatômicas	09
Análises em microscopia eletrônica de varredura	10
Nomenclatura utilizada para as descrições	11
Análises bioquímicas	13
Teor de água	13
Extração e quantificação de carboidratos solúveis	13
Análise qualitativa dos carboidratos solúveis	14
Extração e análise de amido	14
Extração e quantificação de proteínas solúveis	15
Resultados	16
Venação foliar	16
Anatomia foliar	17
Lâmina foliar	17
Pecíolo	20
Anatomia caulinar	22
Caule entre o quarto e quinto nó	22
Caule próximo ao solo	24
Anatomia do sistema subterrâneo espessado (rizóforo)	25
Anatomia radicular	26
Análises bioquímicas	32
Discussão	49
Referências bibliográficas	62
Considerações finais e perspectivas	75

Introdução

A família Dioscoreaceae (R. Br.) Lindley pertence à ordem Dioscoreales e é composta pelos gêneros *Dioscorea*, *Trichopus*, *Stenomeris* e *Tacca*, dos quais *Dioscorea* é o maior gênero em número de espécies e o mais amplamente distribuído (Caddick *et al.* 2002a, b, Davis *et al.* 2004, Merckx *et al.* 2006, APG IV 2016). Atualmente, Dioscoreaceae é aceita como monofilética, porém as relações da família com as diversas espécies de monocotiledôneas ainda permanecem incertas (Caddick *et al.* 2002a, b).

Considerações sobre o gênero *Dioscorea* L.

Dioscorea ocorre principalmente nos trópicos e subtropicais (Ayensu 1972), majoritariamente no continente africano (Burkill 1960) e na América do Sul (Smith 1937, Ayensu 1972, Lawrence 1975), esta última sendo o seu grande centro de dispersão, graças ao clima mais estável, às condições favoráveis de umidade e à temperatura ideal (Smith 1937, Ayensu 1972, Lawrence 1975). Essas plantas habitam diversos ambientes, incluindo o interior ou bordas de florestas, savanas e campos rupestres (Ayensu 1972, Davis *et al.* 2004). O número de espécies estimado varia de acordo com os diferentes estudos (Ayensu 1972). Baseando-se na monografia de Dioscoreaceae de Knuth (1924) e nos estudos com as *Dioscorea* mexicanas de Matuda (1953) e Al-Shehbaz & Schubert (1989), estima-se a ocorrência de cerca de 650 a 850 espécies de *Dioscorea*. Mais recentemente, Judd *et al.* (2009) mencionaram que existem aproximadamente 400 espécies de *Dioscorea*. A diferença marcante destes valores deve-se à dificuldade em amostrar espécies trepadeiras, sobretudo as dioicas, visto que há casos em que as plantas com flores pistiladas e as com flores estaminadas foram descritas como sendo de espécies diferentes (Pedralli 1997). No Brasil, segundo levantamentos florísticos atuais, muitas espécies são nativas e endêmicas, num total de 141 espécies, das quais 105 são endêmicas (Kirizawa *et al.* 2017).

Grisebach (1842) dividiu as espécies de *Dioscorea* em 7 seções, baseando-se em caracteres exclusivamente reprodutivos; posteriormente, Knuth (1924) ampliou as descrições para o gênero e utilizou-se de caracteres vegetativos para redistribuir as espécies em 58 seções, sendo as espécies de importância alimentícia agrupadas na seção *Enantiophyllum*.

Em 2004, Pedralli descreveu as espécies de *Dioscorea* de Santa Catarina e sinonimizou *D. adenocarpa* Griseb., *D. adenocarpa* Griseb. var. *balansae* R. Knuth, *D. adenocarpa* Griseb. var. *chartacea* R. Knuth, *D. trackyandrea* Griseb., *D. dendrotricha* Uline, *D. campanulata* R. Knuth, *D. mucronata* R. Knuth, *D. delicata* R. Knuth, *D. puncticulata* R. Knuth, *D. rajanioides* R. Knuth, *D. tauriglossum* R. Knuth, *D. tenuiphyllum* R. Knuth e *D. campos-portoi* R. Knuth em uma única espécie, ou seja, em *D. ovata* Vell. Entretanto, Kirizawa *et al.* (2010, 2017) e Couto (2010) discordam dessa sinonimização, pois estas espécies apresentam diferentes caracteres taxonômicos, e sugerem a necessidade de atualização nomenclatural desses táxons.

Morfologia e anatomia dos órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos de *Dioscorea* L.

Em relação à sua morfologia externa, as *Dioscorea* são plantas dioicas e trepadeiras, excetuando-se as pertencentes à seção *Monadelpa* que são monóicas, às vezes anãs, de hábito volúvel ou apoiante, geralmente herbáceas, podendo ocorrer espécies com caules espessados (Burkill 1960).

As folhas são simples ou compostas (até 7 folioladas), pecioladas e apresentam padrão alterno, raramente oposto, com formas que variam de cordadas a lobadas (Barroso *et al.* 1974). O pecíolo porta um pulvino superior e outro inferior, estes, quando torcidos, formam genículos (Burkill 1960). A maioria das espécies de *Dioscorea* são glabras e, quando pilosas, os tricomas ocorrem de forma escassa (Burkill 1960). Esses tricomas podem ser simples, unicelulares, isolados ou em tufo, longos, finos e pontiagudos ou estrelados, em geral presentes na face abaxial da lâmina foliar, ao longo das nervuras e, mais raramente, no caule e pecíolo (Al-Shehbaz & Schubert

1989). Segundo Burkill (1960), tricomas glandulares são comuns em *Dioscorea*, *Stenomeris* e *Trichopus*. Nas folhas de *Dioscorea floribunda* e *D. composita*, Odimegwu *et al.* (2013) observaram tricomas glandulares com terpenóides.

Na axila foliar das plantas de *D. bulbifera* e *D. cayenensis* pode haver o intumescimento e formação de uma estrutura análoga ao sistema subterrâneo espessado, denominada bulbilho, indispensável para a propagação vegetativa dessas espécies e comuns nas espécies africanas (Burkill 1960, Dahlgren *et al.* 1985, Rocha & Menezes 1997).

As espécies de *Dioscorea* podem ter venação foliar do tipo acródroma (Inamdar *et al.* 1983, Jayasuriya 1990, Téllez-Valdés & Martínez-Rodríguez 1993) ou campilódroma (Téllez-Valdés & Martínez-Rodríguez 1993). Do ponto de vista anatômico, as espécies nativas de *Dioscorea* ainda foram pouco estudadas, destacando-se os estudos dos órgãos vegetativos aéreos realizados por Barroso *et al.* (1974), Cardoso (2001) e Tenorio *et al.* (2017). Em relação às espécies exóticas, Abdulrahaman *et al.* (2009), ao analisar seis espécies de *Dioscorea*, verificaram que cinco apresentavam folhas hipoestomáticas e apenas uma era epiestomática, sendo os estômatos dos tipos paracítico, tetracítico, anisocítico ou diacítico. Apesar das quatro espécies estudadas por Aina & Atumeyi (2011) terem folhas hipoestomáticas, foi observada a ocorrência de diferentes tipos de tricomas e de estômatos, sugerindo que tais parâmetros pudessem ser utilizados como caracteres diagnósticos para as *Dioscorea*. Sonibare & Adeniran (2014) também utilizaram o tipo de estômato e de tricomas, além do tipo da ornamentação da cutícula e a presença de mucilagem como caracteres diagnósticos para diferenciar *Dioscorea bulbifera* das demais espécies do gênero.

O caule aéreo é anual ou bienal, senescendo em períodos desfavoráveis, rebrotando a partir da estrutura subterrânea tuberosa+, podendo portar espinhos na região basal (Burkill 1960, Onwueme 1978, Wickham *et al.* 1984). O enrolamento do caule aéreo pode ser para a direita (dextrorso) ou para a esquerda (sinistorso), existindo casos de espécies capazes de se enrolar para ambos os lados em alturas diferentes (Burkill 1960). O enrolamento sinistorso foi considerado

por vezes uma característica autapomórfica, enquanto o dextrorso plesiomórfica (Wilkin *et al.* 2005). Os caules aéreos também podem ser apoiantes ou eretos, como em *D. anomala* Griseb. e *D. maianthemoides* Uline ex R. Knuth, que representam hábitos diferenciados na família (Burkill 1960, Onwueme 1978, Cardoso 2001). Segundo Burkill (1960), a maioria das espécies de *Dioscorea* possuem caule com formato redondo ou hexagonal quando seccionado, raramente com formas intermediárias, e seus feixes vasculares são organizados em duas ou três camadas concêntricas. Menciona, ainda, que as células epidérmicas possuem paredes espessadas, de forma retangular e que na região medular pode haver acúmulo de grãos de amido, como visualizado em *D. bulbifera*.

Pode-se dizer que a característica que se destaca entre a maioria das espécies de *Dioscorea* é o desenvolvimento de intumescências subterrâneas perenes (Burkill 1960). Os órgãos subterrâneos tuberosos podem portar gemas e são responsáveis por armazenar compostos de reserva e água, que garantem a capacidade de regenerar a parte aérea após a perda devido à fase fenológica ou a algum estresse, e também são importantes para a propagação vegetativa (Dahlgren *et al.* 1985, Chu & Figueiredo-Ribeiro 1991, Appezzato-da-Glória *et al.* 2015).

O sistema subterrâneo espessado de *Dioscorea* apresenta divergências quanto à sua classificação, em grande parte atribuída à escassez de estudos anatômicos que elucidem a sua origem e a natureza estrutural. Alguns autores como Rendle (1971), Wickham *et al.* (1984) e Dahlgren *et al.* (1985) denominam o sistema subterrâneo de *Dioscorea* como sendo um tubérculo. Rocha e Menezes (1997) descrevem o sistema subterrâneo de *D. kunthiana* como rizóforo, o qual é formado por um eixo fino com crescimento geotrópico positivo, que forma de espaço em espaço, regiões tuberizadas com raízes adventícias. Outros autores, como Burkill (1960), Ayensu (1972), Barroso *et al.* (1974), Coursey (1967), León (1987) e Al-Shehbaz & Schubert (1989) referem para o gênero *Dioscorea* a presença de corno, bulbo, órgão rizomatoso ou rizomiforme, raiz tuberosa,

tuberculiforme, estolão tuberiforme e tubérculo radicular, além das raízes adventícias, típicas das monocotiledôneas.

Para a maioria dos autores (Pio Corrêa 1985, Holttum 1955, Burkill 1960, Ayensu 1972, Barroso *et al.* 1974, Cronquist 1977, Degras 1976, Al-Shehbaz & Schubert 1989), as estruturas subterrâneas espessadas de *Dioscorea* são consideradas tubérculos ou rizomas. Tais órgãos apresentam algumas semelhanças, pois ambos são relacionados com estruturas de natureza caulinar e subterrânea que acumulam reservas, além da função de propagação vegetativa. Burkill (1960) menciona que o tubérculo seria, na verdade, uma variação do rizoma que sofreu encurtamento a fim de enterrar-se mais profundamente no solo e aumentar a áreas disponíveis para reserva. Raman *et al.* (2014), ao estudarem a anatomia dos órgãos subterrâneos de cinco espécies de *Dioscorea*, sugeriram, como principais caracteres para distingui-las a natureza da periderme, a presença ou ausência de esclereídes no periciclo, a lignificação no floema, os tipos de cristais de oxalato de cálcio e o formato dos grãos de amido.

Poucos trabalhos abordam a morfologia das raízes de *Dioscorea*. As raízes são superficiais e delicadas, não ultrapassando dez centímetros de profundidade (Burkill 1960), e apresentam diferentes espessuras e colorações, variando do castanho ao branco; ainda, segundo Sharma (1974), em algumas espécies as raízes podem ser intumescidas, acumulando grande quantidade de grãos de amido no parênquima de reserva.

Em *Dioscorea*, a forma e o tamanho dos grãos de amido presentes nos sistemas subterrâneos variam significativamente (Barroso *et al.* 1974, Tajuddin *et al.* 2013). Estes podem ser do tipo simples, agrupados no parênquima de reserva do sistema subterrâneo (Logischen & Robbertse 1981), semicompostos, em sua grande maioria com um poro ou uma depressão na posição distal ao hilo (Xifreda & Cortella 1989) ou apresentar formato irregular semelhante a uma pirâmide de vértices arredondados (Vizcarrondo *et al.* 2004). Existem registros de grãos de amido

que apresentam cristais de oxalato de cálcio de diferentes formatos e tamanhos na região do hilo (Okoli & Green 1987).

As inclusões cristalíferas podem estar presentes em todos os órgãos vegetais das plantas e suas formas são um padrão genético consistente (Prychid & Rudall 1999). Diferentes tipos de cristais de oxalato de cálcio podem ser utilizados como caráter diagnóstico em monocotiledôneas (Inamdar *et al.* 1983, Okoli & Green 1987, Xifreda 1990a, b, Prychid & Rudall 1999, Raman *et al.* 2014) e, como Ayensu (1972) observou, os tipos e distribuições destes em Dioscoreaceae podem ser utilizados com fins taxonômicos. Majoritariamente existem três tipos distintos de cristais de oxalato de cálcio nas plantas, as ráfides, os estiloides e as drusas (Prychid & Rudall 1999), contudo, tipos diferentes ou formas intermediárias podem ser exclusivas, como os observados em *Dioscorea* por Raman *et al.* (2014) que encontraram dois tipos morfológicos diferentes de ráfides, variando apenas no número de lados nas terminações das agulhas, sendo ambas associadas a substâncias mucilaginosas

Importância econômica de *Dioscorea* L.

Poucas espécies de *Dioscorea* apresentam interesse ornamental, destacando-se *D. dodecaneura*, amplamente utilizada por apresentar folhas com a face abaxial de cor roxa e adaxial rajada de branco (Pedralli 1997). Todavia, em diversos países da América, África e Ásia, os sistemas subterrâneos espessados da *Dioscorea* são consumidos como principal fonte de subsistência por apresentarem grande valor nutricional. Mais de 96% da produção de cará provém do continente africano, com aproximadamente 56,6 milhões de toneladas produzidas em 2011 (FAO Statistical Yearbook 2013). Os estados do Norte e Nordeste são os principais produtores de cará do Brasil, totalizando aproximadamente 245 toneladas por ano (Santos & Macedo 2002).

No Brasil são cultivadas várias espécies de *Dioscorea* (Ramo-Escudero *et al.* 2010, Castro *et al.* 2012), conhecidas popularmente como inhames no Norte e Nordeste, enquanto no Sul

e Sudeste recebem a denominação de carás (Pedralli 1997). Dentre as espécies brasileiras de *Dioscorea*, 26 podem ser utilizadas na alimentação (Al-Shehbaz & Schubert 1989) por serem ricas em diversas vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e niacina), além das vitaminas A e C e, também, em carboidratos, principalmente amido (Wanasundera & Ravindran 1994, Jayakody *et al.* 2007, Oliveira *et al.* 2007, Dutta 2015). Em relação às proteínas, Wanasundera & Ravindran (1994) observaram que os valores presentes nos órgãos tuberosos de *D. alata* eram superiores e de melhor qualidade do que aqueles encontrados em batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) e taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott), comprovando seu potencial nutricional. Apesar das vantagens da cultura do inhame, no Brasil os representantes do gênero *Dioscorea* continuam praticamente inexplorados (Zarate *et al.* 1996, Pérez *et al.* 2005, Santos *et al.* 2006), visto que são escassos os estudos hortícolas com as espécies nativas deste gênero.

O amido é o principal carboidrato de reserva no reino vegetal. É formado por dois tipos de polímeros: a amilose, de cadeia linear com ligações α (1-4), e a amilopectina, de cadeia ramificada com ligações α (1-6); em *Dioscorea*, desempenha importante função no período de brotação, propagação e floração (Gallant *et al.* 1982, Chu & Figueiredo-Ribeiro 1991, Stick & Williams 2009).

Nos sistemas subterrâneos espessados em *Dioscorea* ocorre, também, a presença de diversos metabólitos secundários como alcaloides (Hegnauer 1963), taninos (Jayasuriya 1990) e protodioscina (Hu & Yao 2002), este último apresentando eficiência no combate a diferentes tipos de células cancerígenas e, também, no tratamento de doenças coronárias e degenerativas (Miyazawa *et al.* 1996, Hou *et al.* 2002). Barroso *et al.* (1974) mencionam a presença de saponinas, um composto com valor medicinal devido à sua atividade antimicrobiana (Stephens 1994). Ao analisarem cinco espécies nativas de *Dioscorea* (*D. delicata*, *D. laxiflora*, *D. olfersiana*, *D. sanpaulensis* e *D. subhastata*), Chu & Figueiredo-Ribeiro (1991) observaram altos teores de proteínas e açúcares solúveis, além da presença de diosgenina em *D. laxiflora* e *D. olfersiana*. Em

1937, em espécies japonesas de *Dioscorea*, foi isolada a diosgenina, que era a principal fonte de matéria-prima usada na fabricação de cortisona e hormônios sexuais, sendo posteriormente sintetizada para comercialização em grande escala (Gómez-Pompa 1962), por apresentar efeito anti-inflamatório ou contraceptivo oral (Judd *et al.* 2009).

Devido à existência de problemas taxonômicos acerca da circunscrição de *Dioscorea ovata* e de poucos trabalhos que abordam a anatomia e a bioquímica de espécies nativas e endêmicas brasileiras, o presente trabalho teve como objetivos:

- Caracterizar os órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos de *Dioscorea delicata* R. Knuth, *D. tauriglossum* R. Knuth e *D. ovata* Vell. a fim de levantar caracteres diagnósticos para auxiliar na delimitação dessas espécies sinonimizadas por Pedralli (2004);
- Quantificar e analisar comparativamente os compostos de reserva dos órgãos subterrâneos espessados para subsidiar estudos sobre seu potencial alimentício.

Material e métodos

Material botânico e áreas de coleta

Plantas de *Dioscorea delicata* R. Knuth e *D. tauriglossum* R. Knuth foram coletadas na Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP, situada entre as coordenadas geográficas 23°46'00"-23°47'10"S e 46°18'20"-46°20'40"W (Gutjahr & Tavares 2009), enquanto plantas de *D. ovata* Vell. foram coletadas no Parque Nacional da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ, situado entre as coordenadas geográficas 22°57'23"S e 043°14'51"W. Para cada espécie foram coletados seis indivíduos de populações diferentes na fase fenológica de floração.

As espécies foram identificadas pela especialista do gênero no Brasil, Dra. Mizue Kirizawa, Pesquisadora Associada do Instituto de Botânica, e as exsicatas foram registradas e incorporadas ao acervo do Herbário Maria Eneyda Pacheco Kauffmann Fidalgo (SP) do Instituto de Botânica, sob os números: *Dioscorea delicata* (SP474887), *D. ovata* (SP488020, SP488021 e SP488022) e *D. tauriglossum* (SP488455).

Venação foliar

Para a análise da venação foliar, folhas frescas do 5º nó de quatro exemplares de cada espécie foram diafanizadas de acordo com Strittmatter (1973), adaptando-se apenas o tempo de aquecimento em etanol 96% e etanol 96% - hidróxido de sódio 5% 1:1 (v/v) para 2 horas cada, e o processo de clarificação por 24 horas no hipoclorito de sódio 50% a partir da solução comercial. Posteriormente, as folhas foram coradas com safranina etanólica 80% e montadas entre placas de vidro de 2 mm de espessura com resina sintética Entellan.

Análises anatômicas

As análises anatômicas foram realizadas com os órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos

de três indivíduos. Na folha expandida do 5º nó foi analisada a região do terço médio (regiões da nervura central, intermediária e bordo) e o pecíolo na região mediana. O caule foi analisado na região entre o 4º e 5º nós a partir do ápice, bem como no primeiro entrenó próximo ao solo. O sistema subterrâneo espessado foi seccionado nas regiões proximal, mediana e distal. As raízes adventícias de diferentes diâmetros foram seccionadas na porção proximal e mediana em relação ao órgão tuberoso.

As amostras foram fixadas em FAA (formaldeído: ácido acético: álcool etílico 50%) (Johansen 1940), levadas a uma bomba de vácuo para a retirada do ar dos tecidos e armazenadas em etanol 70% para análises posteriores. Em seguida, foram incluídas em resina plástica de hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historessin) e os blocos obtidos foram seccionados transversal e longitudinalmente (7µm de espessura) em micrótomo rotatório Leica RM 2245 com navalha descartável. Parte dos cortes obtidos foi corada com azul de toluidina 0,05% (Sakai 1973) em tampão fosfato e citrato (McIlvaine 1921) pH 4,5 e as lâminas permanentes foram montadas com resina sintética Entellan. A outra parte dos cortes foi submetida a corantes e reagentes específicos para os testes histoquímicos (Tabela 1), e, posteriormente, montada em gelatina de Kaiser (1880) ou água destilada. As observações das secções e captura de imagens digitais dos materiais preparados em lâminas foram realizadas ao microscópio Olympus BX53 equipado com câmera de vídeo Olympus Q-Color 5, software Image-Pro Express versão 6.3 (Media Cybernetics). As escalas micrométricas foram obtidas nas mesmas condições ópticas utilizadas.

Análises em microscopia eletrônica de varredura

Amostras (folhas, caules e órgãos subterrâneos) fixadas em FAA (formaldeído: ácido acético: álcool etílico 50%) (Johansen 1940) foram desidratadas em série cetônica, secas pelo método do ponto crítico de CO₂ (Horridge & Tamm 1969), montadas sobre suportes de alumínio e metalizadas com ouro coloidal. As observações e as eletromicrografias foram feitas ao

microscópio eletrônico de varredura Philips modelo XL Series XL 20 e FEI Quanta 250, com as escalas diretamente impressas nas mesmas.

Nomenclatura utilizada para as descrições

Para as descrições do padrão de deposição cuticular seguiu-se a classificação proposta por Metcalfe e Chalk (1979) e para venação foliar, seguiu-se a classificação de Hickey (1973). Em relação à nomenclatura utilizada para classificar os feixes vasculares do caule, aqui seguimos a terminologia proposta por Rocha & Menezes (1997). Para a terminologia dos sistemas subterrâneos espessados, utilizou-se a proposta por Appezzato-da-Glória (2015).

Tabela 3: Corantes e reagentes específicos para a identificação da natureza e tipos de compostos presentes em *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*.

Reagente	Composto alvo	Cor em luz transmitida	Referência
Ácido periódico/Reagente de Schiff	Polissacarídeos neutros	Magenta	McManus (1948)
Azul de toluidina 0,05%	Compostos fenólicos	Compostos fenólicos em verde (por mera adição de cores), compostos protonados em lilás e compostos neutros em azul	Sakai (1973)
Cloreto férrico	Compostos fenólicos totais	Marrom a negro	Johansen (1940)
Lugol	Amido	Marrom, roxo ou negro	Jensen (1962)
Sudan IV	Substâncias lipofílicas	Vermelho	Jensen (1962)
Sudan Black B	Substâncias lipofílicas	Azul a negro	Pearse (1968)
Vermelho de rutênio	Substâncias pécticas e mucilagem	Rosa a vermelho	Johansen (1940)
Xylidine Ponceau	Proteínas totais	Vermelho	Vidal (1970)

Análises bioquímicas

Para garantir a integridade dos compostos de reserva dos sistemas subterrâneos espessados, logo após a coleta, os materiais foram transportados em jornal umedecido até o laboratório e, posteriormente, lavados, fragmentados e mantidos em freezer -80°C até o momento do processamento.

Teor de água: Para determinação do teor de água (%) no órgão subterrâneo espessado, amostras da região cortical e medular foram acondicionadas em tubos falcon, imediatamente após o órgão ser seccionado longitudinalmente. As amostras foram pesadas em balança analítica durante o processamento para determinação da massa fresca (MF). Em seguida, foram mantidas em liofilizador (Thermo Modulyod Freeze Dryer) por 72h, sendo novamente pesadas para determinação da massa seca (MS). O teor de água do órgão subterrâneo espessado foi determinado pelo método gravimétrico a partir da equação: $\text{Massa seca (\%)} = \text{massa seca (g)} \times 100 / \text{massa fresca (g)}$

Extração e quantificação de carboidratos solúveis: Fragmentos do órgão subterrâneo espessado (região cortical e medular) foram separados, pesados em balança analítica para obtenção da massa fresca, liofilizados e novamente pesados para a obtenção da massa seca, repetindo-se o processo em triplicata. Posteriormente, os fragmentos foram macerados em almofariz com etanol 80%, mantidos em banho-maria durante 15 minutos a 80°C e centrifugados a temperatura ambiente por 15 minutos a 400 g. Este processo foi repetido três vezes, juntando todos os sobrenadantes e mensurando o volume. Os resíduos foram então submetidos à extração aquosa (3x), durante 30 minutos a 60°C, sendo filtrados e reunidos os sobrenadantes e mensurados os volumes. Os sobrenadantes das extrações etanólicas e aquosas foram reunidos, constituindo os carboidratos solúveis (Carvalho *et al.* 1998). Os açúcares solúveis totais foram quantificados segundo método do fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956), utilizando-se glicose como padrão. Os açúcares redutores foram

quantificados segundo método proposto por Somogyi (1945), utilizando-se glucose como padrão. O cálculo para quantificação de açúcares solúveis e açúcares redutores pelos métodos colorimétricos foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir das curvas-padrão de glucose. As leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro modelo BEL Photonics 1105 em comprimento de onda de 490nm e 520 nm, respectivamente. Todos os reagentes utilizados foram de grau P.A.

Análise qualitativa dos carboidratos solúveis: Foi realizada na fração dos açúcares solúveis. Volumes contendo o equivalente a 1,0 mg de carboidrato total foram submetidos à deionização em colunas de troca iônica, contendo resinas catiônicas e aniônicas (Carvalho & Dietrich 1993). Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 μm com 13 mm de PVDF (Millex) e analisadas por cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC/PAD) em sistema Dionex modelo ICS 3000 utilizando coluna CarboPac PA-1 (4mm x 250mm) com fluxo de 1ml min^{-1} (Oliveira *et al.* 2010). O fracionamento dos carboidratos foi feito utilizando-se um gradiente da mistura do eluente A (150 mM de hidróxido de sódio) e eluente B (500 mM de acetato de sódio em 150 mM de hidróxido de sódio) com a seguinte programação: 0 - 2 min, 15 mM de acetato de sódio; 2,1 - 17 min, 185 mM; 17,1 – 21 min, 500 mM; 21,1 – 30 min, 15 mM. Os açúcares solúveis foram analisados na concentração de $400\ \mu\text{g mL}^{-1}$, em equivalente de glucose e comparados com carboidratos padrões externos (glucose, frutose e sacarose).

Extração e análise de amido: Os resíduos das extrações dos açúcares solúveis foram submetidos à extração com ácido perclórico 52%, em duplicata. A quantificação do amido foi feita por método colorimétrico (fenol-sulfúrico) (McCready *et al.* 1950 modificado). As leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro modelo BEL Photonics 1105 em comprimento

de onda de 490 nm. O cálculo para quantificação do amido pelos métodos colorimétricos foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir das curvas-padrão, usando-se glucose como padrão.

Extração e quantificação de proteínas solúveis: Fragmentos dos sistemas subterrâneos espessados (região cortical e medular) foram pesados para obtenção da massa fresca, liofilizados e novamente pesados para a obtenção da massa seca, em triplicata. Em seguida, foi pulverizado com solução tampão acetato de sódio 0,05 M (pH 5,2) com Tween 20 (50 µl). Toda a extração foi realizada em banho de gelo a 4°C, durante 15 minutos para cada maceração e extração. A seguir, as amostras foram centrifugadas a 400 g, por 15 min a 4°C, sendo o sobrenadante coletado e armazenado. Este processo foi repetido três vezes, juntando-se os sobrenadantes e aferido o volume final. Os sobrenadantes foram, então, armazenados a -20°C. A quantificação das proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976), usando-se albumina de soro bovino como padrão utilizando-se do reagente Bio-Rad Proteins Assay Dye Reagent Concentrate (BioRad). As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro modelo BEL Photonics 1105 em comprimento de onda de 595 nm. O cálculo para quantificação de proteínas solúveis pelos métodos colorimétricos foi realizado utilizando-se a equação da reta obtida a partir da curva-padrão de albumina.

Resultados

Venação foliar

O padrão de venação foliar de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata* é do tipo campilódromo, sendo a base das folhas geralmente cordadas, nervura mediana reta e nervuras laterais arqueadas no sentido do ápice da lâmina (Fig. 1A, E e I). As nervuras provenientes do pecíolo se divergem na base da lâmina (Fig. 1D, H e L) e convergem no ápice (Fig. 1B, Fe J). Em *D. delicata* e *D. ovata* partem 11 nervuras do pecíolo em sentido a lâmina foliar (Fig. 1D e L) e nove em *D. tauriglossum* (Fig. 1H). Ao longo da lâmina, ocorrem uniões consecutivas das nervuras mais externas em diferentes níveis, culminando em três nervuras que correm paralelamente no ápice (Figs. 1B, F e J).

As nervuras de ordens superiores ramificam-se e formam o padrão reticulado. Observam-se ramificações nas nervuras de até quarta ordem nas três espécies de *Dioscorea* (Fig. 1C, G e K). Na região do bordo foliar, não há ramificações de nervuras secundárias, apenas uma nervura lateral submarginal (Fig. 1C, G e K).

As nervuras de segunda ordem são paralelas entre si e partem das nervuras primárias, formando um ângulo entre 45° e 90°, conectando-se com as outras nervuras primárias (Fig. 1C, G e K).

As nervuras de terceira ordem formam o padrão randomicamente reticulado, no qual se conectam com as nervuras de segunda ou terceira ordem, formando anastomoses de ângulos variados (Figs. 1C, G e K). As nervuras de quarta ordem ramificam-se a partir das nervuras de terceira ordem e possuem espessura menor que as nervuras de terceira ordem e padrão de distribuição randomicamente orientado. Algumas dessas nervuras de quarta ordem não se conectam com outras, formando vênulas ramificadas (Fig. 1C, G e K).

As vênulas de *D. delicata* são ausentes ou simples de forma curva. Em *D. tauriglossum*, as vênulas podem ser ausentes, simples de forma linear ou curva, ou ramificadas uma ou duas vezes. Observa-se que em *D. ovata* as vênulas podem ser ausentes ou simples de forma linear ou curva (Fig. 1C, G e K).

As aréolas¹ em *D. delicata* possuem forma quadrangular ou, raramente, pentagonal, em *D. tauriglossum* a forma é pentagonal e em *D. ovata* é quadrangular ou pentagonal (Figs. 1C, G e K).

Anatomia foliar

Lâmina foliar

As espécies analisadas possuem hábito trepador escandente (Fig. 2A, B e C). O limbo foliar possui forma ovada elíptica em *D. delicata*, com ápice longamente acuminado, base cordada, bordo inteiro e consistência membranácea (Fig. 2D e E). Em *D. tauriglossum*, o limbo possui forma elíptica a lanceolada, base ovada a elíptica, ápice acuminado, bordo inteiro e consistência levemente coriácea (Fig. 2F e G). *Dioscorea ovata* possui lâmina de forma ovada levemente lanceolada, com ápice acuminado, base levemente cordada e consistência membranácea (Fig. 2H e I).

Em vista frontal, na região entre a nervura mediana e o bordo, no terço médio do limbo foliar, observam-se estrias cuticulares na face abaxial de todas as espécies (Fig. 3B, F e I), e, em relação à face adaxial, apenas *D. ovata* apresentou leves estrias cuticulares na face adaxial (Fig. 3H). As células epidérmicas da face adaxial de *D. delicata* e *D. tauriglossum* apresentam paredes anticlinais retas e levemente sinuosas em *D. ovata* (Fig. 3A, E e H). Na face abaxial, as células epidérmicas são menores que as da face adaxial e com paredes anticlinais sinuosas (Fig. 3B, F e I).

Os estômatos de todas as espécies são predominantemente do tipo anomocítico e anisocítico, ocorrendo em ambas as faces do limbo foliar, em maior número na face abaxial (Fig. 3B, D, F e I). O indumento está presente em ambas as faces e é constituído por tricomas glandulares (Fig. 3B, F, H

¹ Aréolas – São as menores áreas do tecido cercadas por veias.

e I), multicelulares, constituídos por uma célula basal, uma célula intermediária formando o pedúnculo e três pares de células secretoras formando a cabeça.

Os cortes transversais mostram que a epiderme é uniestratificada em ambas as faces da folha e revestida pela cutícula. As células da face abaxial são menores do que as da face adaxial em todas as espécies (Fig. 3C, G e J).

A lâmina foliar é anfiestomática, os estômatos estão levemente acima das demais células epidérmicas e com amplas câmaras subestomáticas em *D. delicata*, e no mesmo nível em *D. tauriglossum* e *D. ovata* (Fig. 3C, G e J).

O mesofilo é constituído pelo parênquima clorofiliano, tendendo a dorsiventral em *D. delicata* e *D. tauriglossum* e completamente dorsiventral em *D. ovata*. O mesofilo de *D. delicata* e *D. tauriglossum* apresenta quatro a cinco camadas de células de tamanhos variados, sendo a primeira delas constituída por células mais justapostas, enquanto as camadas inferiores apresentam amplos espaços intercelulares (Fig. 3C e G). Em *D. ovata*, o mesofilo é constituído pelo parênquima paliçádico e lacunoso, sendo o paliçádico formado por uma a duas camadas de células alongadas anticlinalmente e o lacunoso constituído por seis camadas de células de formatos variados com pequenos espaços intercelulares (Fig. 3J).

Os feixes vasculares são colaterais (Fig. 3C, G e J), observando-se a formação de calotas esclerenquimáticas em ambas as faces somente em *D. ovata* (Fig. 3J).

Foram observados idioblastos fenólicos imersos no mesofilo, bem como idioblastos rafídicos associados à mucilagem em todas as espécies (Fig. 3C, G e J). As maiores quantidades de idioblastos de conteúdo fenólico foram observados no mesofilo de *D. ovata* (Fig. 3J).

Na região do bordo das três espécies, observa-se que estes são lisos e revolutos. A cutícula é estriada e as células epidérmicas possuem paredes heterodimensionais (Fig. 4A, B, D, F, H e J). Observa-se, também, a presença de uma nervura submarginal pronunciada, não sendo visível apenas na face adaxial de *D. ovata* (Fig. 4H). As células epidérmicas na região entre as nervuras laterais e as

nervuras laterais submarginais apresentam forma quadrangular com paredes anticlinais sinuosas, enquanto as células epidérmicas das nervuras submarginais apresentam forma retangular com o maior eixo no sentido longitudinal do órgão (Fig. 4A, B, D, F, H e J) e, em *D. tauriglossum*, as estrias da base dos tricomas glandulares e células subsidiárias dos estômatos apresentam-se de maneira radiada (Fig. 4E e G).

Os estômatos e tricomas estão presentes no bordo em ambas as faces de todas as espécies. Em todas as espécies observam-se tricomas glandulares compostos por seis células na região da cabeça, uma célula na região peduncular e uma na basal (Fig. 4C, E e I).

Em corte transversal, o bordo apresenta epiderme uniestratificada em ambas as faces e revestida pela cutícula (Fig. 5A-F). O tamanho das células da face abaxial é levemente menor do que as da face adaxial. As células epidérmicas possuem forma quadrangular na face adaxial e retangular na face abaxial com espessamento homogêneo das paredes (Fig. 5A, B e E).

A terminação do mesofilo do bordo de todas as espécies é constituída por células colenquimáticas clorofilianas, sendo em *D. delicata* e *D. tauriglossum* dispostas em duas camadas de células, enquanto em *D. ovata* são por duas a três camadas (Fig. 5A, B e E).

Os feixes vasculares são semelhantes aos demais encontrados na lâmina foliar (Fig. 5A, B e E).

Observa-se idioblastos fenólicos no mesofilo do bordo de *D. delicata* e *D. ovata* (Fig. 5F) e também idioblastos rafídicos associados à mucilagem em todas as espécies (Fig. 5A, C-E).

Na região da nervura mediana, em vista frontal, nota-se uma nervura levemente pronunciada na face adaxial da lâmina em *D. delicata* (Fig. 6A) e *D. tauriglossum* (Fig. 6D) e, em *D. ovata*, pronunciada (Fig. 6G). As células das nervuras possuem estrias no sentido longitudinal do órgão. Na face abaxial, a nervura apresentou células com um comprimento maior no sentido longitudinal do órgão em *D. delicata* e *D. ovata* (Fig. 6B e H). As células adjacentes à nervura apresentaram paredes sinuosas em *D. delicata* (Fig. 6B) e paredes de ângulos arredondados em *D. tauriglossum* e *D. ovata*

(Fig. 6E e H). O indumento é semelhante ao observado no bordo e região intercostal. As estrias com disposição radiada na base dos tricomas glandulares e nas células subsidiárias dos estômatos são pronunciadas em *D. tauriglossum* (Fig. 6F), leves em *D. delicata* (Fig. 6C) e ausentes em *D. ovata* (Fig. 6I).

Em corte transversal, a nervura mediana é plano-convexa em *D. delicata* (Fig. 7A), côncavo-convexa em *D. tauriglossum* (Fig. 7C) e biconvexa em *D. ovata* (Fig. 7E). A epiderme é uniestratificada, constituída por células maiores na face adaxial em comparação com as da face abaxial (Fig. 7A, C e E), e revestida por cutícula estriada (Fig. 7H). O colênquima angular ocorre em ambas as faces da nervura, sendo constituído por uma camada de células em ambas as faces nas três espécies de *Dioscorea*. Abaixo do colênquima, são observadas de uma a três camadas de parênquima aclorofilado de tamanhos variados. Grandes espaços intercelulares são observados em *D. tauriglossum* e *D. ovata* (Fig. 7D e F).

O sistema vascular é constituído pelo feixe vascular colateral localizado no centro da nervura e circundado por células esclerenquimáticas, sendo estas espessadas em *D. ovata*. O floema está disposto em semicírculo (Fig. 7B, D e F).

Idioblastos fenólicos foram observados imersos no parênquima de *D. ovata* (Fig. 7G).

Pecíolo

O pecíolo das três espécies de *Dioscorea* é dorsiventral e apresenta variações quanto à forma, sendo ligeiramente côncavo na face adaxial e convexo na face abaxial em *D. delicata* (Fig. 8A) e plano-convexo em *D. tauriglossum* e *D. ovata* (Fig. 8G e K). Em vista frontal, as estrias cuticulares são delgadas em *D. delicata* e *D. ovata* (Fig. 8B e L), sendo que na primeira ocorrem principalmente no entorno da região basal dos tricomas tectores enquanto na segunda espécie, o padrão de deposição cuticular é uniforme e com pequenos cumes entre as células epidérmicas ao longo do maior eixo do órgão. Em *D. tauriglossum*, as estrias são mais evidentes e de aparência ondulada, ocorrendo

paralelamente ao maior eixo do órgão (Fig. 8H). As células epidérmicas são retangulares em *D. delicata* e *D. ovata* e quadrangulares em *D. tauriglossum*. O indumento é constituído pelos tricomas glandulares multicelulares com seis células na região da cabeça, uma no pedúnculo e uma na base em *D. delicata* e *D. tauriglossum* (Fig. 8B e H), e tricomas tectores multicelulares de base larga em *D. delicata*, com apenas uma única célula na região terminal (Fig. 8E e F). Os tricomas são ausentes em *D. ovata* (Fig. 8L).

A epiderme é uniestratificada constituída por células relativamente pequenas e revestidas pela cutícula. Estômatos são raros e encontrados apenas no lado adaxial do pecíolo, um pouco acima do nível das demais células epidérmicas em *D. delicata* (Fig. 8C) e *D. ovata*, e ausentes em *D. tauriglossum*.

A região cortical do pecíolo é constituída pelo tecido colenquimático e parenquimático com espaços intercelulares pequenos ou ausentes. Ocorrem, geralmente, três a cinco camadas de colênquima angular em *D. delicata*, dois a quatro, raramente cinco, em *D. tauriglossum* e duas a cinco camadas em *D. ovata* (Fig. 8A, G, K). O parênquima clorofiliano é constituído por cinco a sete camadas de células arredondadas de tamanhos variados e com poucos a ausentes espaços intercelulares (Fig. 8A, G e K)

O sistema vascular é constituído por seis feixes vasculares bicolaterais organizados em forma pentagonal, com o feixe de maior calibre voltado para a região abaxial do órgão. Este feixe de maior calibre possui três polos de floema voltados para o lado mais externo do pecíolo (Fig. 8I), enquanto os demais feixes possuem apenas dois (Fig. 8M). O grau de esclerificação do parênquima interfascicular varia entre as espécies, sendo leve em *D. delicata* (Fig. 8A), ausente em *D. tauriglossum* (Fig. 8G) e intensa em *D. ovata* formando um arco esclerenquimático que une os feixes vasculares (Fig. 8K). Os feixes vasculares são envolvidos por uma bainha de células esclerenquimáticas, sendo que, no lado mais externo do órgão, há formação de calotas (Fig. 8I e M).

A região medular é constituída por células parenquimáticas arredondadas de tamanhos variados. Idioblastos fenólicos são encontrados imersos no parênquima cortical e medular de *D. delicata* (Fig. 8D) e *D. ovata*, enquanto em *D. tauriglossum*, nota-se a presença de idioblastos mucilaginosos com ráfides (Fig. 8J).

Anatomia caulinar

Caule entre o quarto e quinto nó

Nas análises ultraestruturais do caule de *D. delicata*, a cutícula apresenta-se com estrias sutis paralelas ao eixo maior do órgão. São observados poucos estômatos no mesmo nível das células epidérmicas, estas, de forma retangular com o maior eixo no sentido longitudinal. Observa-se também a presença de tricomas tectores unisseriados multicelulares de base larga, formando uma fileira no sentido do maior eixo do caule (Fig. 9A e B). Em *D. tauriglossum*, existem duas regiões distintas quanto à deposição da cutícula no caule, isto é, faixas com estrias alternadas com faixas de grânulos, sendo que somente na região onde a cutícula está depositada em forma de grânulos, são encontrados tricomas glandulares (Fig. 9D). Em *D. ovata*, são observadas estrias pronunciadas paralelas ao eixo longitudinal do órgão (Fig. 9F). Raros estômatos são observados no mesmo nível das células epidérmicas (Fig. 9G) e tricomas, quando presentes, são do tipo glandular, organizados em fileiras, constituídos por seis células secretoras na cabeça (Fig. 9H). Em nenhuma das espécies estudadas foram observados cristais na região endodérmica dos caules (Fig. 9C e E).

Em corte transversal, houve variação quanto à forma do caule, sendo circular com leves ondulações em *D. delicata* (Fig. 10A), elipsoide em *D. tauriglossum* (Fig. 10D) e circular em *D. ovata* (Fig. 10F).

Em *D. delicata* e *D. tauriglossum*, a epiderme é uniestratificada constituída por células arredondadas com paredes de espessamentos homogêneos (Fig. 10B e E) e, em *D. ovata*, a epiderme

é uniestratificada, constituída por células de forma retangular com paredes de espessamentos homogêneos (Fig. 10G).

Subjacente à epiderme, a composição tecidual varia quanto ao número de estratos celulares, observando-se de uma a duas camadas de colênquima angular e de três a cinco camadas de parênquima clorofiliano com células de forma circular, com poucos ou ausentes espaços intercelulares em *D. delicata* (Fig. 10B). *Dioscorea tauriglossum* apresenta de duas a três camadas de colênquima angular e de três a quatro camadas de parênquima clorofiliano com células de formas variáveis, de circular a retangular, com poucos ou ausentes espaços intercelulares (Fig. 10E). Em *D. ovata*, observa-se de uma a duas camadas de colênquima angular e de duas a três camadas de parênquima clorofiliano com células de forma retangular e espaços intercelulares ausentes (Fig. 10G).

A endoderme das três espécies analisadas é constituída por células com o maior diâmetro no eixo periclinal, ângulos arredondados e um leve espessamento nas paredes (Fig. 10B, E e G).

Internamente, observa-se o periciclo constituído de duas a três camadas de células em *D. delicata* (Fig. 10B) e *D. tauriglossum* (Fig. 10E), e de uma a duas camadas em *D. ovata* (Fig. 10G), todas com lignificação homogênea das paredes.

Nas espécies analisadas são distinguíveis dois tipos diferentes de feixes vasculares, aqui denominados feixes menores e maiores, dispostos de maneira intercalada (Fig. 10 D). A composição destes feixes é semelhante, variando apenas no número e tamanho dos elementos. Os elementos do protoxilema possuem maturação do tipo endarco. Observa-se, em *D. delicata*, a presença de dois pares de metaxilema e, em *D. tauriglossum* e *D. ovata*, três pares, sendo os da posição mediana maiores que aqueles encontrados nas periferias. Nas espécies analisadas, o floema possui dois polos, um externo e outro interno, os quais se encontram localizados entre os vasos de metaxilema e possuem um anel esclerenquimático em seu entorno. Há canais secretores associados ao floema (Fig. 10C).

A região medular apresenta aumento gradual no tamanho das células exclusivamente parenquimáticas em direção ao centro do órgão, contudo, nota-se diferentes graus de esclerificação

das paredes, sendo mais conspícua próxima ao periciclo (Fig. 10A, D e F). Idioblastos rafídicos associados à mucilagem são encontrados imersos majoritariamente no parênquima cortical.

Caule próximo ao solo

Em corte transversal, o caule de *D. delicata* na região próximo ao solo possui forma elipsoide (Fig. 11A), o de *D. tauriglossum* forma hexagonal (Fig. 11C) e em *D. ovata* forma circular (Fig. 11E). A epiderme das espécies analisadas é uniestratificada com células de forma irregular e mais alongadas no sentido anticlinal em *D. delicata* e *D. tauriglossum* ou mais alongadas no sentido periclinal em *D. ovata*. Há leve variação quanto à forma da parede periclinal externa, sendo convexa e com espessamentos homogêneos em *D. delicata* (Fig. 11B) e *D. tauriglossum*, e paredes periclinais levemente convexas e espessamentos homogêneos em *D. ovata* (Fig. 11F).

Subjacente à epiderme, os espaços intercelulares são poucos ou ausentes, e há variação no número de estratos celulares, sendo de uma a duas camadas de colênquima angular, e de três a quatro camadas de parênquima clorofiliano com células de forma circular, quando próximas ao colênquima, e retangulares com o maior eixo no sentido periclinal das células, quando próximas à endoderme em *D. delicata*. Em *D. tauriglossum*, observam-se de duas a três camadas de colênquima angular, e de três a cinco camadas de parênquima clorofiliano com células de tamanhos variáveis, de forma retangular a circular, sendo o maior eixo no sentido periclinal das células, com espaços intercelulares em pequeno número ou ausentes (Fig. 11D). Em *D. ovata*, observam-se de uma a duas camadas de colênquima com espessamento angular, e de quatro a seis camadas de parênquima com células de forma circular, com paredes sinuosas e espaços intercelulares (Fig. 11F).

Em todas as espécies, é possível observar uma camada endodérmica, com o maior diâmetro no eixo periclinal das células e um leve espessamento nas paredes (Fig. 11D e F). Internamente, distingue-se o periciclo com lignificação homogênea das paredes, sendo constituído de duas a três

camadas de células em *D. delicata* e *D. tauriglossum* (Fig. 11D) e de uma a duas camadas de células em *D. ovata* (Fig. 11F).

A constituição e organização do cilindro vascular do caule próximo ao solo é semelhante ao encontrado entre o 4° e 5° nó (Fig. 11A, C e E), variando o número de vasos de metaxilema, estes, formando uma elipse, com os da posição mediana maiores que aqueles encontrados na periferia do órgão, dispostos em três pares alinhados em *D. delicata* e *D. tauriglossum* (Fig. 11A e C), enquanto em *D. ovata* são presentes de três a quatro pares de metaxilema (Fig. 11E). O floema encontra-se entre os vasos de metaxilema, apresentando dois polos em *D. delicata* e *D. tauriglossum*, um externo e outro interno, enquanto em *D. ovata* três polos são observados entre os vasos de metaxilema (Fig. 11F). São observados canais secretores associados ao floema destas espécies (Fig. 11F).

A região medular é mais espessa em relação ao caule entre o 4° e 5° nó, e apresenta aumento gradual no tamanho das células exclusivamente parenquimáticas de paredes lignificadas. Idioblastos fenólicos são encontrados imersos majoritariamente no parênquima cortical (Fig. 11D).

Anatomia do sistema subterrâneo espessado (rizóforo)

A estrutura subterrânea tuberizada das espécies analisadas constitui um rizóforo, com eixo bipolar de ramificação caulinar, raízes adventícias formadas a partir do órgão subterrâneo espessado e gemas adventícias protegidas por catafilos na região proximal (Fig. 12A, B, C e J). Não se observam nós e entrenós conspícuos. O órgão subterrâneo espessado possui consistência tenra e revestimento de coloração marrom escura.

O revestimento é constituído pelo súber estratificado, com a região externa fortemente suberizada, que é gradativamente descartada, e uma interna não suberizada mas impregnada por compostos fenólicos (Fig. 12E e F). Adjacente ao revestimento, observa-se na região cortical um tecido parenquimático de paredes finas. Em *D. tauriglossum* e *D. ovata*, observam-se idioblastos rafídicos imersos em mucilagem no parênquima cortical, podendo ocorrer também idioblastos

rafídicos sem mucilagem associada. Internamente à essa região parenquimática, há uma região meristemática que constitui o meristema de espessamento secundário. Células parenquimáticas são produzidas em direção à região cortical do órgão, enquanto feixes vasculares colaterais são produzidos em direção à região medular, juntamente com parênquima de reserva, por divisões periclinais consecutivas do meristema de espessamento secundário (Fig. 12G). Observa-se, em *D. delicata* e *D. ovata*, a formação de raios parenquimáticos provenientes do meristema de espessamento secundário (Fig. 12D).

A região medular é constituída exclusivamente por feixes vasculares colaterais e parênquima de reserva, este último, rico em grãos de amido. Nota-se que o tamanho dos grãos de amido varia conforme aproximam-se da região cortical, sendo de diâmetro maior na região medular e com diminuição gradativa do diâmetro no sentido da região cortical (Fig. 12H e I).

Na região proximal, é possível observar gemas adventícias em *D. delicata* e *D. ovata* protegidas pelos catafilos. Observa-se que, em *D. delicata*, as gemas originam-se a partir do meristema de espessamento secundário (Fig. 12J).

Anatomia radicular

As raízes adventícias dos sistemas subterrâneos das espécies analisadas apresentam duas tonalidades, uma clara e outra escura. Nas raízes claras, a epiderme reveste o órgão, sendo possível, inclusive, observar pelos radiculares (Fig. 13A). Abaixo, encontra-se o parênquima cortical, cujas células são maiores e com espaços intercelulares nas camadas mais externas e menores e mais justapostas nas camadas mais internas. À medida que a raiz se desenvolve, a epiderme e as camadas mais externas das células parenquimáticas são descartadas gradativamente, com as camadas mais internas impregnadas por compostos fenólicos (Fig. 13F) assumindo, assim, a função de revestimento (Fig. 13D e E). Em *D. ovata* nota-se, na região cortical, a presença de idioblastos fenólicos (Fig. 13C e F). As células parenquimáticas adjacentes à endoderme apresentam espessamento diferenciado nas

paredes anticlinais e periclinal interna (Fig. 13D). Após o parênquima cortical com parede não espessada ser descartado completamente, as raízes assumem a coloração enegrecida, devido à presença de compostos fenólicos nessas células parenquimáticas com espessamento em “U” (Fig. 13E). A endoderme apresenta células com paredes lignificadas e localiza-se imediatamente abaixo dessa camada parenquimática de células com espessamento em “U” (Fig. 13D).

Subjacente à endoderme, nota-se o periciclo lignificado, e com cerca de duas a três camadas de células em *D. delicata* e *D. ovata*, e de duas a quatro camadas de células em *D. tauriglossum* (Fig. 13E). O cilindro vascular é poliarco, com medula constituída exclusivamente de células parenquimáticas lignificadas (Fig. 13A, C e E).

A Tabela 2 mostra os principais caracteres distintivos entre as três espécies de *Dioscorea* estudadas.

Tabela 4: Resumo dos caracteres distintivos dos órgãos vegetativos aéreos e subterrâneos de *Dioscorea delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*.

Órgãos	Caracteres	<i>Dioscorea delicata</i>	<i>Dioscorea tauriglossum</i>	<i>Dioscorea ovata</i>
Lâmina foliar	Forma	Ovada a elíptica, ápice longamente acuminado e base cordada	Elíptica a lanceolada, ápice acuminado e base ovada a elíptica	Ovada levemente lanceolada, ápice acuminado e base levemente cordada
	Nervuras	11	9	11
	Aréolas	Quadrangular ou, raramente, pentagonal	Pentagonal	Quadrangular ou pentagonal
	Vênulas	Ausentes ou simples de forma curta	Ausentes ou simples, de forma linear ou curva, ou ramificadas uma ou duas vezes	Ausentes ou simples, de forma linear ou curva
	Terminação do mesofilo na região do bordo	2 camadas de células	2 camadas de células	2 a 3 camadas de células
	Mesofilo região intercostal	Tendendo a dorsiventral	Tendendo a dorsiventral	Dorsiventral
	Idioblastos rafídicos	Presentes	Presentes	Presentes
	Idioblastos fenólicos	Poucos	Ausentes	Muitos

Órgãos	Caracteres	<i>Dioscorea delicata</i>	<i>Dioscorea tauriglossum</i>	<i>Dioscorea ovata</i>
Pecíolo	Forma	Côncavo na face adaxial e convexo na face abaxial	Plano-convexo	Plano-convexo
	Cutícula	Leves estrias cuticulares na base dos tricomas	Ondulada e paralelas ao maior eixo do órgão	Uniforme e com pequenos cumes ao longo do maior eixo do órgão
	Tricomas glandulares	Presente	Presente	Ausente
	Tricomas tectores	Presente	Ausente	Ausente
	Idioblastos fenólicos	Presente	Ausente	Presente
	Idioblastos rafídicos	Ausente	Presente	Ausente
	Esclerificação do parênquima interfascicular	Leve	Ausente	Intensa
Caule quinto nó	Forma do caule	Circular com leves ondulações	Elipsoide	Circular
	Cutícula	Estrias sutis	Estriada e com grânulos	Estrias pronunciadas
	Tricomas	Tectores unisseriados, multicelulares de base larga	Glandulares constituídos por 6 células na cabeça	Glandulares constituídos por 6 células na cabeça
	Idioblastos rafídicos	Presentes	Presentes	Presentes

Órgãos	Caracteres	<i>Dioscorea delicata</i>	<i>Dioscorea tauriglossum</i>	<i>Dioscorea ovata</i>
	Córtex	1-2 camadas de colênquima e 3-5 camadas de parênquima clorofiliano	2-3 camadas de colênquima e 3-4 camadas de parênquima clorofiliano	1-2 camadas de colênquima e 2-3 camadas de parênquima clorofiliano
	Forma	Elipsoide	Hexagonal	Circular
Caule próximo ao solo	Córtex	1-2 camadas de colênquima e 3-4 camadas de parênquima clorofiliano	2-3 camadas de colênquima e 3-5 camadas de parênquima clorofiliano	1-2 camadas de colênquima e 4-6 camadas de parênquima clorofiliano
	Idioblastos rafídicos	Presentes	Presentes	Presentes
	Metaxilema	3 pares	3 pares	3-4 pares
	Floema	2 polos	2 polos	3 polos
	Idioblastos rafídicos	Ausentes	Presentes	Presentes
Rizóforos	Raios parenquimáticos	Presentes	Ausentes	Presentes
Raízes	Idioblastos fenólicos	Ausentes	Ausentes	Presentes
	Idioblastos rafídicos	Presentes	Ausentes	Presentes

Órgãos	Caracteres	<i>Dioscorea delicata</i>	<i>Dioscorea tauriglossum</i>	<i>Dioscorea ovata</i>
	Periciclo	2-3 camadas de células	2-4 camadas de células	2-3 camadas de células

Análises bioquímicas

Os sistemas subterrâneos espessados (rizóforos) das três espécies de *Dioscorea* estudadas, quando seccionados longitudinalmente, apresentaram diferentes colorações (Fig. 14A-C).

Em todas as espécies, os rizóforos armazenavam cerca de 90% de sua massa em água (Tabela 3).

Ao analisar as frações etanólicas e aquosas, observou-se que em relação aos açúcares totais, os valores de *D. ovata* eram superiores aos encontrados em *D. delicata* e *D. tauriglossum* (Tabela 3). Em contraste, os açúcares redutores presentes em *D. tauriglossum* eram mais abundantes (29,75 %) do que aqueles encontrados em *D. delicata* e *D. ovata* (6,25 % e 12,06 %, respectivamente) (Tabela 3).

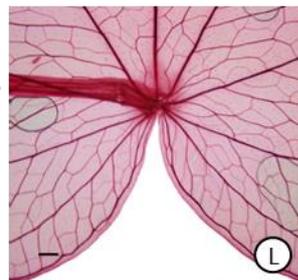
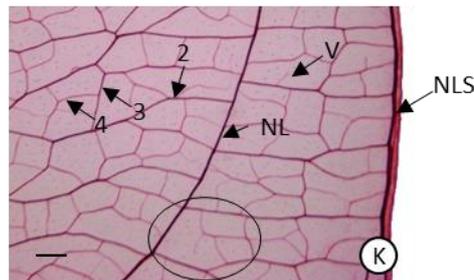
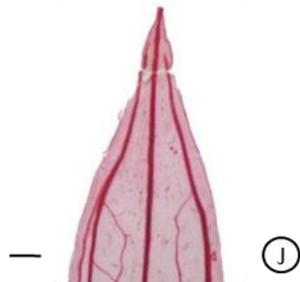
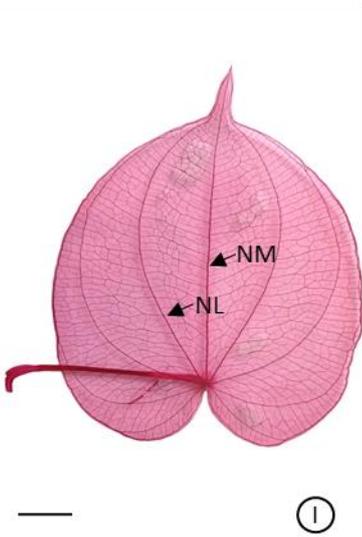
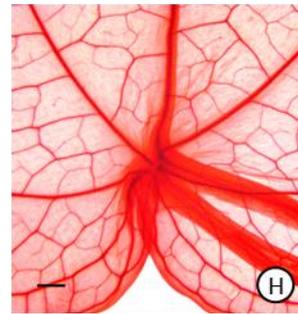
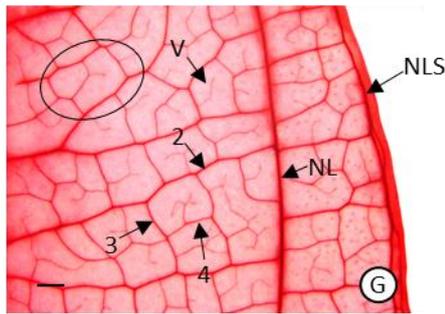
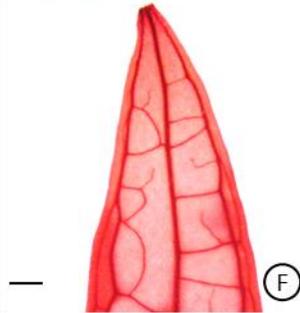
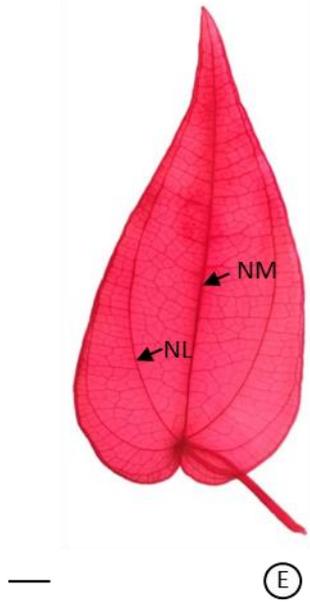
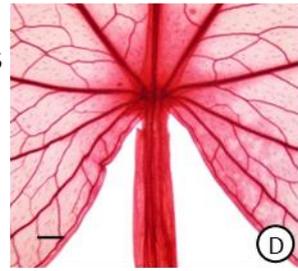
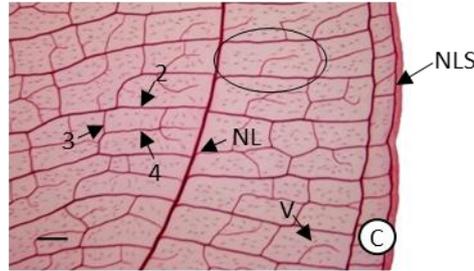
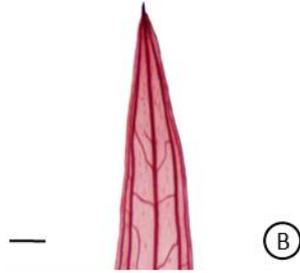
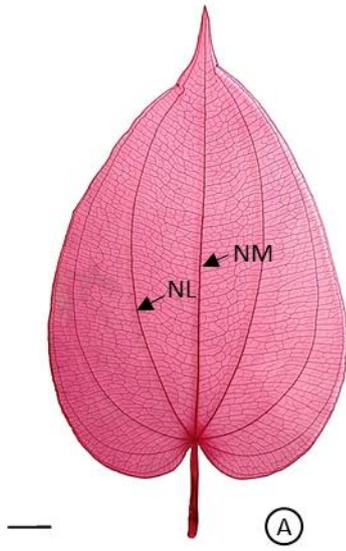
O principal carboidrato de reserva observado nos rizóforos das espécies analisadas foi o amido. As análises quantitativas mostraram que os valores encontrados em *D. delicata* eram superiores àqueles encontrados nas demais espécies (Tabela 3), atingindo 49,25 % da massa seca, enquanto *D. ovata* e *D. tauriglossum* alcançaram valores 8,76 % e 7,81 %, respectivamente.

Os conteúdos de proteínas solúveis dos sistemas subterrâneos foram inferiores a 8,0% nas espécies analisadas (Tabela 3).

A Figura 15 apresenta o perfil cromatográfico por HPAEC/PAD dos açúcares solúveis totais dos rizóforos das espécies analisadas. A distribuição dos carboidratos foi semelhante em *D. tauriglossum* e *D. ovata*, mostrando picos de sacarose maiores que os de glucose, que, por sua vez, são maiores que os de frutose, enquanto em *D. delicata* nota-se o pico de glucose superior aos picos de frutose e sacarose.

Tabela 3: Teores dos compostos de reserva em porcentagem (%) com base na massa seca dos rizóforos de espécies de *Dioscorea*.

Espécies	Teor de água (%)	Carboidratos solúveis (%)	Carboidratos redutores (%)	Amido (%)	Proteínas solúveis (%)
<i>D. delicata</i>	90,52	10,34	6,25	49,25	7,80
<i>D. tauriglossum</i>	91,96	10,07	29,75	7,81	5,14
<i>D. ovata</i>	93,48	21,69	12,06	8,76	1,77





—

Ⓓ

—

Ⓔ

—

Ⓕ

—

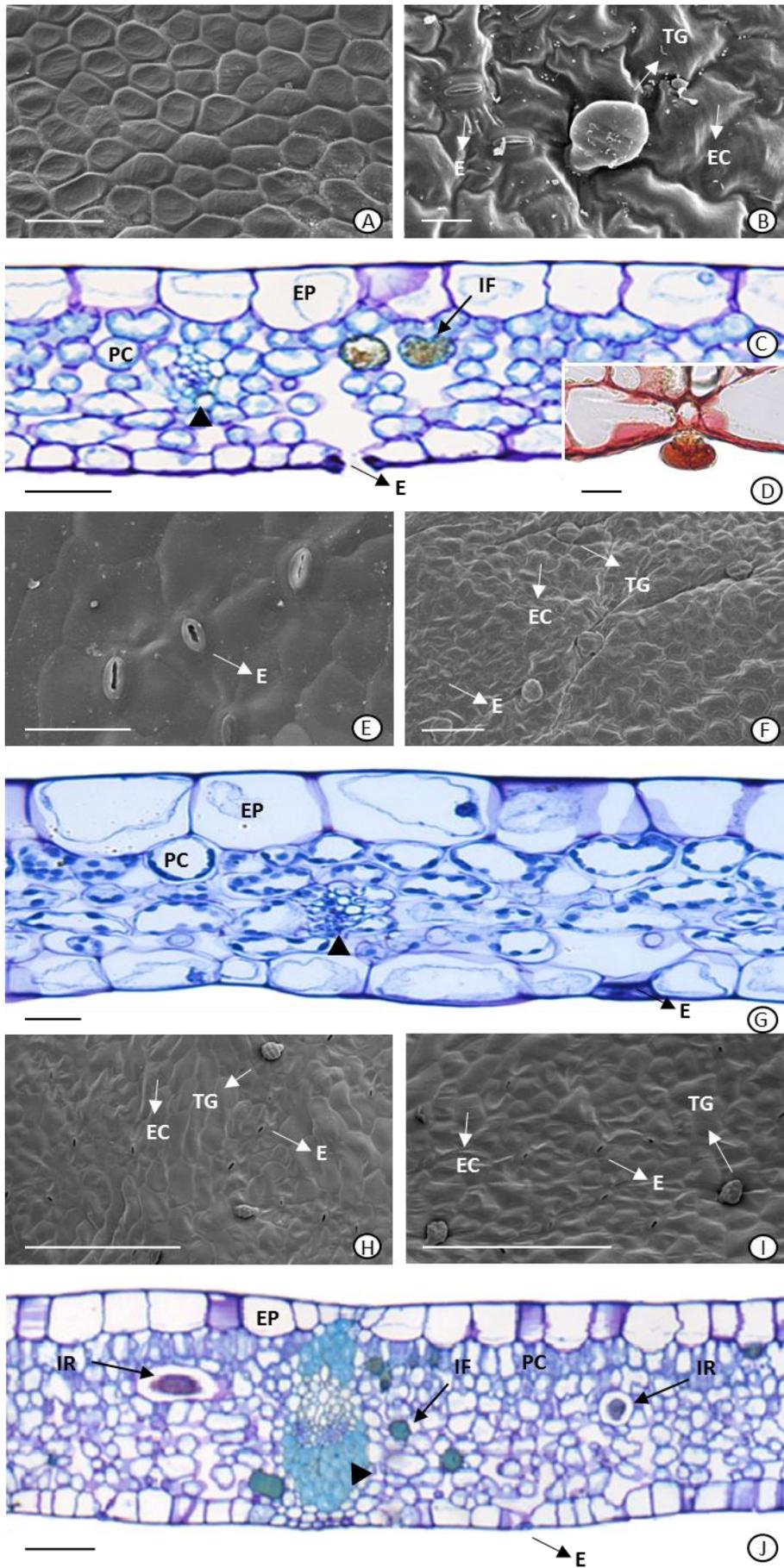
Ⓖ

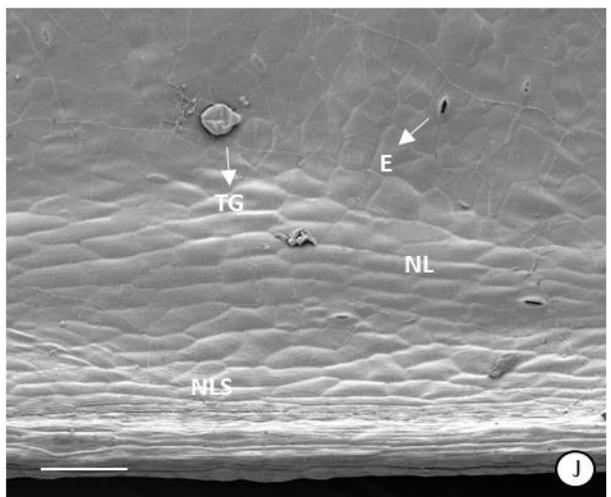
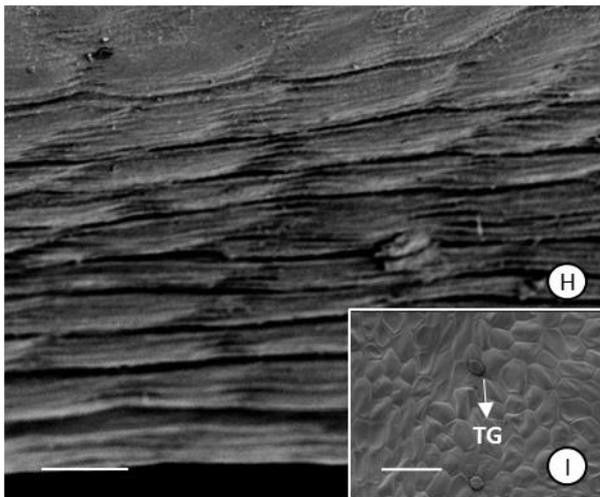
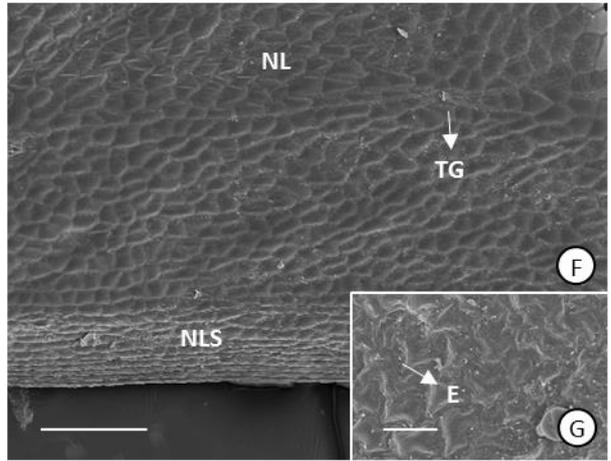
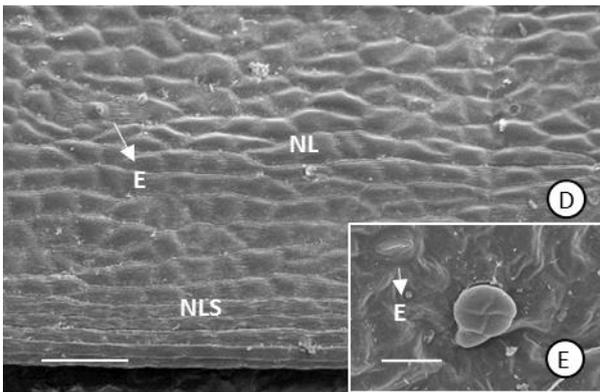
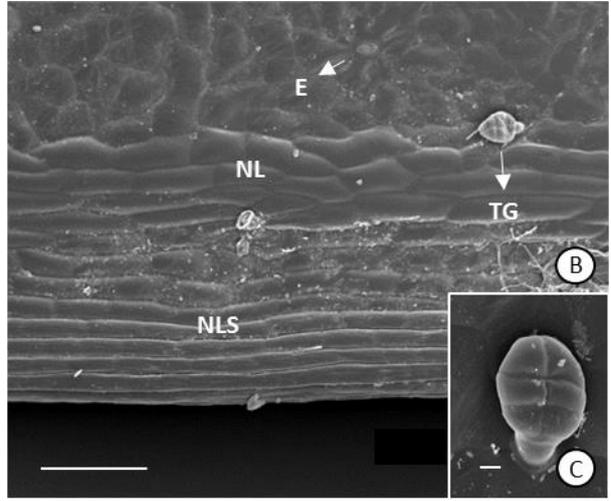
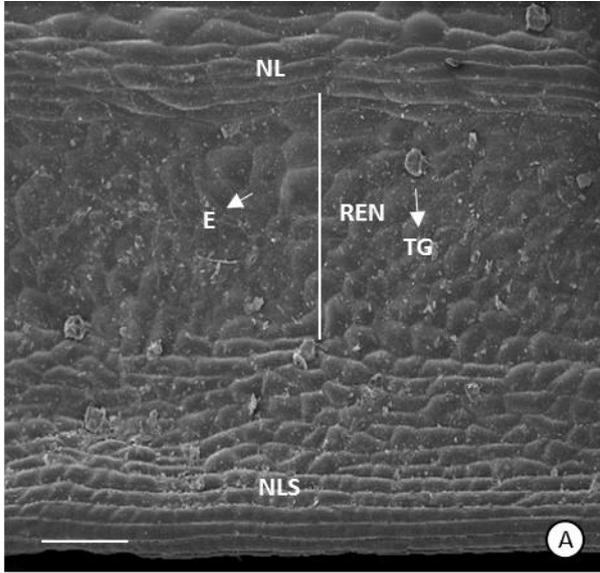
—

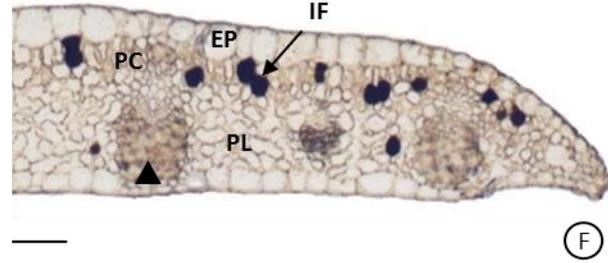
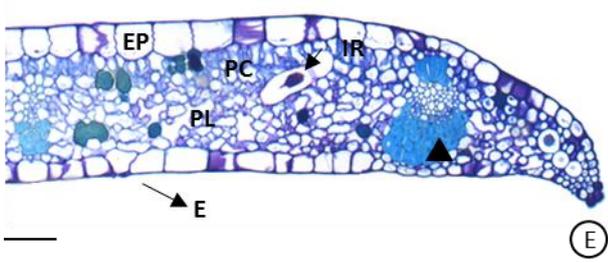
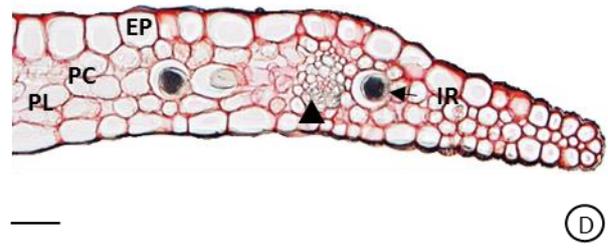
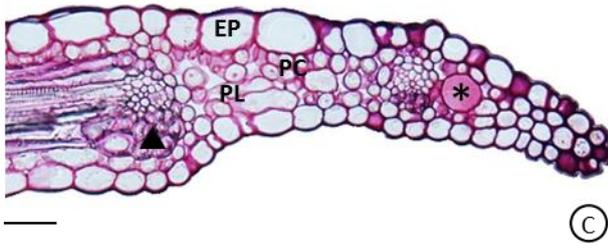
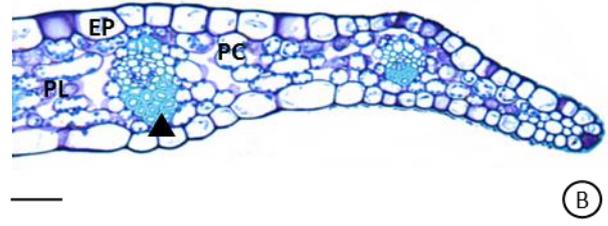
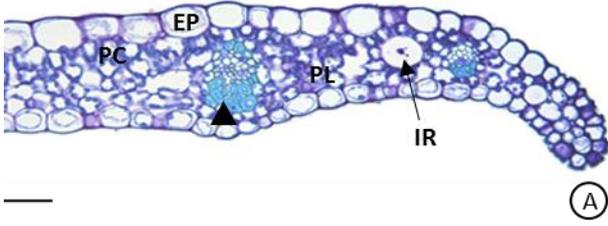
Ⓗ

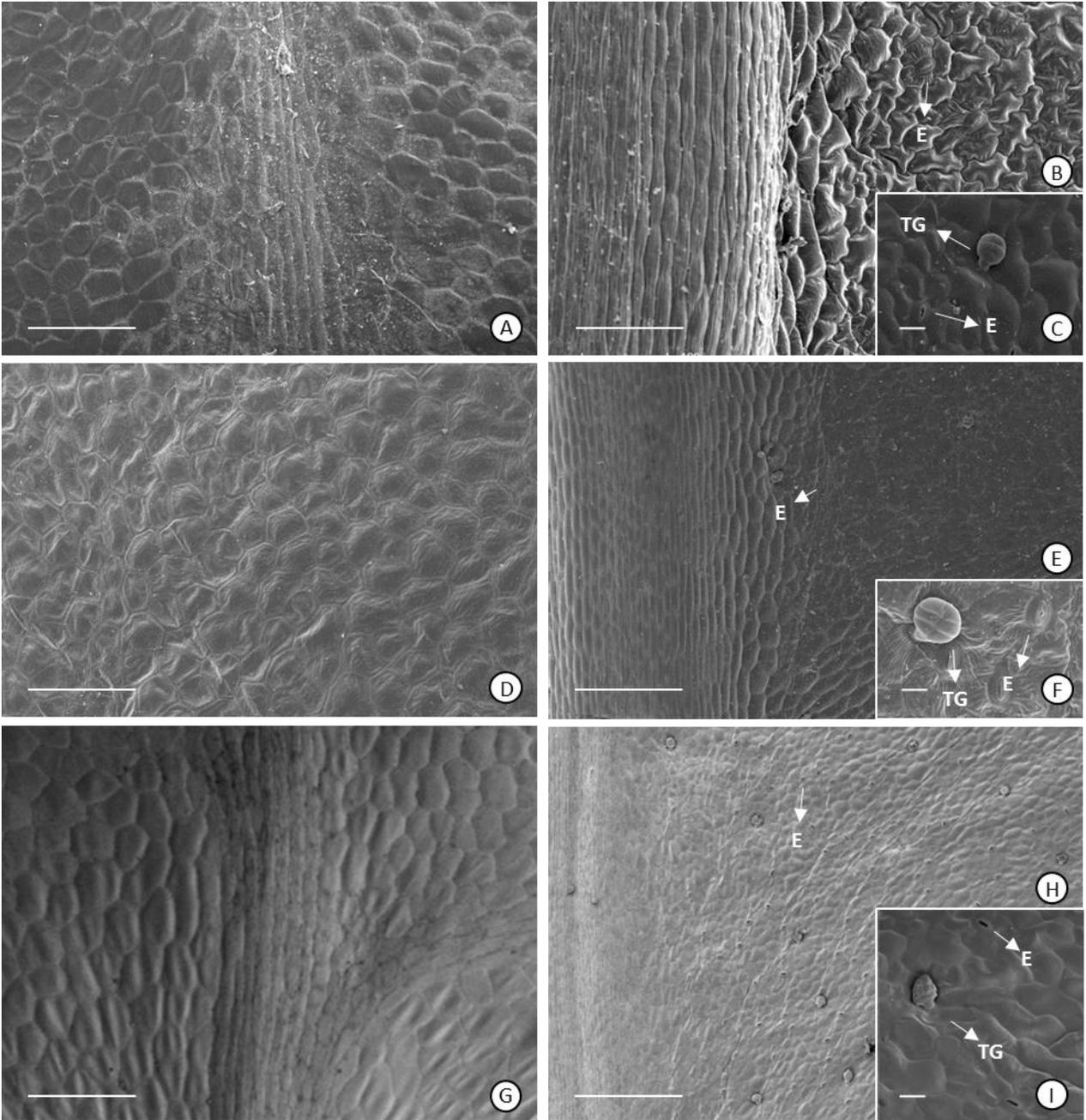
—

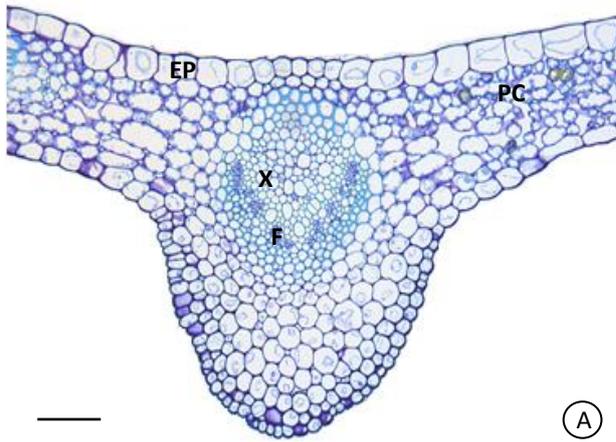
Ⓘ



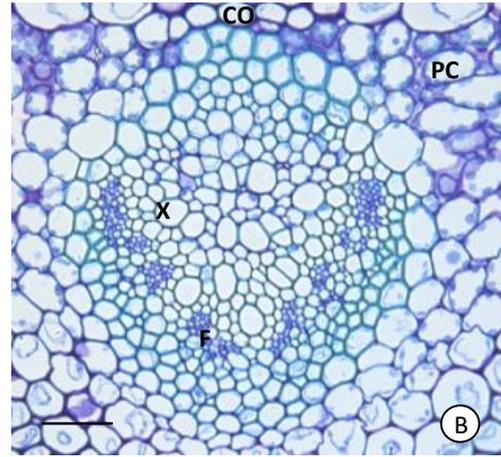




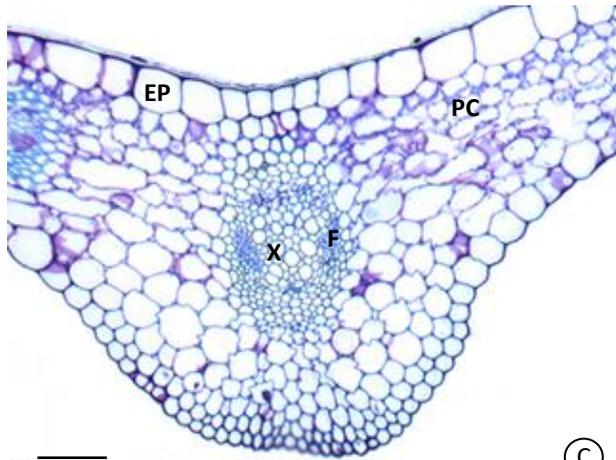




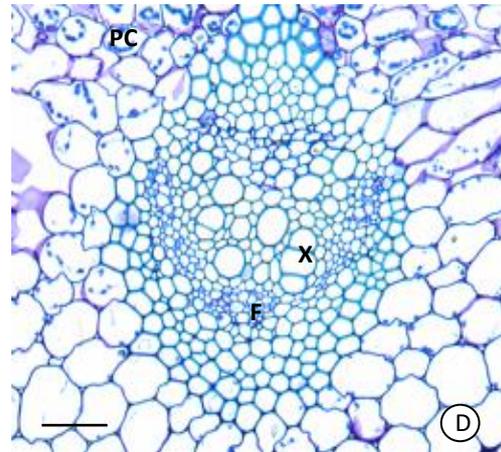
(A)



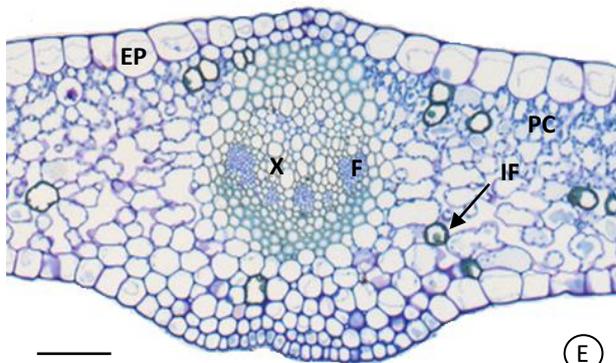
(B)



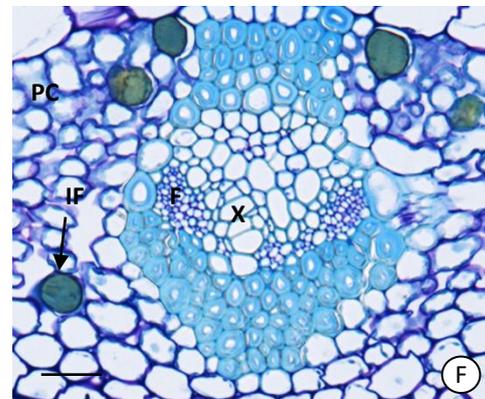
(C)



(D)



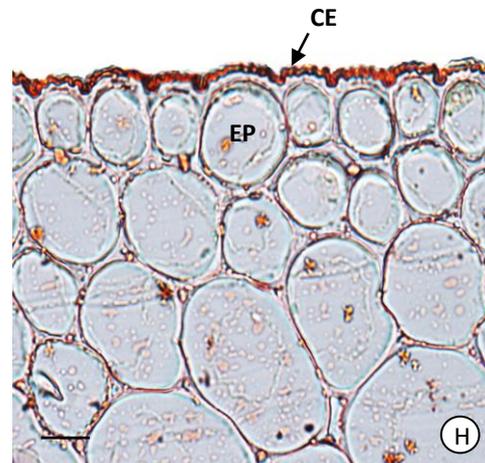
(E)



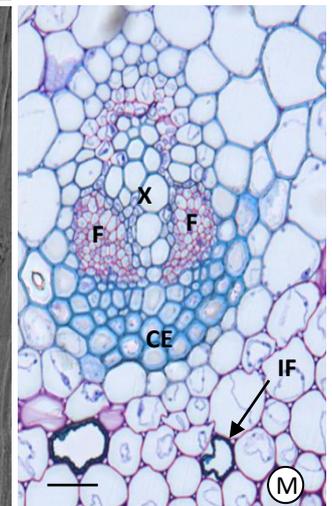
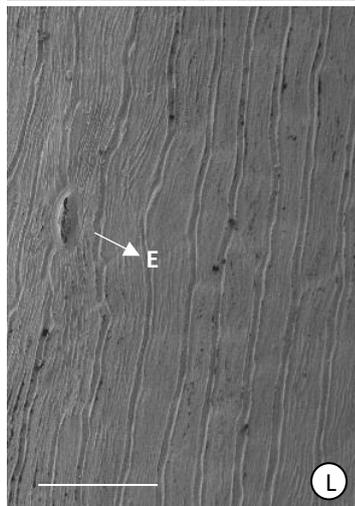
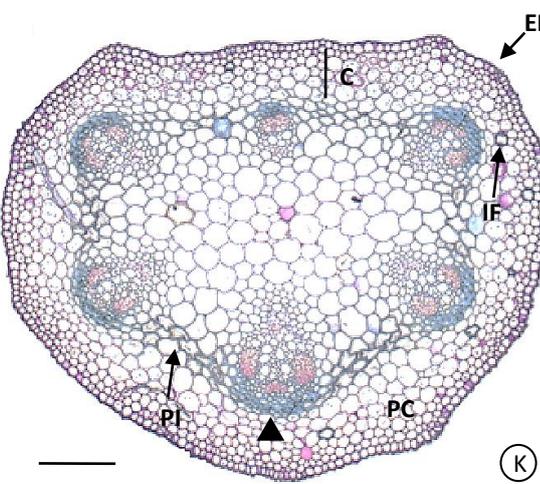
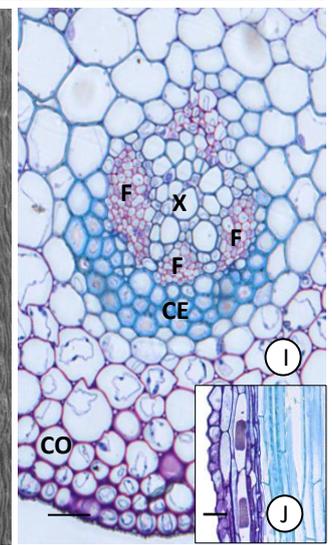
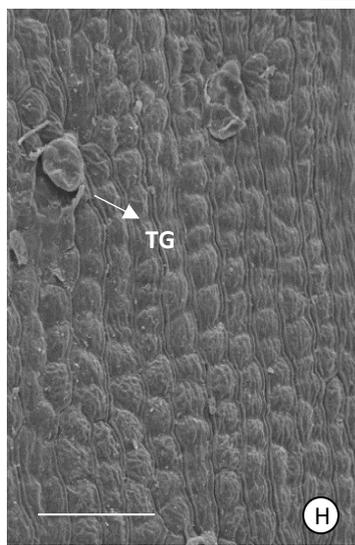
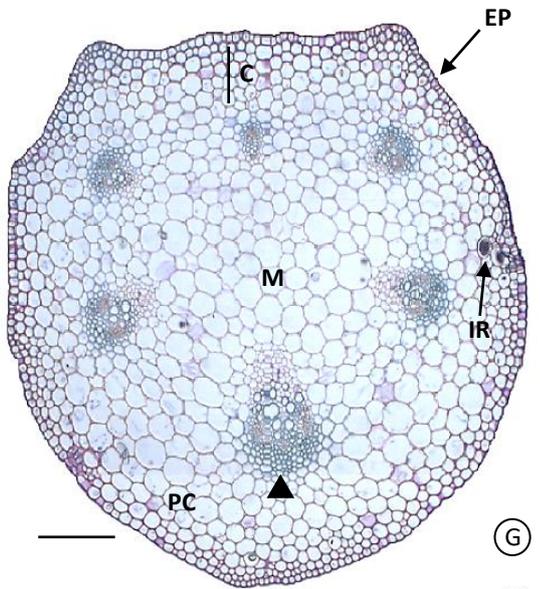
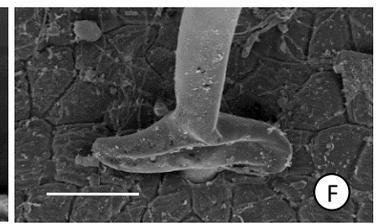
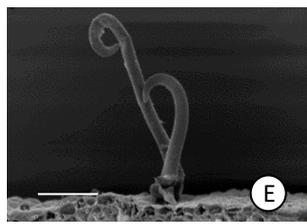
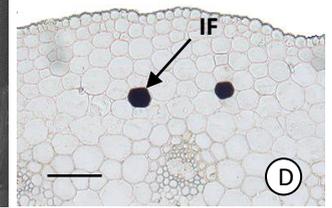
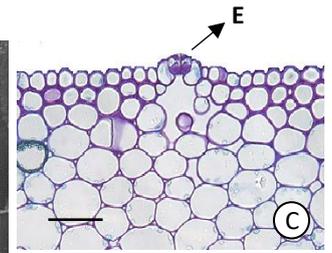
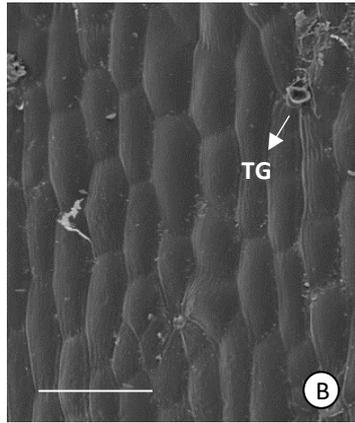
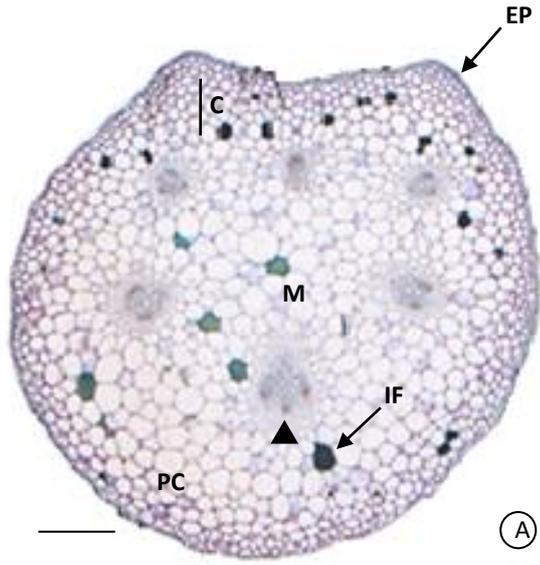
(F)

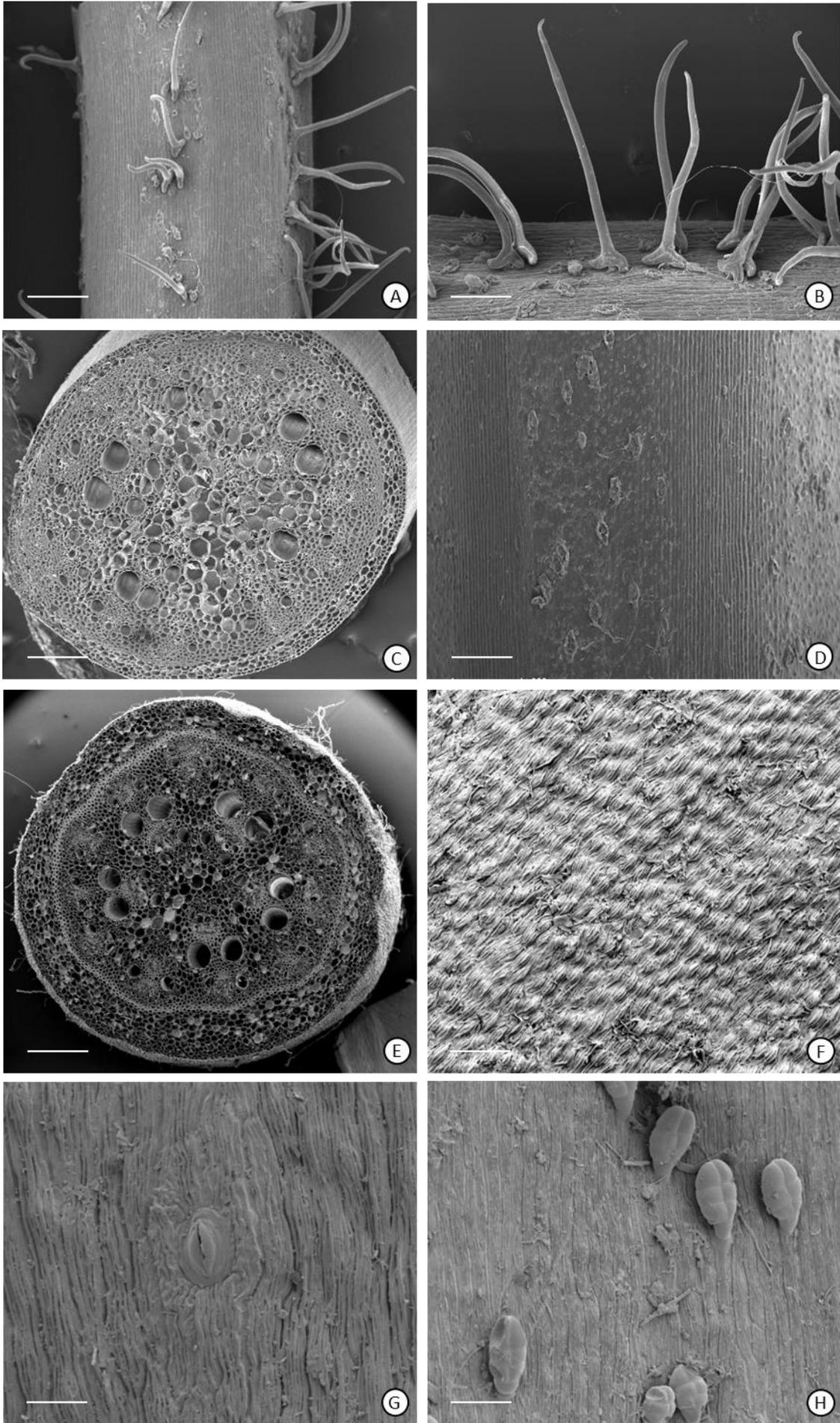


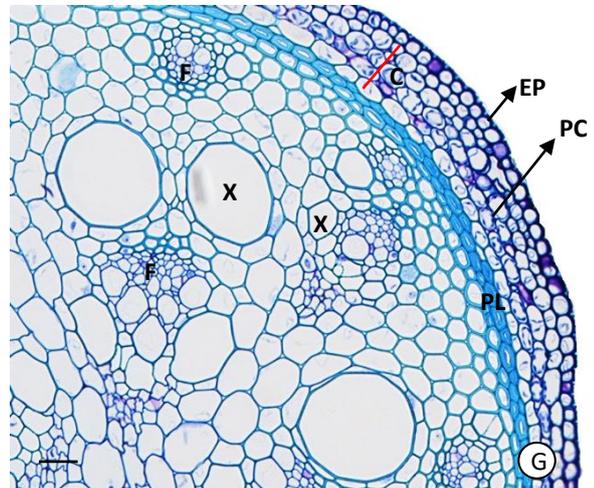
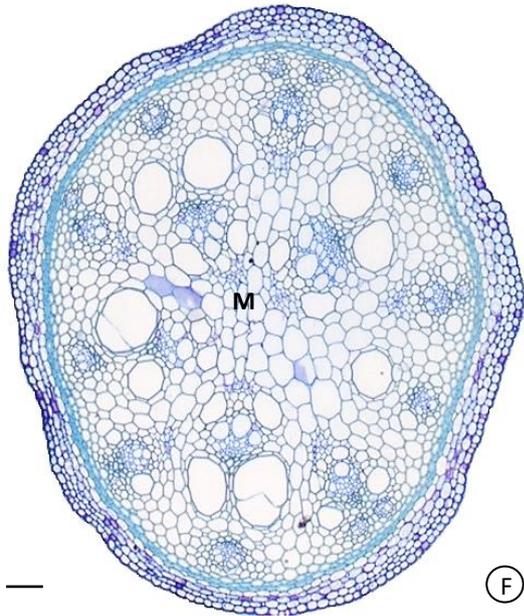
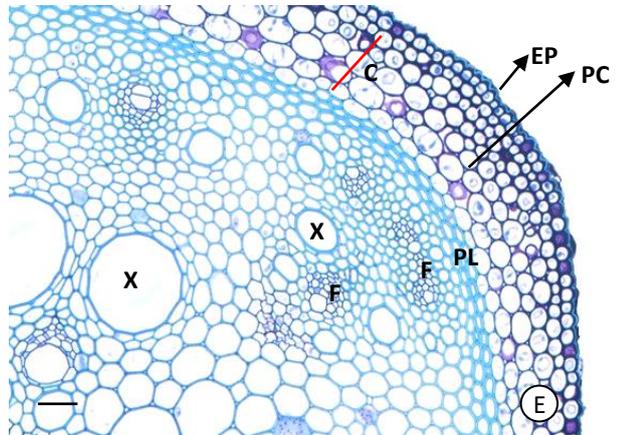
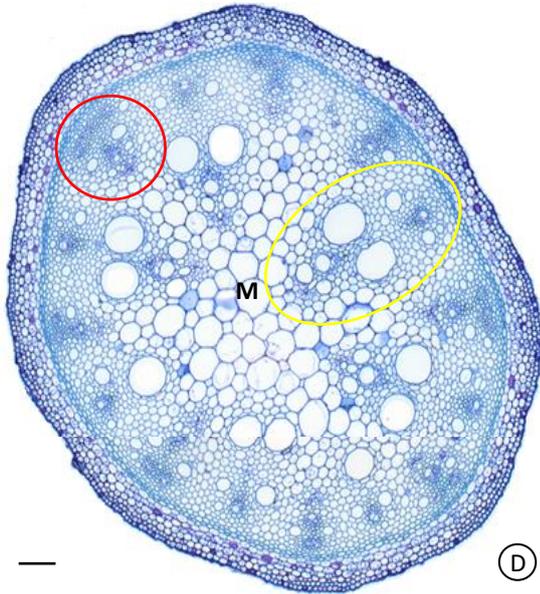
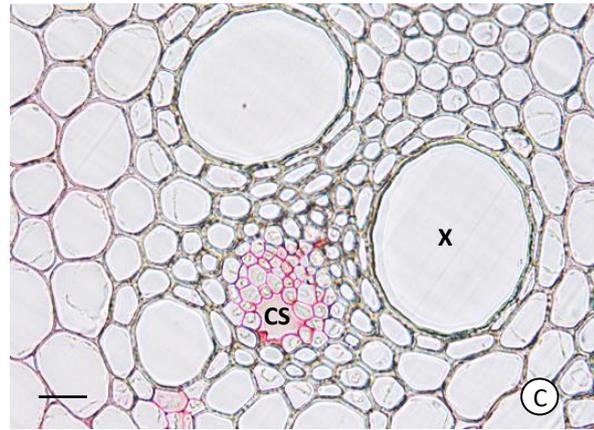
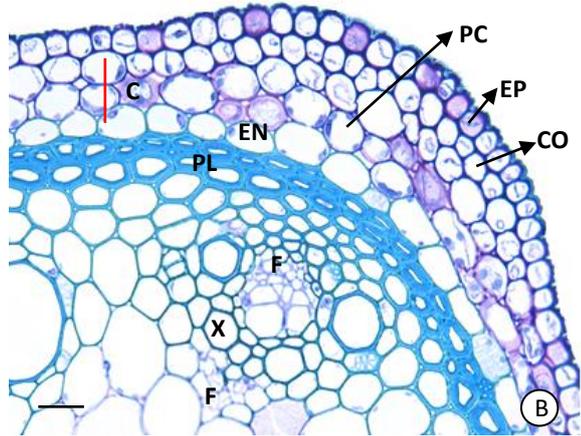
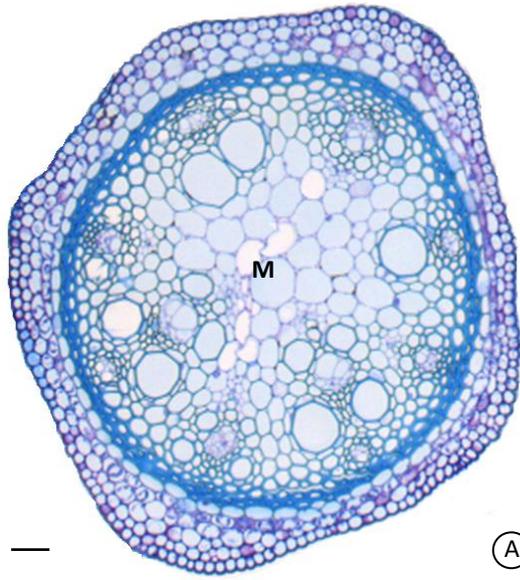
(G)

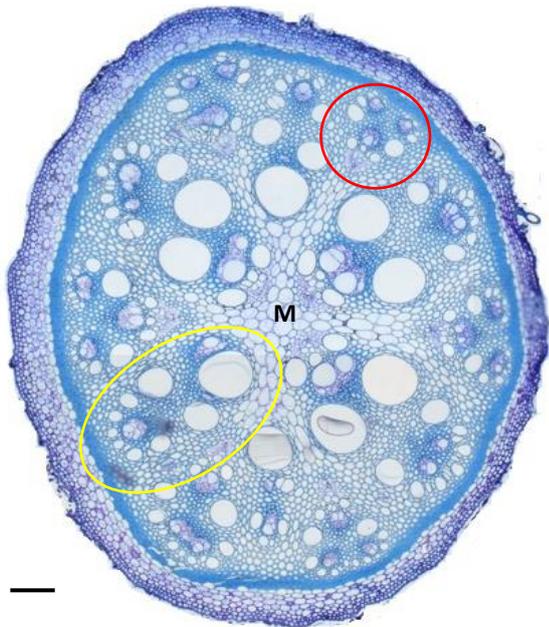


(H)

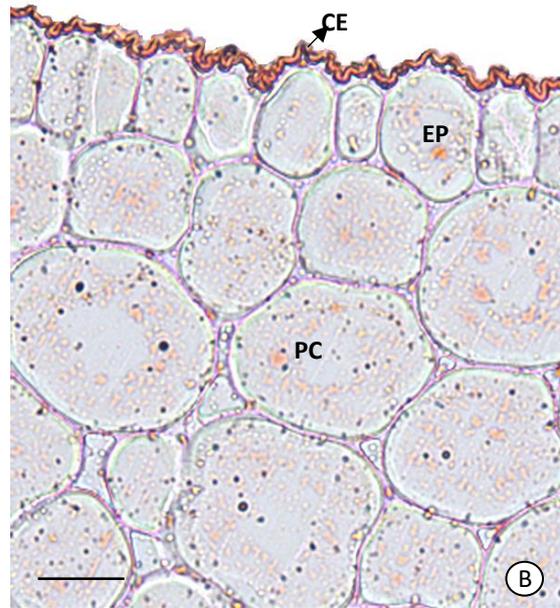




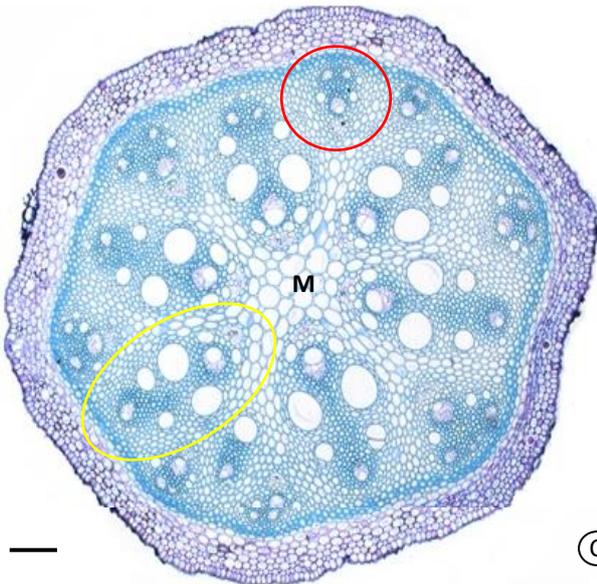




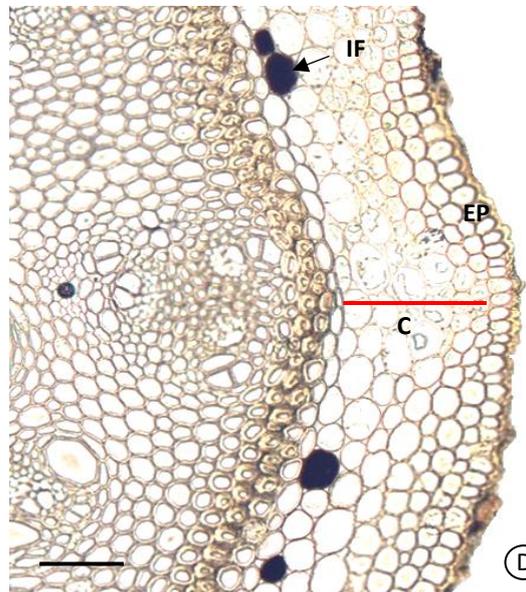
(A)



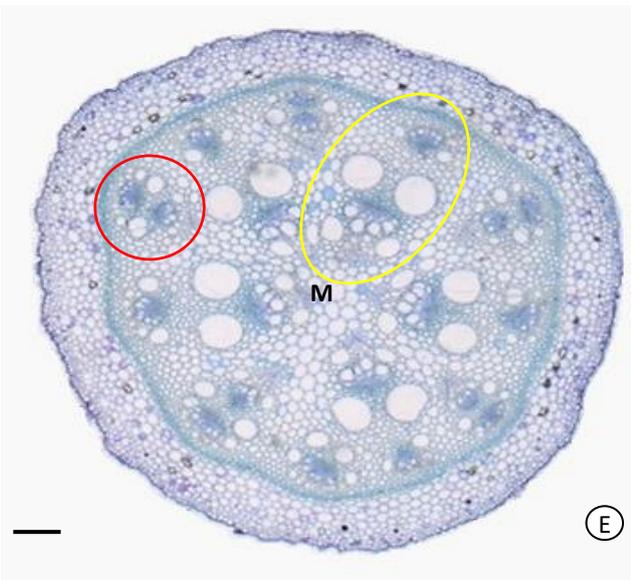
(B)



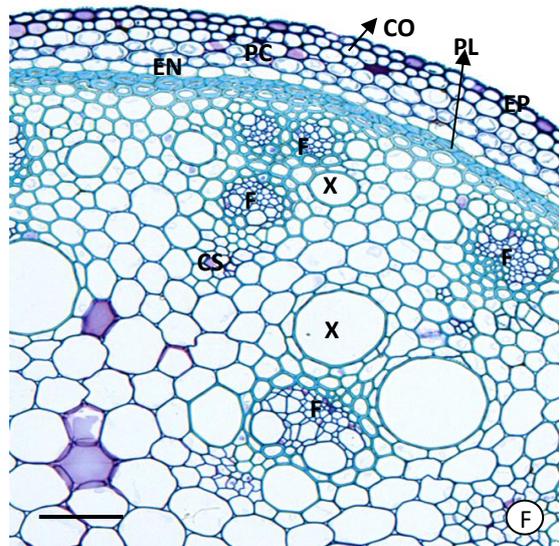
(C)



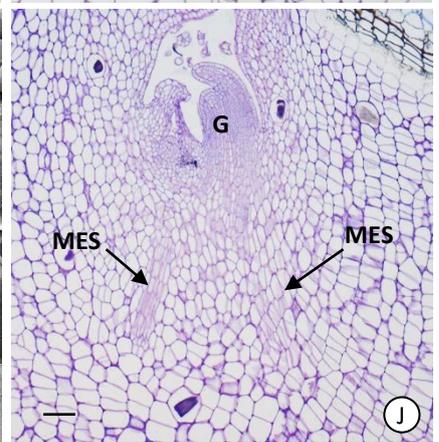
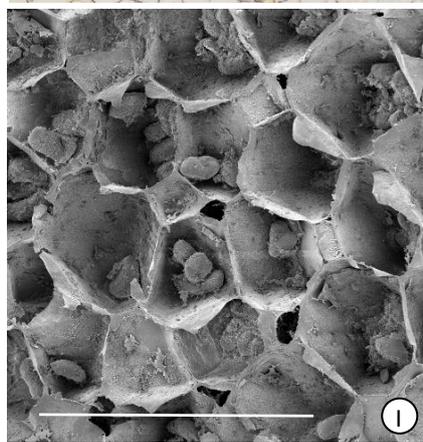
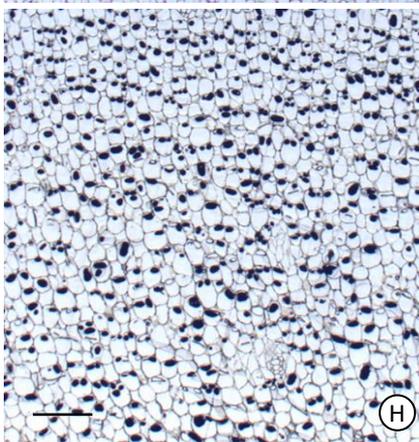
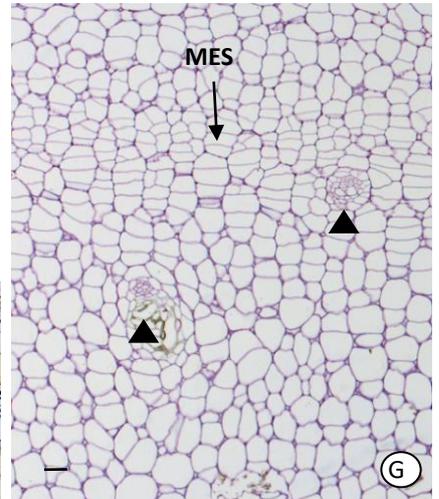
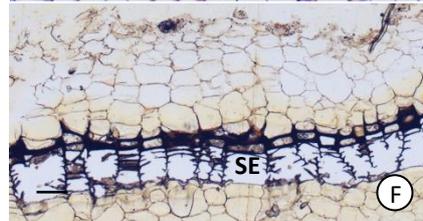
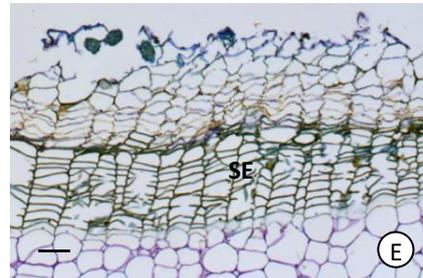
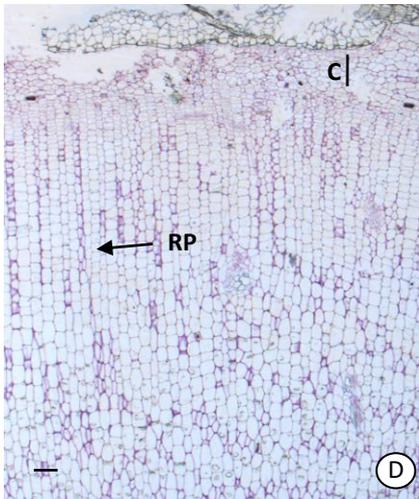
(D)

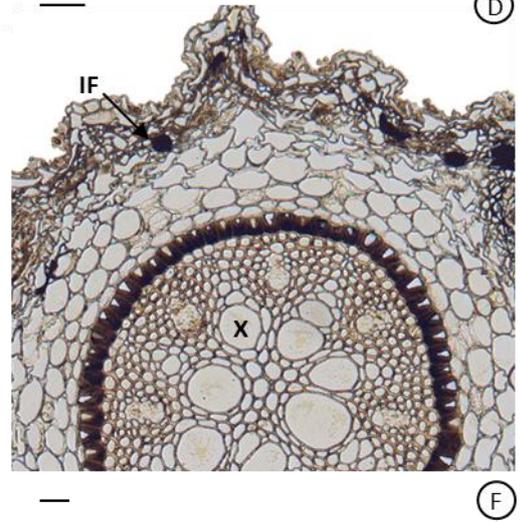
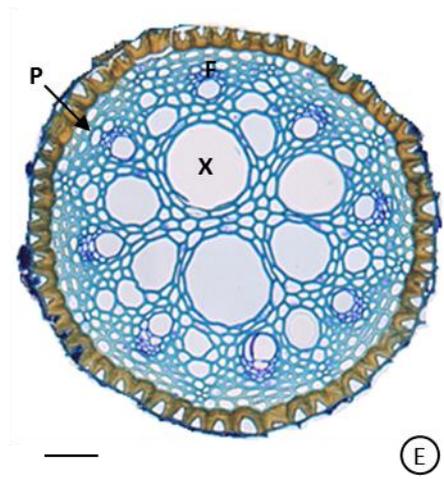
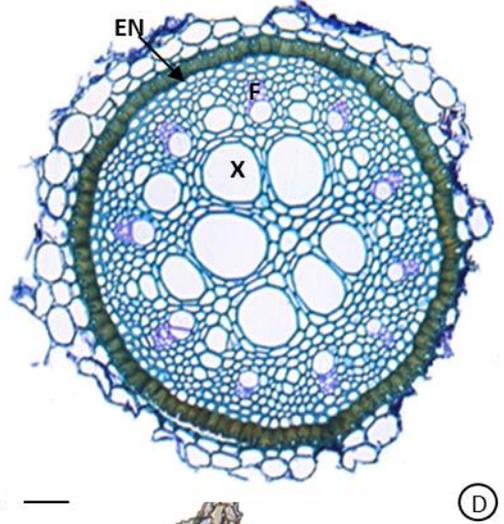
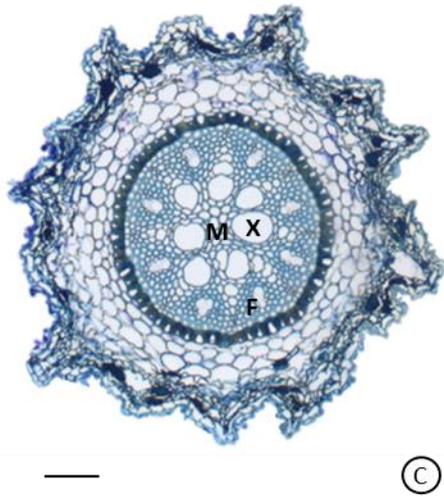
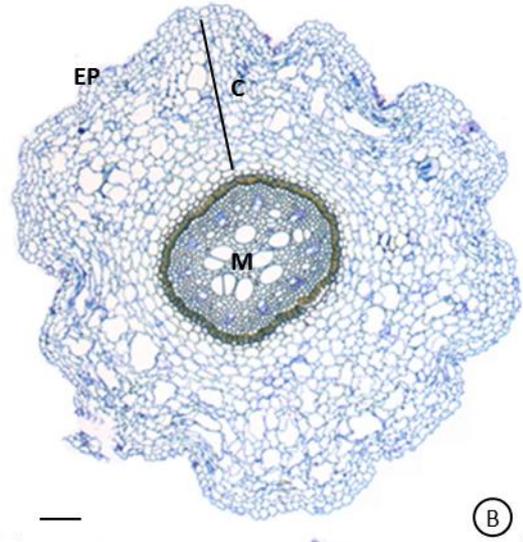
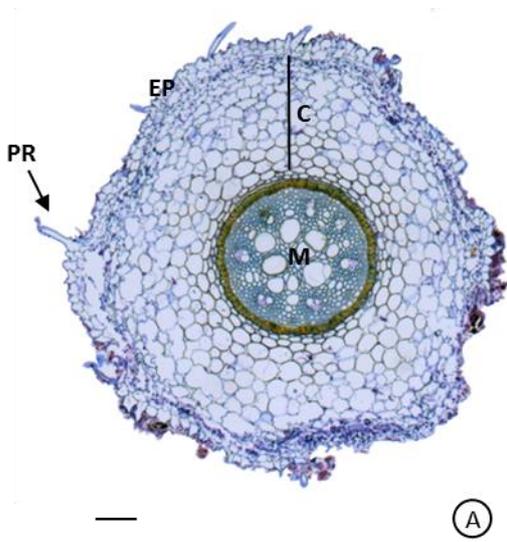


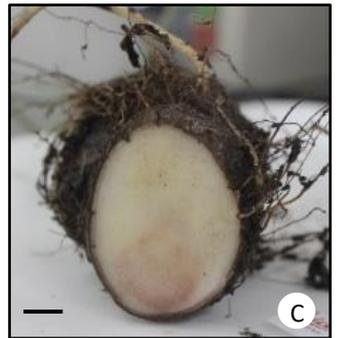
(E)

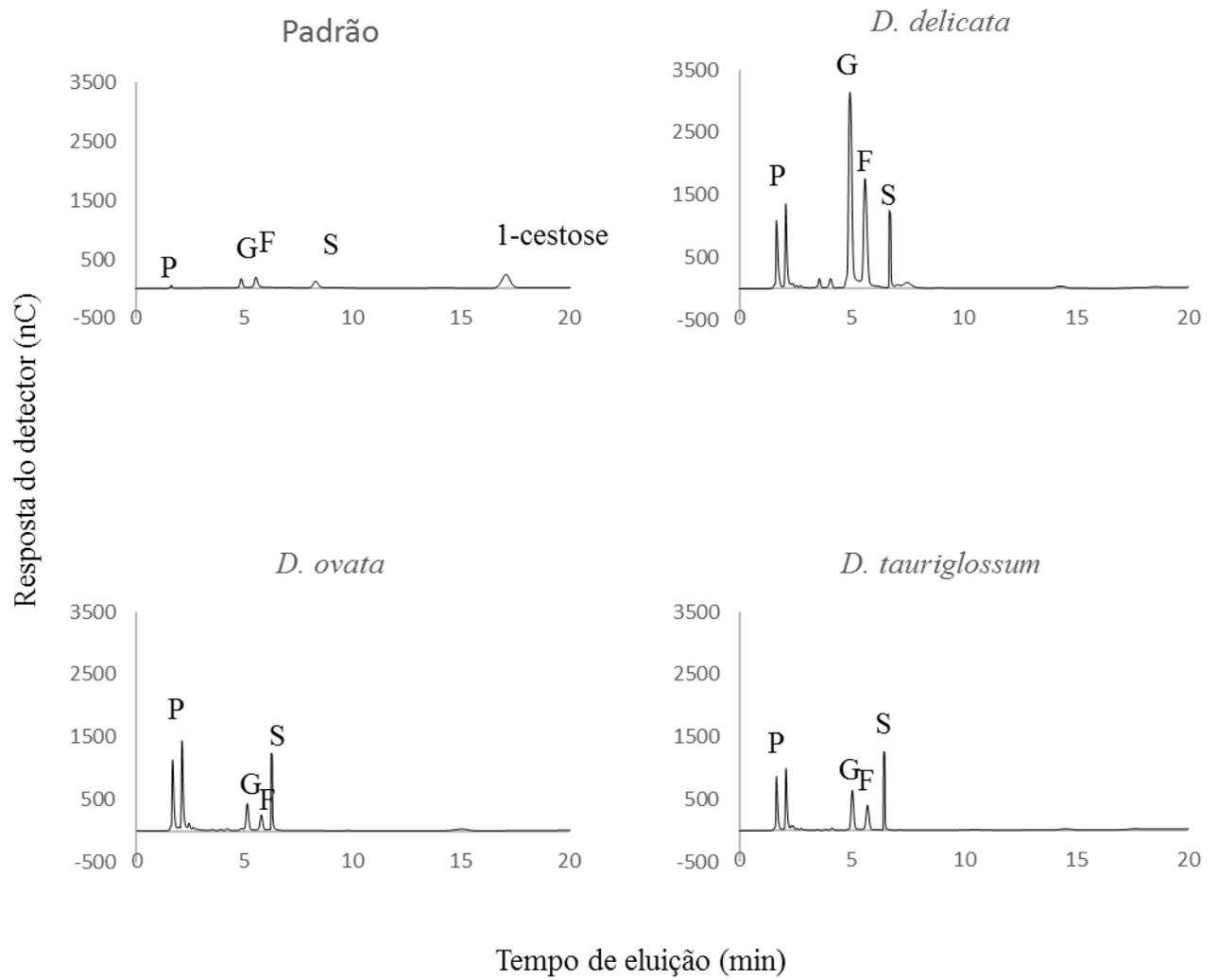


(F)









Discussão

Vários autores (Burkill 1960, Ayensu 1972, Barroso *et al.* 1974, Xifreda 2000, Cardoso 2001, Abdulrahaman *et al.* 2009, Aina & Atumeyi 2011, Odimegwu *et al.* 2013, Sonibare & Adeniran 2014) utilizaram dados anatômicos para a separação eficiente de espécies de *Dioscorea*. Os resultados aqui apresentados, como o número de nervuras, forma das aréolas e vênulas, padrões de ornamentação, tipos de tricomas, composição do mesofilo, presença ou ausência de idioblastos fenólicos e rafídicos, desempenharam papel importante na diferenciação das espécies sinonimizadas intimamente relacionadas.

Em relação ao padrão de venação dos órgãos foliares, estes sempre se fizeram úteis quando características florais não são muito esclarecedoras, fato este, observado frequentemente em *Dioscorea* (Stace 1989, Pedralli 1997). As espécies aqui estudadas diferiram em relação ao número de nervuras que partem do pecíolo, sendo em *D. tauriglossum* nove e *D. delicata* e *D. ovata* onze, mas o padrão de venação foi reticulado com disposição campilódroma nas três espécies. Conforme discutido por Burkill (1960), o número de nervuras da lâmina foliar e sua disposição constituem caracteres importantes de valor diagnóstico em nível específico. Inamdar *et al.* (1983) ao analisarem a arquitetura foliar de espécies exóticas de *Dioscorea*, observaram que os padrões de venação eram constantes, sendo nas espécies de folhas simples do tipo campilódromo, enquanto nas espécies de folhas compostas do tipo acródromo. Nas famílias Dioscoreaceae e Smilacaceae pode haver variações em relação à disposição das nervuras, porém, as espécies preservam o padrão de nervação reticulado (Tomlinson 1974, Rudall 2007). Por essas similaridades, incluindo as folhas pecioladas, Burkill (1960) sugeriu que os grupos portadores destes caracteres possam ser considerados elos entre as dicotiledôneas e as monocotiledôneas mais basais.

Ainda nas espécies aqui estudadas, foram observadas uniões consecutivas das nervuras laterais em diferentes níveis da folha, resultando em três nervuras convergindo no ápice. Essa característica foi observada em todas as espécies de folhas simples estudadas por Burkill (1960), que verificou que as nervuras laterais possuem forma arqueada em *Dioscorea*.

As formas das vênulas, juntamente com outros caracteres diagnósticos, podem auxiliar na separação das espécies, sendo ausentes ou de forma curva em *D. delicata*; em *D. tauriglossum* podem ser ausentes, simples de forma linear ou curva e ramificadas de uma a duas vezes e, em *D. ovata*, ausentes ou simples de forma linear ou curva. São escassos os trabalhos que abordem estas características da arquitetura foliar de espécies brasileiras de *Dioscorea*. Na Flora de Guanabara, um dos trabalhos mais importantes com esse gênero, Barroso *et al.* (1974) realizaram a diafanização das folhas, porém, descreveram somente as nervuras de maior calibre, não se atentando às formas das aréolas e vênulas como caracteres distintivos.

Metcalf & Chalk (1979) mencionam que a ornamentação da cutícula constitui caráter anatômico que pode ser utilizado com fins taxonômicos. Nas análises das ornamentações cuticulares do pecíolo, *D. delicata* apresentou estrias radiais em torno dos estômatos, enquanto em *D. ovata* e *D. tauriglossum* observou-se estrias onduladas, sendo menos e mais espessas, respectivamente. Ayensu (1972) afirma que em *D. macroura* e *D. samydea*, a epiderme possui estrias cuticulares, principalmente em torno dos estômatos, ao passo que em *D. sansibarensis* as estrias são leves a quase ausentes, reforçando que a ornamentação da cutícula pode auxiliar no delineamento taxonômico em nível específico.

O tipo de estômato nas espécies aqui analisadas são predominantemente anomocítico e anisocítico, ocorrendo em ambas as faces foliares. Abdulrahman *et al.* (2009) observaram em seis espécies de *Dioscorea* os tipos paracítico, tetracítico, anisocítico ou diacítico, concordando com Aina & Atumeyi (2011) e Sonibare & Adeniran (2014), que ressaltam o potencial diagnóstico dos tipos de estômato. De acordo com Ayensu (1972), a presença de estômatos na

face abaxial é comum em espécies de *Dioscorea*, exceto em *D. campestris* e *D. bulbifera*, cujos estômatos são observados apenas na face adaxial. O tipo de estômato não foi um caráter eficiente para a delimitação das espécies aqui analisadas.

Ao analisar os cortes transversais da epiderme de *D. delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*, observaram-se células de tamanhos diferenciados, semelhantes ao descrito por Cardoso (2001) para a epiderme de *D. anomala*. Essa autora observa que a face adaxial da lâmina é composta por células buliformes, e a face abaxial possui células epidérmicas menores na região das costelas, considerando que essas características são fortemente xerofíticas. Ao analisar as demais características estruturais das espécies-alvo deste estudo, não foi possível concluir que essas plantas possuam anatomia xeromórfica, visto que, apesar da epiderme diferenciada, essas plantas carecem de outras características estruturais que possam com certeza estabelecer esse tipo de interpretação.

Ayensu (1972) constatou a presença de três tipos morfológicos distintos de estruturas secretoras em *Dioscorea*: tricomas glandulares multicelulares (constituídos por um pedúnculo unicelular e uma cabeça do tipo bulbo), nectários extraflorais e uma glândula no ápice da lâmina foliar, porém, este autor descreveu esta glândula de maneira superficial, não identificando de qual tipo de estrutura secretora se tratava. Durante as análises ultraestruturais do ápice da lâmina foliar das três espécies de *Dioscorea* estudadas, não foram observadas estruturas secretoras semelhantes às mencionadas por Ayensu (1972) e Uline (1897). Este último autor descreveu hidatódios na região apical da lâmina foliar de *Dioscorea macroura*.

Nas espécies estudadas, os tricomas glandulares da lâmina foliar são multicelulares, constituídos por seis células na região da cabeça, uma na região do pedúnculo e uma na região basal, como também observado por Ayensu (1972). Aina & Atumeyi (2011) consideram o número e tipos de tricomas importantes para a separação taxonômica de espécies de *Dioscorea* relativamente próximas, o que não coube às espécies aqui analisadas.

Em *D. tauriglossum* foram observados cristais de oxalato de cálcio em todos os órgãos, excetuando as raízes. Já em *D. ovata* são ausentes no pecíolo e, em *D. delicata*, os cristais são ausentes no pecíolo e sistema subterrâneo. Em todas as espécies analisadas foi possível constatar a presença de idioblastos portando cristais imersos ou não em matriz mucilaginosa. Raman *et al.* (2014) dividem os cristais do tipo ráfide em seis diferentes categorias morfológicas, sendo os tipos V e VI exclusivos de *Dioscorea*. Estes tipos diferem, majoritariamente, por possuírem agulhas com seis a oito lados no tipo V e quatro lados no tipo VI. Ainda, mencionam que os cristais de *Dioscorea* possuem características únicas e exclusivas, isto é, de estarem imersos em matriz mucilaginosa.

Edeoga & Okoli (1995) analisaram dez espécies de *Dioscorea* e observaram ráfides de oxalato de cálcio na base dos tricomas tectores e dentro dos cloroplastos de *D. minutiflora*, *D. hirtiflora* e *D. rotundata*. Tais autores utilizaram os locais de ocorrência e densidade de cristais como caráter diagnóstico para separação específica. Ayensu (1972), em seu estudo anatômico comparativo, resalta a importância taxonômica dos cristais como fator distintivo em nível específico. Okoli & Green (1987), ao analisarem sete espécies de *Dioscorea*, encontraram na região do hilo dos grãos de amido, cristais de oxalato de cálcio de diferentes tamanhos e confirmam que essa disposição, bem como o tamanho dos cristais, tem potencial diagnóstico específico.

O pecíolo de *Dioscorea ovata* apresenta intensa esclerificação do parênquima interfascicular, em *D. delicata* observou-se idioblastos fenólicos e, em *D. tauriglossum*, apenas idioblastos rafídicos, mostrando a eficiência deste órgão na separação das espécies aqui analisadas. Ayensu (1972) menciona que há grande variação no tamanho e forma dos pecíolos em *Dioscorea* e que algumas espécies com o pecíolo de forma pentagonal podem portar alas, como observado em *D. altissima*. Ainda, em seu estudo sobre Dioscoreales, o pecíolo possibilitou a separação dos táxons de maneira eficiente, característica também encontrada em

espécies nativas estudadas por Barroso *et al.* (1974), que adicionalmente utilizaram o número de feixes no pecíolo como caráter distintivo.

Ao analisar a ornamentação cuticular do caule na altura do quinto nó, observa-se a presença de tricomas unisseriados de base larga ordenados em fileira em *D. delicata*, e em *D. ovata* e *D. tauriglossum*, tricomas glandulares constituídos por uma célula basal, uma célula formando o pedúnculo e seis células secretoras na região da cabeça.

A presença de estrias, tricomas, acúleos e espinhos pode ter potencial taxonômico específico (Burkill 1960). Nas espécies-alvo do estudo, o caule apresentou deposição da cutícula na forma de estrias paralelas ao eixo longitudinal do órgão, porém, em *D. tauriglossum*, essas estrias se apresentaram em faixas alternas às faixas da cutícula depositada na forma de grânulos.

Cardoso (2001) estudou diferentes porções do caule de *D. anomala* e observou que o tamanho da região medular aumenta quanto mais próximo do ápice. Este caráter foi possível de ser observado nas espécies aqui estudadas, ademais, nota-se a lignificação progressiva do parênquima em sentido ao interior do órgão.

Existe uma grande controvérsia quanto à presença de uma camada endodérmica distinta no caule em *Dioscorea*, esta observada nas espécies aqui analisadas. Ayensu (1970, 1972) estudou detalhadamente o caule das *Dioscorea* e descreveu a presença de uma camada uniestratificada que denominou como “camada endodermóide”. O autor considera que essa camada endodermóide não possui características que permitam ser identificada como uma endoderme verdadeira, visto que apesar de apresentar espessamento em U, carece de estrias de Caspary em suas paredes, não constituindo uma camada endodérmica verdadeira. Posteriormente, Menezes *et al.* (2005) concordaram com Williams (1947) e Van Fleet (1961) de que a endoderme dos caules aéreos e subterrâneos não é caracterizada pela presença de estrias de Caspary e paredes suberizadas, mas sim por ser a camada mais interna do córtex das

raízes, caules e pecíolos.

Nas espécies-alvo deste estudo observaram-se ráfides no parênquima cortical do caule na altura do quinto nó e na região basal. Xifreda (1990a, b) observou cristais nas células endodérmicas de *D. multiflora* e *D. hassleriana* e denomina essa formação como sendo uma bainha cristalífera. Ainda, ressalta a presença dessa bainha como caráter que pode ser empregado com fins taxonômicos, caráter não observado nas espécies aqui analisadas.

O caule de todas as espécies estudadas apresentou dois tipos de feixes vasculares, dispostos de maneira circular e concêntrica, sendo intercalados e formando dois anéis de alturas diferentes. Segundo Ayensu (1969), os feixes diferem em estrutura, sendo que os feixes maiores formam um V com polos de floema em suas extremidades, enquanto os menores possuem forma elipsoidal. Xifreda (1990a, 1990b) menciona que a disposição do floema em polos pode estar estritamente relacionada com seu hábito trepador e, Rocha & Menezes (1997) acreditam que os feixes denominados menores se tratam de traços foliares. Ayensu (1972) menciona que o número de polos de floema é caráter importante na distinção de espécies do antigo e novo mundo, sendo as do antigo mundo portadoras de dois polos de floema, enquanto as do novo mundo portam apenas um polo de floema. Nas espécies aqui analisadas observou-se que todas elas apresentavam dois ou mais polos de floema, não validando essa teoria para as espécies neotropicais, como também observado por Tenorio *et al.* (2017).

Observou-se um periciclo esclerificado em todas as espécies analisadas, além de canais mucilaginosos, como também descritos por Anto & Sunny (2014). Estes autores também mencionam que *D. karkapershadii*, *D. pentaphylla* e *D. tomentosa* possuem caules semelhantes aos de dicotiledôneas, sendo *D. karkapershadii* diferente das demais espécies por apresentar um anel esclerenquimático em torno dos feixes vasculares.

Em relação aos estudos envolvendo os sistemas subterrâneos, há grande confusão na terminologia utilizada para classificá-los. Das estruturas tuberizadas de natureza caulinar aqui

estudadas partem raízes adventícias, o que auxilia na identificação do órgão como um rizóforo (órgão portador de raízes), além da presença do sistema bipolar de ramificação caulinar (caule aéreo e caule subterrâneo). Em *D. kunthiana*, Rocha & Menezes (1997) descreveram o sistema subterrâneo como sendo um rizóforo ao se basearem no estudo a partir da germinação da semente que leva a formação de dois sistemas caulinares, cujo caule subterrâneo se tuberiza e é responsável pela emissão das raízes adventícias. Cardoso (2001) verificou que o sistema subterrâneo de *D. anomala* e *D. debilis* é um rizóforo, mas originado a partir do espessamento do hipocótilo.

Burkill (1960) sugere que as Dioscoreaceae possuem sistema subterrâneo do tipo rizoma, o qual sofreu contração e tornou-se um túber, sustentando esse argumento com as seguintes explicações: (I) foi necessário que o rizoma aumentasse seus tecidos de armazenamento e sua espessura; (II) o espessamento tomou uma forma arredondada plagiotropicamente lobado; (III) esse crescimento faz-se necessário para que o órgão se enterre no solo e impeça que o mesmo seja arrastado, essencial para sua preservação; (IV) ao mesmo tempo, o esforço para subir o mais alto possível tornou rentável nutrir apenas uma haste e a produção de caules aéreos foi, portanto, limitada à parte frontal ativa do rizoma; (V) seguiu-se com o encurtamento do rizoma; (VI) e a formação de ao menos um lobo plagiotrópico.

Nas três espécies estudadas, o espessamento dos órgãos subterrâneos dá-se pela atividade do meristema de espessamento secundário, que produz células parenquimáticas para a região cortical do órgão e feixes colaterais e parênquima para a região medular do órgão. Rocha & Menezes (1997) mencionam que esse meristema é de origem pericíclica e, segundo Rudall (1991), é encontrado em monocotiledôneas que apresentam crescimento em espessura.

O tecido de revestimento das três espécies estudadas, *D. delicata*, *D. ovata* e *D. tauriglossum*, é constituído pelo súber estratificado, como também observado por Cardoso (2001). Porém, Lawton & Lawton (1969) e Rocha & Menezes (1997) afirmam que este é

constituído pela periderme, pois é formado a partir de um felogênio.

Nos órgãos subterrâneos aqui analisados, foi possível observar gemas caulinares na região superior mais próxima da superfície do solo, sendo as gemas originadas a partir do meristema de espessamento secundário. Em *Smilax fluminensis* e *S. siphilitica*, as gemas axilares, juntamente com o periciclo, participaram no espessamento nodal dos rizóforos e no enraizamento desta estrutura (Apezzato-da-Glória *et al.* 2015). Burkill (1960) menciona que as gemas produzidas na parte axial do sistema subterrâneo são protegidas por uma caliptra, revestida por súber, ainda, comparando espécies de *Dioscorea*.

Foram observadas duas colorações diferentes nas raízes das espécies de *Dioscorea* estudadas, as claras e as escuras. Em *Smilax polyantha* (Martins & Apezzato-da-Glória 2006), *S. subsessifolia* (Guimarães *et al.* 2010), *S. brasiliensis*, *S. campestris*, *S. cissoides*, *S. goyazana*, *S. oblongifolia* e *S. rufescens* (Martins *et al.* 2010), *S. fluminensis* e *S. siphilitica* (Apezzato-da-Glória *et al.* 2015) observou-se, também, a existência de 2 tipos distintos de raízes, estes, semelhantes aos mencionados para as espécies de *Dioscorea* aqui analisadas. Segundo estes autores, as raízes claras são mais espessas e representam o estágio jovem e, à medida que se desenvolvem, a epiderme e a região cortical são gradualmente descartadas e, quando atingem o estágio maduro, as raízes adquirem coloração marrom devido ao revestimento ser realizado pela camada do parênquima cortical com impregnação de compostos fenólicos e espessamento em “U” adjacente à endoderme. Burkill (1960) menciona que as raízes que exploram longas distâncias tendem a ser escuras e lignificadas, diferentes daquelas que exploram regiões superficiais. Em *D. anomala* e *D. debilis*, Cardoso (2001) verificou que as raízes são finas e numerosas, sendo sua região cortical constituída por um aerênquima, proveniente de células parenquimáticas que sofreram lises nas paredes tangenciais e transversais.

O sistema vascular das raízes observadas aqui é do tipo poliarco. Tajuddin *et al.* (2013)

discutem uma distribuição vascular diferenciada em *D. hispida*, portando inúmeros polos de xilema e floema, e mencionam que sua origem é a partir do sistema subterrâneo, o que não foi analisado nas espécies aqui estudadas.

Nos testes histoquímicos aqui realizados, observou-se que as células adjacentes à endoderme eram impregnadas por compostos fenólicos e, em *D. ovata*, foram observados idioblastos fenólicos na região cortical. Dutta (2015) menciona que as raízes podem apresentar fitosteroides, alcaloides, taninos e grande quantidade de amido, o que não foi observado nas espécies aqui investigadas.

As características morfológicas das Dioscoreales assemelham-se às características de dicotiledôneas (Burkill 1960, Dahlgren *et al.* 1985, Rocha & Menezes 1997), porém, de acordo com os estudos de filogenia utilizando marcadores moleculares (APG IV 2016), estes grupos não são relacionados e suas características surgiram independentemente na história evolutiva. Estas características semelhantes como as folhas pecioladas, nervuras secundárias reticuladas, disposição dos feixes vasculares no caule e padrão de crescimento do sistema subterrâneo sugerem que foram mantidas por serem vantajosas e eficientes para o estabelecimento do vegetal no meio ambiente.

A região mais interna do órgão subterrâneo tuberoso pode apresentar colorações diferenciadas como as aqui observadas e, de acordo com Chu (1989), a coloração das tuberosidades de *Dioscorea* varia de branca, provavelmente devido à presença de amido, a colorações alaranjadas e amareladas, devido à presença de beta-caroteno ou taninos, e colorações vermelho-púrpura pela presença de glicosídeos cianídicos, cujas antocianinas também estão envolvidas na defesa contra herbívoros.

Os elevados teores de água presentes nos rizóforos das espécies estudadas sugerem que essa é uma adaptação a ambientes com pequenos períodos de seca e, em alguns casos, servem como complemento de água para a floração e brotamento de espécies rupícolas e de

ambientes com baixa disponibilidade hídrica (Medina 1983, Couto *et al.* 2014).

As plantas produzem uma vasta gama de carboidratos que exercem diversas funções, sendo utilizados tanto para o crescimento vegetativo quanto para outras funções fisiológicas, como o desenvolvimento e proteção contra diversos tipos de estresses (Kermode 2011). Para diversas espécies de *Dioscorea*, os carboidratos acumulados em seus sistemas subterrâneos apresentam papel importante no crescimento do eixo vegetativo aéreo quando a sua fotossíntese não supre a demanda de compostos de carbono ou quando a planta está em fase de dormência (Jean & Cappadocia 1992).

De todas as espécies aqui analisadas, o principal carboidrato de reserva presente nos órgãos subterrâneos espessados (rizóforos) foi o amido. As espécies de *Dioscorea* apresentam ciclos fenológicos que consistem de brotação (quando há formação do eixo vegetativo aéreo), armazenamento (quando a parte aérea produz metabólitos e os direcionam para o órgão dreno, ou seja, para o sistema subterrâneo), floração, frutificação, senescência (quando a parte aérea seca) e dormência (quando a atividade de crescimento é temporariamente suspensa) (Burkill 1960, Chu 1989, Panneerselvam & Jaleel 2008). Jaleel *et al.* (2007a) relataram que, durante a fase de armazenamento, que antecede a floração, *D. rotundata* apresentou teores crescentes de grãos de amido em seus sistemas subterrâneos, estes, hidrolisados e mobilizados para que o eixo floral fosse desenvolvido. O mesmo foi observado por Davies & Ross (1984) em *Solanum batatas* e afirmam que a quebra, e consequente redução na quantidade de grãos de amido, é essencial para que ocorra a floração. Ainda, de acordo com os autores supracitados, este processo inicia-se na região cortical do órgão tuberoso e segue sentido região medular. Foi possível observar nas análises estruturais a diminuição da granulometria do amido em direção à região cortical do rizóforo das espécies analisadas.

O amido constitui importante fonte de carboidrato na alimentação humana (Gallant *et al.* 1982) e, segundo Coursey (1967) e Martin & Sadik (1977), é o principal carboidrato de

reserva encontrado nas espécies de *Dioscorea* utilizadas comercialmente. Ainda, de acordo com Martin & Sadik (1977) e Wanasundera & Ravindran (1994), em *D. cayenensis* e *D. alata*, espécies de interesse econômico, os teores de amido podem chegar a 82% e 79,5% do peso do órgão tuberoso, respectivamente. Chu (1989) associa estes teores a plantas expostas a dias curtos. Ademais, os valores observados no presente estudo para *D. delicata* ressaltam o mencionado por Pio Corrêa (1985), o qual comenta o potencial do uso das espécies nativas para fins alimentícios.

Panneerselvam & Jaleel (2008), ao analisarem comparativamente as quantidades de amido e carboidratos solúveis em *Dioscorea esculenta*, observaram que, durante o processo de floração, a quantidade de amido diminuiu enquanto a de carboidratos solúveis aumentou. Brillouet *et al.* (1981) observaram grandes quantidades de glucose nos sistemas subterrâneos de *D. dumetorum* e *D. rotundata* e atribuem isso ao intumescimento do órgão subterrâneo, decaindo assim que o crescimento cessa. Osagie & Ress (1990) e Jaleel *et al.* (2007b) observaram índices de pentoses nos sistemas subterrâneos de *D. rotundata* e *D. bulbifera*, espécies cultivadas com fins alimentícios, associando que estes índices não estavam diretamente relacionados ao processo de floração e sim ao crescimento em espessura do órgão tuberoso. Os dados bioquímicos aqui apresentados concordam com o outrora mencionado por Burkill (1960) que observa em algumas espécies o crescimento contínuo do órgão subterrâneo mesmo em períodos de senescência.

Os níveis de frutose em *D. delicata* foram superiores àqueles encontrados nas demais espécies, ainda, Panneerselvam & Jaleel (2008) mencionam que altos níveis de frutose em *D. esculenta* estão diretamente associados ao período de pré-floração. Os valores encontrados em *D. tauriglossum* e *D. ovata* corroboram com aqueles mencionados por Chu & Figueiredo-Ribeiro (2002), os quais sugerem que as plantas mobilizam os açúcares dos sistemas subterrâneos para serem investidos no crescimento bem como na floração, sendo estes os

responsáveis pelo sucesso no estabelecimento das plantas no ambiente.

Em relação às proteínas, estas reservas, apesar de baixas em relação aos carboidratos, constituem a principal fonte de nitrogênio para o desenvolvimento da parte aérea durante o período de brotação, floração e frutificação (Boulter & Harvey 1985), como o observado por Jayakumar *et al.* (1993), que relata o importante papel durante a floração de *D. rotundata*. Splittstoesser *et al.* (1973) analisaram espécies exploradas comercialmente e constataram que as proteínas possuíam uma melhor qualidade para a alimentação humana, devido à abundância de aminoácidos essenciais, que atingiam cerca de 5 a 10% da massa seca. Os conteúdos proteicos para as três espécies aqui estudadas foram valores próximos a este intervalo, sendo *D. delicata* a espécie com mais alto nível de proteínas. Estes valores foram superiores aos encontrados por Onwume (1978) em órgãos tuberosos de diversas espécies tropicais, ressaltando o potencial de *D. delicata* como alternativa para o consumo humano, ainda não explorada.

Diversos autores utilizaram-se de dados estruturais, juntamente com os histoquímicos, para a separação de espécies relativamente próximas. Neste trabalho, os dados anatômicos possibilitaram a separação dos táxons sinonimizadas por Pedralli (2004), evidenciando a importância desse tipo de estudo na resolução de problemas taxonômicos. Ainda, espécies nativas de *Dioscorea* são negligenciadas, não sendo exploradas economicamente por desconhecimento da população, por possuírem um ciclo longo de desenvolvimento até a formação de sistemas subterrâneos espessados de massas suficientes para o consumo e também pela competição com outra fonte de carboidrato, a mandioca (*Manihot esculenta* Cranz) de fácil cultivo. Os principais resultados bioquímicos aqui expostos realçam a importância e estrita relação dos carboidratos solúveis, insolúveis e proteínas durante o processo de desenvolvimento e floração. Faz-se necessário estudos complementares que avaliem os compostos de reserva dos órgãos espessados de *Dioscorea* visando sua utilização como forma alternativa para

alimentação humana.

Referências bibliográficas

- Abdulrahman, A.A., Egbedo, F.O. & Oladele, F.A.** 2009. Stomatal complex types, stomatal density, and the stomatal index in some species of *Dioscorea*. Archives of Biological Sciences 61(4): 847-851.
- Aina, O.D. & Atumeyi, S.** 2011. Foliar epidermal anatomy of four species of *Dioscorea*. Advances in Applied Science Research 2(4): 21-24.
- Al-Shehbaz, I.A. & Schubert, B.G.** 1989. The Dioscoreaceae in the southeastern United States. Journal of the Arnold Arboretum 70: 57-95.
- Anto, P.V. & Sunny, H.** 2014. Celular architecture in selected species of genus *Dioscorea*, Kerala, India. International Journal of Advanced Research 2(9): 761-768.
- APG IV.** 2016. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society 181: 1-20.
- Appezato-da-Glória, B.** 2015. Morfologia de sistemas subterrâneos de plantas. 3i Editora, Belo Horizonte.
- Appezato-da-Glória, B., Silva, J.M., Soares, M.K.M., Soares, A.N. & Martins, A.R.** 2015. Axillary bud and pericycle involved in the thickening process of the rhizophore nodes in *Smilax* species. Brazilian Journal of Biology 75: 718-725.
- Ayensu, E.S.** 1969. Aspects of the complex nodal anatomy of the Dioscoreaceae. Journal of the Arnold Arboretum 50: 124-137.
- Ayensu, E.S.** 1970. Comparative anatomy of *Dioscorea rotundata* and *Dioscorea cayenensis*. Botanical Journal of the Linnean Society 63: 127-136.
- Ayensu, E.S.** 1972. VI. Dioscoreales. In: C.R. Metcalfe (ed.). Anatomy of Monocotyledons. Clarendon Press, Oxford, pp. 1-182.

- Barroso, G.M., Sucre, D., Guimarães, E.F., Carvalho, L.F., Valente, M.C., Silva, J.D., Silva, J.B., Rosenthal, F.R.T., Barbosa, C.M., Roseira, A.N., Barth, O.M. & Barbosa, A.F.** 1974. Flora da Guanabara: Família Dioscoreaceae. *Sellowia* 25: 9-256.
- Boulter, D. & Harvey, P.J.** 1985. Accumulation, structure and utilization of tuber storage proteins with particular reference to *Dioscorea rotundata*. *Physiologie Végétale* 23: 61-74.
- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brillouet, J.M., Treche, S. & Sealy, L.** 1981. Alterations in cell wall constituents of yams *Dioscorea dumetorum* and *D. rotundata* with maturation and storage conditions: Relation with post-harvest hardening of *D. dumetorum* yam tubers. *Journal of Food Science* 46(6): 1964-1965.
- Burkill, H.I.** 1960. The organography and the evolution of Dioscoreaceae, the family of the yams. *Botanical Journal of the Linnean Society* 56: 319-412.
- Caddick, L.R., Rudall, P.J., Wilkin, P., Hedderson, T.A.J. & Chase, M.W.** 2002a. Phylogenetics of Dioscoreales based on combined analyses of morphological and molecular data. *Botanical Journal of the Linnean Society* 13: 123-144.
- Caddick, L.R., Rudall, P.J., Wilkin, P., Hedderson, T.A.J. & Chase, M.W.** 2002b. Yams reclassified: a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon* 51: 103-14.
- Cardoso, V.A.** 2001. Estudos anatômicos dos órgãos vegetativos de *Dioscorea anomala* (Kunth) Gris e *Dioscorea debilis* ex. R. Knuth (Dioscoreaceae) de campo rupestre da Serra do Cipó (MG). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Carvalho, M.A.M. & Dietrich, S.M.C.** 1993. Variation in fructan content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. *New Phytologist* 123: 735-740.

- Carvalho, M.A.M., Pinto, M.M. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 1998. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. *Revista Brasileira de Botânica* 21: 1-8.
- Castro, A.P., Fraxe, T.J.P., Pereira, H.S. & Kinupp, V.F.** 2012. Etnobotânica das variedades locais do cará (*Dioscorea* spp.) cultivados em comunidades no município de Caapiranga, estado do Amazonas. *Acta Botanica Brasilica* 26(3): 658-667.
- Chu, E.P.** 1989. Composição bioquímica de órgãos subterrâneos de reserva de espécies nativas de *Dioscorea* e análise do desenvolvimento de *Dioscorea delicata* R. Knuth. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Chu, E.P. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 1991. Native and exotic species of *Dioscorea* used as food in Brazil. *Economic Botany* 45: 467-479.
- Chu, E.P. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 2002. Growth and carbohydrate changes in shoot cultures of *Dioscorea* species as influenced by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 70: 241-249.
- Coursey, D.G.** 1967. Yams: An account of the nature, origins, cultivation and utilization of the useful members of Dioscoreaceae. London, Longmans, pp. 1-230.
- Couto, S.R.** 2010. Dioscoreaceae (R. Br.) Lindley do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Couto, R.S., Tenorio, V., Alzer, F.C., Lopes, R.C., Vieira, R.C., Mendonça, C.B.F., Golçalves-Esteves, V. & Braga, J.M.A.** 2014. Taxonomic revision of the *Dioscorea campestris* species assemblage (Dioscoreaceae). *Systematic Botany* 39: 1056-1069.
- Cronquist, A.** 1977. *Introducción a la botánica*. 2 ed. Compañía Editorial Continental, México.
- Dahlgren, R.M.T., Clifford, H.T. & Yeo, P.F.** 1985. *The families of the Monocotyledons: structure, evolution and taxonomy*. Springer – Verlag, Berlin.

- Davis, H.V. & Ross, H.A.** 1984. The pattern of starch and protein degradation in tubers. *Journal of the European Association for Potato Research* 27: 373-381.
- Davis, J.I., Stevenson, D.W., Petersen, G., Seberg, O., Campbell, L.M., Freudenstein, J.V., Goldman, D.H., Hardy, C.R., Michelngeli, F.A., Simmons, M.P., Specht, C.D., Vergara-Silva, F., & Gandolfo, M.A.** 2004. Phylogeny of the monocots, as inferred from *rbcL* and *atpA* sequence variation, and a comparison of methods for calculating jackknife and bootstrap values. *Systematic Botany* 29: 467-510.
- Degras, L.** 1976. Vegetative and sexual management in food yam improvement. *In: J. Cook, R. MacIntyre & M. Graham (eds.). Proceedings of the Fourth Symposium of the International Society for Tropical Root Crops, Colômbia, ISTRC, Cali, pp. 1-278.*
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F.** 1956. Colorometric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Dutta, B.** 2015. Food and medicinal values of certain species of *Dioscorea* with special reference to Assam. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 3(4): 15-18.
- Edeoga, H.O. & Okoli, B.E.** 1995. Histochemical studies in the leaves of some *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) and the taxonomic importance. *Feddes Repertorium* 106: 113-120.
- FAO Statistical Yearbook.** 2013. World food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 1-307.
- Gallant, D.J., Bewa, H., Buy, Q.H., Bouchet, B., Szyllit, O. & Sealy, L.** 1982. On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starches. *Starch/stärke* 34(8): 255-262.
- Gómez-Pompa, A.** 1962. Notas botánicas sobre algunas Dioscóreas de importância farmacéutica. *Ciência* 21: 221-29.
- Grisebach, A.H.R.** 1842. *Dioscoreae*. *In: C.F.P. Martius & A.G. Eichler (eds.) Flora brasiliensis. Lipsiae, Fried. Fleischewr* 3: 26-48.

- Guimarães, A.R., Costa, C.G. & Andreato, R.H.P.** 2010. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smilax subsessiliflora* (Smilacaceae). *Rodriguésia* 61(2): 181-194.
- Gutjahr, M.R. & Tavares, R.** 2009. Clima. *In*: M.I.M.S. Lopes, M. Kirizawa & M.M.R.F. Melo (orgs.). Patrimônio da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba: a antiga Estação Biológica do Alto da Serra. Instituto de Botânica, São Paulo, pp. 39-51.
- Hegnauer, R.** 1963. *Chemotaxonomie der Pflanzen II. Monocotyledonae*. BirkhäuserVerlag, Basel und Stuttgart, pp. 133-152.
- Hickey, L.J.** 1973. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. *American Journal of Botany* 60(1): 17-33.
- Holtum, R.E.** 1955. Growth habits of monocotyledons – variations on a theme. *Phytomorphology* 5: 399-413.
- Horridge, G.A. & Tamm, S.L.** 1969. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. *Science* 163: 817-818.
- Hou, W.C., Hsu, F.L. & Lee, M.H.** 2002. Yam (*Dioscorea batatas*) tuber mucilage exhibited antioxidant activities *in vitro*. *Planta Medica* 68: 1072-1076.
- Hu, K. & Yao, X.** 2002. Protodioscin (NSC-698 769): Its spectrum of cytotoxicity against sixty human cancer cell lines in an anticancer drug screen panel. *Planta Medica* 68: 297-301.
- Inamdar, J.A., Shenoy, K.N. & Rao, N.V.** 1983. Leaf architecture of some monocotyledons with reticulate venation. *Annals of Botany* 52(5): 725-735.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Gomathinayagam, M. & Panneerselvam, R.** 2007a. Changes in biochemical constituents and induction of early sprouting by triadimefon treatment in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) tubers during storage. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 8(4): 283-288.
- Jaleel, C.A., Kishorekumar, A., Manivannan, P., Sankar, B., Gomathinayagam, M., Gopi, R., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R.** 2007b. Alterations in carbohydrate metabolism and

enhancement in tuber production in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) under triadimefon and hexaconazole applications. *Plant Growth Regulation* 53: 7-16.

Jayakody, L., Hoover, R., Liu, Q. & Donner, E. 2007. Studies on tuber starches. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (*Dioscorea* sp.) starches grown in Sri Lanka. *Carbohydrate Polymers* 69: 148-163.

Jayakumar, M., Eyini, M. & Pannirselvam, S. 1993. Changes in protein and RNA during dormancy yam tissues. *Journal of Phytology Research* 6(1/2): 63-66.

Jayasuriya, A.H.M. 1990. *Dioscorea koyamae* (Dioscoreaceae), a new edible yam from Sri Lanka. *Brittonia* 42(2): 142-146.

Jean, M. & Cappadocia, M. 1992. Effects of some growth regulators on *in vitro* tuberization in *Dioscorea alata* L. 'Brazo fuerte' and *D. abyssinica* Hoch. *Plant Cell Reports* 11: 34-38.

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

Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. & Donoghue, M.J. 2009. *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. 3 ed. Artmed, Porto Alegre.

Kaiser, E. 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Botanische Zentralblatt* 1880: 25-26.

Kermode, A.R. 2011. Plants storage products (carbohydrates, oils and proteins). *In: eLS* (Ed.), *Plant Storage Products*. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.

Kirizawa, M., Xifreda, C.C. & Couto, R. 2010. *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*. v.2. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Kirizawa, M., Xifreda, C.C., Couto, R. & Araujo, D. 2017. Dioscoreaceae. *In: Lista de espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7372>. (acesso em 05-III-2017).

- Knuth, R.** 1924. Dioscoreaceae. *In*: H.G.A. Engler (ed.). Das Pflanzenreich IV, 43 (87). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, pp. 1-387.
- Lawrence, G.H.M.** 1975. Taxonomia das plantas vasculares. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, v. 2.
- Lawton, J.R. & Lawton, J.R.S.** 1969. The development of the tuber in seedlings of five species of *Dioscorea* from Nigeria. *Botanical Journal of the Linnean Society* 62: 223–232.
- León, J.** 1987. Botânica de los cultivos tropicales. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, San José.
- Logischen, V.T.U. & Robbertse, P.J.** 1981. The subterranean intermediar organs of *Dioscorea cotinifolia* Kunth: 2. Anatomy of these organs in comparison with that of a typical root and shoot. *Journal of South African Botany* 47(4): 637-651.
- Martin, F.W. & Sadik, S.** 1977. Tropical yams and their potential. Part 4. *Dioscorea rotundata* and *Dioscorea cayenensis*. USDA Agriculture Handbook, Washington, pp. 1-502.
- Martins, A.R. & Appezzato-da-Glória, B.** 2006. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Smilax polyantha* Griseb. (Smilacaceae). *Brazilian Journal of Botany* 29(4): 555-567.
- Martins, AR., Pütz, N., Soares, AN., Bombo, AB. & Appezzato-da-Glória, B.** 2010. New approaches to underground system in Brazilian *Smilax* species (Smilacaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society* 137(2/3): 220-235.
- Matuda, E.** 1953. Las dioscóreas de México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autonoma de México, Serie Botanica* 24: 279-390.
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V. & Owens, H.S.** 1950. Determination of starch and amylose in vegetables: Application to peas. *Analytical Chemistry* 22: 1156-1158.
- McIlvaine, T.C.** 1921. A buffer solution for colorimetric comparison. *Journal of Biological Chemistry* 49: 183-186.

- McManus, J.F.A.** 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology* 23: 99-108.
- Medina, E.** 1983. Adaptations of tropical trees to moisture stress. *In*: F.B. Golley (ed.). *Tropical rain forest ecosystems: Structure and function*. Elsevier, Amsterdam, pp. 225-237.
- Menezes, N.L., Silva, D.C., Arruda, R.C.O., Melo-de-Pinna, G.F., Cardoso, V.A., Castro, N.M., Scatena, V.L. & Scremin-Dias, E.** 2005. Meristematic activity of the endodermis and pericycle in the primary thickening in monocotyledons: Considerations on the "PTM". *Anais da Academia Brasileira de Ciência* 77(2): 259-274.
- Merckx, V., Schols, V., Maas-van de Kamer, H., Maas, P., Huysmans, S. & Smets, E.** 2006. Phylogeny and evolution of Burmanniaceae (Dioscoreales) based on nuclear and mitochondrial data. *American Journal of Botany* 93: 1684-1698.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L.** 1979. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford, Clarendon Press.
- Miyazawa, M., Shimamura, H., Nakamura, S. & Kameoka, H.** 1996. Antimutagenic activity of (+)- β -eudesmol and paenol from *Dioscorea japonica*. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 44(7): 1647-1650.
- Odimegwu, J.I., Odukoya, O., Yadav, R.K., Chanotiya, C.S., Ogbonnia, S. & Sangwan, N.S.** 2013. A new source of elemol rich essential oil and existence of multicellular oil glands in leaves of the *Dioscorea* species. *The Scientific World Journal*, 6 pages.
- Okoli, B.E., Green, B.O.** 1987. Histochemical localization of calcium oxalate crystals in starch grains of yams (*Dioscorea*). *Annals of Botany* 60(4): 391-394.
- Oliveira, A.P., Barbosa, L.J. N., Pereira, W.E., Silva, J.E.L. & Oliveira, A.N.P.** 2007. Produção de túberas comerciais de inhame em função de doses de nitrogênio. *Horticultura Brasileira* 25: 73-76.

- Oliveira, V.F., Zaidan, L.B.P., Braga, M.R., Aidar, M.P.M. & Carvalho, M.A.M.** 2010. Elevated CO₂ atmosphere promotes plant growth and inulin production in the cerrado species *Vernonia herbacea*. *Functional Plant Biology* 37: 223-231.
- Onwueme, I.C.** 1978. The tropical tuber crops, yams, cassava, sweet potato and cocoyams. John Wiley & Sons, Chichester.
- Osagie, A.U. & Rees, T.A.** 1990. Sugar metabolism by *Dioscorea* tubers during sprouting. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 52(2): 171-177.
- Panneerselvam, R. & Jaleel, C.A.** 2008. Starch and sugar conversion in *Dioscorea esculenta* tubers and *Curcuma longa* rhizomes during storage. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 6(2): 151-160.
- Pearse, A.G.E.** 1968. Histochemistry: theoretical and applied. Churchill, London.
- Pedralli, G.** 1997. Revisão taxonômica das espécies de Dioscoreaceae (R. BR.) Lindley da cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Pedralli, G.** 2004. Dioscoreáceas. In: A. Reis (ed.). *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí.
- Pérez, J., Albert, D., Rosete, S., Sotolongo, L., Fernández, M., Delprete, P. & Raz, L.** 2005. Consideraciones etnobotánicas sobre el género *Dioscorea* (Dioscoreaceae) en Cuba. *Ecosistemas* 14(2): 142-149.
- Pio Corrêa, M.** 1985. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas. Imprensa Nacional, Rio de Janeiro, v. 6, pp. 1926-1978.
- Prychid, C.J. & Rudall, P.J.** 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: A review of their structure and systematics. *Annals of Botany* 84: 725-739.
- Raman, V., Galal, A.M., Avula, B., Sagi, S., Smillie, T.J. & Khan, I.A.** 2014. Application of anatomy and HPTLC in characterizing species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae). *Journal of Natural Medicines* 68: 686-698.

- Ramos-Escudero, F., Santos-Buelga, C., Pérez-Alonso, J.J., Yáñez, J.A. & Dueñas, M.** 2010. Identification of anthocyanins in *Dioscorea trifida* L.f. yam tubers (purple sachapapa). European Food Research Technology 230: 745-752.
- Rendle, A.B.** 1971. The classification of flowering plants: Gymnosperms and monocotyledons. University Press, Cambridge.
- Rocha, D.C. & Menezes, N.L.** 1997. O sistema subterrâneo de *Dioscorea kunthiana* Uline ex R. Knuth (Dioscoreaceae). Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 16: 1-13.
- Rudall, P.** 1991. Lateral meristems and stem thickening growth in monocotyledons. The Botanical Review 57(2): 150-163.
- Rudall, P.** 2007. Anatomy of flowering plants – an introduction to structure and development. Cambridge University Press, New York.
- Sakai, W.S.** 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. Stain Technology 48: 247-248.
- Santos, E.S. & Macedo, L.S.** 2002. Tendências e perspectiva da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro, 2. Anais João Pessoa: EMEPA-PB 1: 19-32.
- Santos, E.S., Cazé-Filho, J., Lacerda, J.T., Carvalho, R.A., Fontinelli, I.S.C., Silva, J.B., Barbosa, M.M. & Casimiro, C.M.** 2006. Inhame e preservação ambiental. Embrapa, João Pessoa.
- Sharma, O.P.** 1974. Anatomy, origin and development of tuber of *Dioscorea glabra*. Phytomorphology 24: 297-305.
- Smith, B.W.** 1937. Notes on the cytology and distribution of the Dioscoreaceae. Bulletin of the Torrey Botanical Club 64: 189-197.
- Somogyi, M.** 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry 160: 61-68.

- Sonibare, M.A. & Adeniran, A.A.** 2014. Comparative micromorphological study of wild and micropropagated *Dioscorea bulbifera* Linn. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 4(3): 176-183.
- Splittstoesser, W.E., Martin, F.W. & Rhodes, A.M.** 1973. The amino acid composition of five species of yam (*Dioscorea*). Journal of the American Society for Horticultural Science 98: 563-567.
- Stace, C.A.** 1989. Plant taxonomy and biosystematics. 2 ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Stephens, J.M.** 1994. Yams – *Dioscorea* spp. University of Florida, IFAS Extension. Disponível em <http://edis.ifas.ufl.edu/mv153> (acesso em 05-III-2017).
- Stick, R.V. & Williams, S.J.** 2009. Carbohydrates: The essential molecules of life. Reino Unido, Oxford, pp. 321-339.
- Strittmatter, C.G.D.** 1973. Nueva técnica de diafanización. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 15(1): 126-129.
- Tajuddin, S., Mat, N., Yunus, A.G. & Shamsul Bahri, A.R.** 2013. Anatomical study of stem, petiole, leaf, tuber, root and flower of *Dioscorea hispida* Dennst. (Dioscoreaceae) by using optical microscope, SEM and TEM. Journal of Agrobiotechnology 4: 33-42.
- Téllez-Valdés, O. & Martínez-Rodríguez, A.I.** 1993. A new species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) from Mesoamerica. Novon 3(2): 204-207.
- Tenorio, V., Couto, R.S., Albuquerque, E.S.B., Medeiros, A.M.L., Ferreira, R.O., Braga, J.M.A. & Vieira, R.C.** 2017. Stem anatomy of neotropical *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) and its importance to the systematics of the genus. Plant Systematics and Evolution DOI 10.1007/s00606-017-1408-9
- Tomlinson, P.B.** 1974. Development of the stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons. Taxon 23: 109-128.

- Uline, E.B.** 1897. Dioscoreaceae. *In*: H.G.A. Engler & K.A.E. (eds.). Prantl. Die Natürlichen Pflanzenfamilien 2(5): 84.
- Van Fleet, D.S.** 1961. Histochemistry and function of the endodermis. *Botanical Review* 27: 165-221.
- Vidal, B.C.** 1970. Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. *Annales d'Histochemie* 15: 289-296.
- Vizcarrondo, C.A., Rincón, A.M. & Padilla, F.** 2004. Caracterización del almidón nativo de *Dioscorea bulbifera* L. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54: 241-245.
- Wanasundera, J.P.D. & Ravindran, G.** 1994. Nutritional assessment of yam (*Dioscorea alata*) tubers. *Plant Foods for Human Nutrition* 46: 33-39.
- Wickham, L.D., Passa, H.C. & Wilson, L.A.** 1984. Tuber development, storage and germination in yams (*Dioscorea* spp.) in response to pre-harvest application of plant growth regulators. *The Journal of Agricultural Science* 102: 437-442.
- Wilkin, P., Schols, P., Chase, M.W., Chayamarit, K., Furness, C.A., Huysmans, S., Rakotonasolo, F., Smets, E. & Thapyai, C.** 2005. A plastid gene phylogeny of the yam genus, *Dioscorea*: Roots, Fruits and Madagascar. *Systematic Botany* 30(4): 736-749.
- Williams, B.C.** 1947. The structure of the meristematic root tip and origin of the primary tissues in the roots of vascular plants. *American Journal of Botany* 34: 455-462.
- Xifreda, C. C.** 2000. Evaluation of pollen and vegetative characters in the systematics of South American species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae). *In*: K.L. Wilson & D.A. Morrison (eds.). 2000. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne, pp. 488-496.
- Xifreda, C.C. & Cortella, A.R.** 1989. Estudios morfológicos e histoquímicos sobre el grano de almidón de *Dioscorea campestris* (Dioscoreaceae). *Darwiniana* 29: 1-8.
- Xifreda, C.C.** 1990a. Observaciones sobre histología caulinar en *Dioscorea multiflora* (Dioscoreaceae). *Darwiniana* 30(1-4): 11-19.

Xifreda, C.C. 1990b. Sobre la presencia de una “vaina cristalifera” em el tallo de algunas especies de *Dioscorea* (Dioscoreaceae). *Darwiniana* 30(1-4): 137-142.

Zarate, N.A.H., Vieira, M.C. & Siqueira, J.G. 1996. Produção de quatro clones de cará em Dourados, MS. *Horticultura Brasileira* 14: 56-60.

Considerações finais e perspectivas

As análises estruturais forneceram caracteres consistentes e capazes de subsidiar a separação dos três táxons de *Dioscorea* (*D. delicata*, *D. tauriglossum* e *D. ovata*) sinonimizados em *D. ovata* na Flora Ilustrada Catarinense por Pedralli (2004). Os resultados aqui expostos servem como referência para a realização de estudos posteriores que visem a revisão dos outros 10 táxons sinonimizados igualmente por Pedralli em *D. ovata*, bem como para ampliar o conhecimento das espécies nativas do gênero.

As análises bioquímicas dos carboidratos e proteínas dos sistemas subterrâneos forneceram dados complementares aos estruturais que possibilitam um maior entendimento das estratégias das *Dioscorea* durante o seu desenvolvimento. Ao analisar *D. delicata*, ficou evidente a presença de quantidade significativa de amido, sugerindo que esta espécie pode apresentar grande potencial econômico, sendo futuras investigações essenciais para validar a sua viabilidade alimentícia.